

Estación Experimental Santa Catalina
Departamento Nacional de Protección Vegetal
Informe Anual 2019



Mejía – Pichincha – Ecuador

Enero / 2020

INFORME ANUAL 2019

1. Departamento:

Departamento Nacional de Protección Vegetal

2. Director de la Estación Experimental Santa Catalina

Ing. Luís Fernando Rodríguez, MBA

3. Responsable del Departamento en la Estación Experimental:

Dra. María Luisa Insuasti A

4. Equipo técnico multidisciplinario I+D:

Protección Vegetal

- **Área Entomología:** Sandra Garcés, PhD.; Carmen Castillo, PhD
- **Área Fitopatología:** José Ochoa, PhD.; Dra. María Luisa Insuasti; MVZ. Paulina Cabezas, MSc
- **Área Control Biológico:** Cristina Tello, Mg; Ing. Cynthia Perdomo; Ing. Ana Pincay
- **Área Nematología:** Ing. Pablo Llumiquinga
- **Tesista:** Doménica Endara
- **Personal de apoyo:** Elizabeth Puco

Externos:

- **Núcleo de Transferencia de Tecnología:**
Ing. Diego Peñaherrera, Ing. Victoria López, Ing. Fausto Yumisaca, Ing. Gabriela Narváez
- **Programa de Leguminosas y Granos Andinos:**

Ing. Nelson Mazón, Ing. Angel Murillo, Ing. Laura Vega, Ing. Diego Rodríguez.

5. Financiamiento:

- Gasto Corriente Estación Experimental Santa Catalina.
- Universidad San Francisco de Quito (USFQ)
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)-USA
- AECID-España
- AID-Nueva Zelanda
- FONTAGRO

6. Proyectos:

- “Monitoreo del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* en dos provincias de Ecuador” (Financiado por AECID-CIP; USD 40460 / CIP-AECID 22575 (55.8%), INIAP 9180 (22.7%), MAG 8705 (21.5%);
Inicio: Junio 2019
Finalización: Agosto 2020.
- “Improving Small Farmer Income in Ecuador by Developing Sustainable Farming Systems, Reducing Plant Protection Costs and Adding Value to Crops”.
Financiamiento AID New Zealand; Coejecutores: AgResearch-NZ, IICA-Ecuador, INIAP. Último año de ejecución.
- “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; Coejecutores: INIA-Chile, INTA-Argentina, IDIAP-Panamá, IICA-Ecuador, INIAP.

1 año de 3.

7. Socios estratégicos para investigación:

- USFQ-Universidad San Francisco de Quito
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)-USA
- UDA-Universidad del Azuay
- CIP-Centro Internacional de la Papa
- UTN-Universidad Técnica del Norte
- UTC-Universidad Técnica de Cotopaxi
- UCE-Universidad Central del Ecuador
- MAG-Ministerio de Agricultura y Ganadería
- IICA-Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
- AgResearch-Nueva Zelanda

8. Publicaciones:

Ávila, A. C., Ochoa, J., Proaño, K., y Martínez, M. C. 2019. Jasmonic acid and nitric oxide protects naranjilla (*Solanum quitoense*) against infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *quitoense* by eliciting plant defense responses. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 106: 129-136.

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. 45 p.
- Bolanos C, Gallegos P, Ochoa JB, Insuasti M, Bonilla V, Rivadeneira J, Comina P, Cuesta X. 2019. Potato purple top, lethal wilt of oil palm, and papaya twisted neck syndrome: Phytoplasma-associated diseases in Ecuador. *Biot. Veg.* 19:15-24.
- Castillo Carrillo, C., Fu, Z., and Burckhardt, D. (2019). First record of the tomato potato psyllid *Bactericera cockerelli* from South America. *Bulletin of Insectology*, 72(1): 81-91.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Potato purple top disease in Ecuador. *Phytopathogenic Mollicutes*, Vol 9, 1, 143-144.
- Nagoshi, R., Nagoshi, B., Cañarte, E., Navarrete, B., Solórzano, R y Garcés-Carrera, S. (2019). Genetic characterization of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Ecuador and comparisons with regional populations identify likely migratory relationships. *PLoS ONE* 14(9): e0222332. doi.10.1371/journal.pone.0222332.
- San-Blas, E., Campos-Herrera, R., Dolinski, C., Monteiro, C., Andaló, V., Garrigós Leite, L., Rodríguez, M., Morales, P., Sáenz, A., Báez, F., Llumiquinga, P., Ruiz, J., Guerra, A., Patricia Stock, S. (2019). Entomopathogenic nematology in Latin America: A brief history, current research and future prospects. *Journal of Invertebrate Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.03.010>

Sánchez, J., Iturralde, P., Koch, A., Tello, C., Martínez, D., Proaño, N., Martínez, A., Viera, W., Ayala, L. y Flores, F. (2019). *Dactylonectria* and *Ilyonectria* species causing black foot disease of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth) in Ecuador. *Diversity* 2019, 11, 218.

9. Participación en eventos de difusión científica, técnica o de difusión

Garcés-Carrera, S, Davis, H, Aguirre-Rojas, L, Murugan, M & Smith, M (Noviembre, 2019). Determinación de categorías de resistencia al ácaro del enrollamiento del trigo, *Aceria tosichella* (Keifer) (Acari: Eriophyidae), expresada en accesiones de *Aegilops tauschii*. En F. Alexis (Presidencia). *Agroecología, Agronomía, Permacultura y Acuicultura*. Poster presentado en las XLIII Jornadas Nacionales de Biología 2019. Urcuqui, Ecuador.

Garcés-Carrera, S, Knutson, A, Wang, H, Giles, K, Huang, F, Whitworth, J, Smith, M & Chen, M (Noviembre, 2019). Análisis de Virulencia y Biotipos en poblaciones de la plaga, *Mayetiola destructor* (Diptera: Cecidomyiidae) de Texas, Louisiana y Oklahoma. En F. Alexis (Presidencia). *Agroecología, Agronomía, Permacultura y Acuicultura*. Conferencia presentada en la XLIII Jornadas Nacionales de Biología 2019. Urcuqui, Ecuador.

Castillo Carrillo, C.; Fu, Z.; Asaquibay, C.; Aucancela, R.; Camacho, J.; López, V.; Quimbiamba, V.; Yumisaca, F.; Panchi, N.; Velasco, C. Caracterización molecular de tres especies de polillas de la papa presentes en Ecuador. IV Taller Internacional de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora*. 13 y 14 de junio de 2019. Tenerife. Islas Canarias. España.

Castillo Carrillo, C.; Rebaudo, F.; Asaquibay, C.; Aucancela, R.; Camacho, J.; López, V.; Quimbiamba, V.; Yumisaca, F.; Panchi, N.; Velasco, C. Monitoreo de tres especies de polilla de la papa en cuatro provincias de Ecuador. IV Taller Internacional de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora*. 13 y 14 de junio de 2019. Tenerife. Islas Canarias. España.

Castillo Carrillo, C. 2019. ¿Por qué no es fácil el manejo del problema de punta morada de papa en Ecuador?. IV Simposio en Fitopatología, Control biológico e interacción Planta-Patógeno. Archivos Académicos USFQ, Quito, Ecuador. 23, p. 24.

Castillo Carrillo, C. 2019. El control biológico de plagas agrícolas cumple 82 años en Ecuador. IV Simposio en Fitopatología, Control biológico e interacción Planta-Patógeno. Archivos Académicos USFQ, Quito, Ecuador. 23, p. 66.

Castillo Carrillo, C., Fu, Z., Asaquibay, C., Aucancela, R., Camacho, J., López, V., Quimbiamba, V., Yumisaca, F., Panchi, N., Velasco, C. (2019). Diferencias genéticas de las tres polillas que atacan el cultivo de la papa en Ecuador. En: Rivadeneira J., Racines M., Cuesta X. (Eds.). 2019. Artículos del Octavo Congreso Ecuatoriano de la Papa. Ambato, Ecuador. pp 150.

Castillo Carrillo, C. (2019). Punta morada de papa en Ecuador. En: Rivadeneira J., Racines M., Cuesta X. (Eds.). 2019. Artículos del Octavo Congreso Ecuatoriano de la Papa. Ambato, Ecuador. pp 150.

Castillo Carrillo, C. (2019). *Bactericera cockerelli*: un problema actual y *Candidatus* *Liberibacter solanacearum*: una amenaza. En: Rivadeneira J., Racines M., Cuesta

- X. (Eds.). 2019. Artículos del Octavo Congreso Ecuatoriano de la Papa. Ambato, Ecuador. pp 150.
- Castillo Carrillo, C. (2019). El psílido y las polillas de la papa, identificación y monitoreo. (2019). Taller ILCYM. 20-22 mayo. CIP. Salcedo, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Principales problemas causados por plagas en papa. Taller de capacitación para técnicos de TRIAS. 2 agosto. EESC, Quito, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C. (2019). *Bactericera cockerelli* y punta morada de papa en Ecuador. Webinar organizada por PepsiCo de América Latina y el Caribe. 10 julio. Quito, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Potato purple top problem in Ecuador. Visita técnica de expertos de la Universidad de Dakota del Norte y de PepsiCo. 13-15 mayo. EESC, Quito, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Capacitación sobre monitoreo de *Bactericera cockerelli*. 22 julio. Cotopaxi, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Síntomas de punta morada de papa e identificación de *Bactericera cockerelli*. Capacitación organizada por AGN y Koppert. 15 febrero. Ibarra, Ecuador.
- Castillo Carrillo, C., Cuesta, X. (2019). Estrategia de punta morada de papa. Capacitación a técnicos de instituciones públicas y privadas de Tungurahua, Bolívar y Chimborazo. 26 de julio. Ambato, Ecuador.

Castillo Carrillo, C. (2019). Punta morada de papa y *Bactericera cockerelli*. Reunión con el ministro de agricultura, autoridades y agricultores de la provincia de Cotopaxi. 19 agosto. Latacunga, Ecuador.

Castillo Carrillo, C. (2019). Potato purple top disease in Ecuador. Phytopathogenic Mollicutes, Vol 9, 1, 143-144. IV International Phytoplasma Working Group Meeting (IPWG). 9-12 septiembre. Valencia, España.

Castillo Carrillo, C. (2019). Capacitación sobre punta morada y el psílido de la papa a técnicos del MAG y Agrocalidad. 26-28 febrero. EESC, Quito, Ecuador.

Angamarca H y Ochoa J. 2019. Evaluación de Estrategias para el Manejo Sostenible del Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) de la Papa (*Solanum tuberosum*) en Ecuador. Congreso Nacional de la Papa. UTA, Ambato-Ecuador.

Angamarca H, Cuvi M, Sierra N, Realpe J, Pozo M, Tello C y Ochoa J. 2019. Desarrollo de Principios de Manejo del Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) de la Papa en Ecuador. Congreso Nacional de la Papa. UTA, Ambato-Ecuador.

Ochoa J, Galarza V, Gallardo A, León D, Gallardo y P, Ellis M. 2019. Las Marchiteces Vasculares del Babaco y Naranja: Similitudes y Diferencias de Manejo. En: Segundo Simposio de Producción Integrada de Frutas. INIAP, Quito-Ecuador.

Ochoa J. 2019. Variedades mezcla, y la vulnerabilidad de los cultivos a enfermedades en la Sierra de Ecuador. Jornadas Científicas Tecnológicas: Aniversario 60 del INIAP, Quito-Ecuador.

Ochoa J. 2019. Capacitación en la identificación de *Fusarium oxysporum* cubense raza 4 tropical. Estación experimental Litoral Sur.

Ochoa J. 2019. Mesa técnica *Fusarium oxysporum* cubense raza 4 tropical. Diferentes reuniones sobre la enfermedad para el diagnóstico, exclusión, contención, erradicación.

Ochoa J. 2019. Análisis Retrospectivo de la Punta Morada de la Papa en Ecuador. Capacitación técnicos del MAG y Estudiantes Universitarios.

Ochoa J. 2019. La Marchitez Vascular o Fusariosis de la Granadilla en Ecuador. Capacitación Agricultores Intag.

Tello, C., Oña, C., Caicedo, J. y Viera, W. (2019). Estudio de la eficacia de fungicidas para el control de marchitez (*Ilyonectria torresensis*) en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), bajo condiciones controladas. Memorias del II Simposio Internacional Producción Integrada de Frutas 2019. Quito, Ecuador: INIAP.

Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C. (Enero, 2019). Taller Producción de bioformulado a base de *Trichoderma* spp. y control de calidad. Dirigido a productores de Laboratorio Artesanal Canchaguano – MAGAP - Carchi.

Perdomo, C., Tello, C. (Agosto, 2019). Entrenamiento en técnicas de aislamiento, producción, conservación y bioformulaciones con base en *Trichoderma* sp. Pasante Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria –IPTA. DNPV EESC – Pichincha.

Perdomo, C., Tello, C. (Octubre, 2019). Capacitación en Técnicas de cobertura de semillas con *Trichoderma* spp. Técnico Departamento de Protección Vegetal – EELS. DNPV EESC – Pichincha

Perdomo, C., Tello, C. (Diciembre, 2019). Taller - teórico práctico sobre

bioformulaciones y su control de calidad. Dirigido a Técnicos de Empresa

MICROTECH. DNPV EESC – Pichincha.

Tello, C. (Noviembre, 2019). Capacitación en Técnicas de cobertura de semillas con

Trichoderma spp. Técnicos Departamento de Protección Vegetal – Est. Exp.

Litoral Sur. EELS – Guayas.

Villamizar, L., Perdomo, C., Tello, C. (Julio, 2019). Taller de Intercambio de

experiencias sobre el control de calidad de bioinsumos. Dirigido a Técnicos

MAGAP, AGROCALIDAD y Empresas privadas productoras de bioinsumos.

DNPV EESC – Pichincha.

Villamizar, L., Perdomo, C., Tello, C. (Julio, 2019). Taller - teórico práctico sobre

bioformulaciones y su control de calidad. Dirigido a técnicos de

AGROCALIDAD, MAGAP y Empresas privadas de producción de bioinsumos.

DNPV EESC - Pichincha

10. Propuestas presentadas:

- **Propuesta 1.**

Título: Elucidating the molecular mechanisms behind the interplay between calcium and jasmonate signaling and their implication in plant resistance

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: CRP - ICGEB Research Grants Programme 2019

Fecha presentación: 30 de abril, 2019

Responsable: Dr. Antonio León-Reyes (USFQ)

Equipo multidisciplinario:

Dra, Sandra Garcés Carrera (INIAP), Quito-Ecuador.

Dra. Carla Caruso (Tuscia University), Viterbo-Italy

Dra. Laura Bertini (Tuscia University), Viterbo-Italy

Dra. Silvia Proetti (Tuscia University), Viterbo-Italy

Ing. Darío Ramírez (USFQ), Quito-Ecuador

Ing. Noelia Barriga (USFQ), Quito-Ecuador

Presupuesto: 75.000 Euro

Duración proyecto: 36 meses

Estado: Negado

- **Propuesta 2.**

Título: Monitoreo del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* en tres provincias de Ecuador

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: AECID-CIP

Fecha presentación: Junio 2019

Responsable: Carmen Castillo C.

Equipo multidisciplinario: Nancy Panchi (CIP), MAG Cotopaxi, UTN, UTC, UCE

Presupuesto: Financiado por AECID-CIP; USD 40460 / CIP-AECID 22575 (55.8%),

INIAP

9180 (22.7%), MAG 8705 (21.5%)

Duración proyecto: 15 meses

Estado: Aprobado

- **Propuesta 3.**

Título: Diagnóstico de los agentes causales de punta morada de papa

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: Ninguno

Fecha presentación: 7/2015

Responsable: Carmen Castillo

Equipo multidisciplinario: Assunta Bertaccini (U. de Boloña), Viviana Rivera Varas y

Gary Secor (U. de Dakota del Sur)

Presupuesto: Ninguno

Duración proyecto: Indeterminado

Estado: Aprobado

11. Rubro: Protección Vegetal

Producto 1. 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/EEA

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

Antecedentes:

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.

De los 503 especímenes, 180 fueron enviados al Canadian Centre of DNA Barcoding (CCDB), 117 para confirmación de la especie *S. frugiperda* y 63 para la identificación de especie. Los resultados de la identificación molecular se obtendrán en el primer trimestre del 2020, con dicha información se elaborará el informe técnico correspondiente.

Producto 2 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 Vizuite., 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:

Esta actividad corresponde a la continuación de las actividades realizadas en el 2018; en el presente año (2019), se han remitido al laboratorio del USDA muestras, que corresponde, a muestras colectadas en cultivos de maíz suave en la provincia de Pichincha y, de maíz duro en la provincia de Los Ríos; así también muestras colectadas en cultivos de arroz en las provincias de Manabí, Guayas y Loja. Dichas muestras se encuentran en proceso de análisis con técnicas moleculares, para determinar los haplotipos de *S. frugiperda* presentes en Ecuador así como el análisis de la migración.

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.

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

Metodología:

Se continuó con la coordinación de las actividades técnicas de colectas en las provincias de Pichincha, Manabí, Guayas, Los Ríos y Loja, con los investigadores que forman parte del equipo multidisciplinario; la selección de muestras, empaque y embalaje de las muestras, para el envío 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 (MAE).

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 y arroz en las provincias de Los Ríos, Manabí, Guayas y Loja. 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 continúa con la caracterización genética con técnicas moleculares de las poblaciones de *S. frugiperda* recolectadas.

Resultados:

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

En el periodo comprendido entre diciembre 2018 a octubre 2019, se realizaron colectas de 18 muestras de larvas de *S. frugiperda*, en cultivos de maíz suave y duro, y arroz, en las provincias de Pichincha (1), Los Ríos (7), Manabí (5), Guayas (3) y Loja (2). Cada investigador del equipo multidisciplinario involucrado en estas actividades, reportará los resultados de las colectas realizadas en las provincias asignadas a cada uno, de manera que en el presente informe se reportará la información de las colectas realizadas en la provincia de Pichincha y Los Ríos, como se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1

Fecha, lugar y geo referencia de los puntos de muestreo de larvas de S. frugiperda en cultivo de maíz suave y duro en las provincias de Pichincha y Los Ríos, 2018-2019

Fecha	Provincia	Cantón	Parroquia	Sitio	Geo-referencia	
					Latitud/Longitud	Altitud (m)
13/12/2018	Pichincha	Quito	San José de Minas	Sumapz	0172545/784062	2250
20/05/2019	Los Ríos	Ventanas	Zapotal	San Gerardo	675121/9862985	205
20/05/2019	Los Ríos	Ventanas	Zapotal	Lechugalito	674797/9855641	178
21/05/2019	Los Ríos	Ventanas	Zapotal	Loma La	678068/9870185	258
				Capilla		
21/05/2019	Los Ríos	Mocache	Mocache	La Porfidia	662542/9868550	135
21/05/2019	Los Ríos	Mocache	Mocache	Pecinto Siete	659176/9870525	146
21/05/2019	Los Ríos	Mocache	Mocache	Guarumal del medio	651781/9868466	127
21/05/2019	Los Ríos	Vinces	Vinces	ND	642048/9829989	16

ND= Información no disponible

Caracterización genética de poblaciones de *S. frugiperda* (J. E. Smith)

Como parte de los resultados del análisis de muestras de dos localidades de la provincia de Manabí, se generó una publicación la misma que se describe en el numeral 7.

En dicha publicación, se presenta por primera vez, la caracterización genética de la plaga En Ecuador, los resultados se compararon con poblaciones de hábitats de maíz en ubicaciones seleccionadas del Caribe y Sudamérica para investigar la posible relación migratoria entre estas poblaciones y se evaluaron considerando los patrones de viento predominantes y la distribución de lugares con clima favorable para el establecimiento de la población de *S. frugiperda*.

Conclusiones:

Se cuenta con una colección de referencia de 55 muestras de larvas de *S. frugiperda* colectadas en las provincias de Manabí, Los Ríos, Guayas, Loja, Azuay, Bolívar, Imbabura, Pichincha, Sucumbíos, Orellana, Morona Santiago, Napo y Galápagos.

Un total de 143 especímenes de Manabí fueron analizados por secuenciación COI con 22 haplotipos, de los cuales, un haplotipo agrupado con el de arroz, mientras que los restantes fueron más similares al haplotipo presente en maíz.

Recomendaciones:

Se identificarán los haplotipos de *S. frugiperda* presentes en cultivos de maíz y arroz en las trece provincias del Ecuador, migración y movilidad hasta diciembre, 2020.

Referencias:

Peterson, A. (1962). Larvae of insects. Lepidoptera and Hymenoptera. Parte I.

Lepidoptera and plant Infesting Hymenoptera. 6th. ed. Ohio State University.
USA.

Wagner, D., Schweitzer, D., Sullivan, J., y Reardon R. (2011). Owllet Caterpillars of
Eastern North America. Princeton University Press. USA.

Producto 3. 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

Nelson Mazón., Mg. PRONALEG-GA.

Diego Rodríguez., M.Sc. PRONALEG-GA

Laura Vega., Ing. Agr. PRONALEG-GA

Antecedentes:

El fréjol es una de las leguminosas de grano comestible más importante en el Ecuador, se registró una área sembrada de aproximadamente 67000 ha, Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP, 2016). 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). La mayor parte de la producción de fréjol desarrollan productores de la agricultura familiar campesina, quienes tienen varios problemas, como que el fréjol está expuesto al daño causado por plagas en almacenamiento así como el gorgojo del

fréjol, (*Acanthoscelides obtectus* Say.), los que ocasionan pérdidas en las reservas para el consumo familiar y para semilla (Ernest, E., Falconí, E., Peralta, E., James K. 2008). Resultados de investigaciones han demostrado que, las hembras de *A. obtectus* Say., depositan los huevos en las vainas del fréjol cuando están en maduración fisiológica en el campo; en la cosecha son transportados al almacenamiento como larvas dentro de la vaina (Ramírez y Suris 2015; Castillo, 1996; Cardona, 2004). 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 generar variedades resistentes a plagas de granos almacenados; el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) ha evaluado germoplasma de fréjol para determinar niveles de resistencia a dos especies de gorgojos,

Zabrotes. subfasciatus y *A. obtectus* (Schoonhoven, A y Cardona, C. 1982) (Cardona y Posso, 1987). Posteriormente, se encontraron niveles de resistencia satisfactorios a *Z. subfasciatus* en especies silvestres de fréjol común de origen mexicano. Más tarde identificaron una proteína de la semilla denominada Arcelina, que fue determinada como una fuente de resistencia en fréjol al gorgojo *Z. subfasciatus*. Además, se han caracterizado 7 variantes o alelos de la proteína Arcelina (Osborn, T., Burow, M and Bliss, F. 1988); demostrando que la selección por la presencia de las variantes de Arcelina (Arl-1, 2, 4 y 5) permite el desarrollo de líneas de fréjol altamente resistente a *Z. subfasciatus* y moderadamente resistente y no altamente efectiva a *A. obtectus* (Cardona y Kornegay, 1989).

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 (MAE)

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.

Poblaciones de *A. obtectus* Say., para los bioensayos

Las zonas de muestreo, se definieron en base a zonas de mayor producción de fréjol arbustivo, condiciones ambientales, áreas de siembra continua de fréjol, presencia de la plaga y diferentes rangos altitudinales de producción. El muestreo de poblaciones de insectos adultos de *A. obtectus* Say, se realizó luego de dos meses de la cosecha, en lugares de almacenamiento de fréjol, libre de aplicaciones con pesticidas, en las provincias de Imbabura y Azuay; así también, se obtuvo información de las características de las zonas de muestreo, daño de la plaga, manejo del grano de fréjol arbustivo en almacenamiento, variedades, entre otros temas, en base a una ficha de colecta.

Posteriormente, se procedió a realizar la identificación del género y especies mediante caracteres morfológicos considerando criterios de Kingsolver, 1968; Dan Johnson, 1990: a) coloración y forma de las antenas; b) coloración del fémur; c) protuberancias espinosas en el fémur; d) características de la genitalia de insectos machos.

Germoplasma de *Phaseolus* spp.

Para la determinación de las categorías de resistencia a *A. obtectus* Say., se procedió a multiplicar la semilla de once materiales de *P. vulgaris* L., procedentes de Puerto Rico que contienen fuentes de resistencia al insecto plaga y de especies del género *Phaseolus*,

para determinar otras fuentes alternativas de resistencia genética para posteriormente introducirla en materiales comerciales de fréjol arbustivo en Ecuador.

Resultados

Poblaciones de *A. obtectus* Say.

En el periodo septiembre a octubre 2018, se realizaron las colectas de tres poblaciones de *A. obtectus* Say., en bodegas de almacenamiento en las provincias de Azuay (2) e Imbabura (1). Información de las características de las poblaciones colectadas se describen en la Tabla 1.

Tabla 1

Fecha, lugar y geo referencia de los puntos de muestreo de insectos adultos de Acanthoscelides obtectus Say., en granos de fréjol, en las provincias de Azuay e Imbabura, 2018

Fecha	Provincia	Cantón	Parroquia	Sitio	Geo-referencia	
					Latitud/Longitud	Altitud (m)
05/09/2018	Azuay	Paute	San Cristóbal	Guachún chico	2°46'54"S 78°45'36"O	2435
06/09/2018	Azuay	Gualaceo	Gualaceo	San Gerardo	2°54'00"S/78°47'00"O	2439
01/10/2018	Imbabura	Cotacachi	Pañaherrera	Conrala	0°21'18" N/78°30'49"W	1700

Confirmado, el género y especie, *Acanthoscelides obtectus* Say, se procedió a realizar la cría de las tres poblaciones bajo condiciones controladas de temperatura ($27 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad relativa (70% HR), en 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), a fin de contar con suficiente número de insectos para los bioensayos.

Conclusiones:

- Se ha realizado la colecta de tres poblaciones de insectos adultos de *A. obtectus* Say., corresponden, dos muestras de la provincia de Azuay y una a la provincia de Imbabura.
- Se realizó la identificación taxonómica de la especie, *A. obtectus* de las tres poblaciones recolectadas, mediante características morfológicas utilizando claves taxonómicas.
- Se cuenta con una cría de *A. obtectus* de cada una de las poblaciones bajo condiciones controladas de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y 70% HR .
- Se ha realizado la multiplicación de semilla de 11 genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. y especies del género *Phaseolus* para los bioensayos.

Recomendaciones

- Las actividades de identificación de la resistencia a la plaga, *A. obtectus* Say., en germoplasma del género *Phaseolus*, finalizarán en el mes de diciembre, 2020.

Referencias:

Baldin, E and Lara, F. (2008). Resistance of stored bean varieties to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Insect Science*. 15:317-326.

Cardona, C. y Posso, C. E. (1987). Resistencia de variedades de frijol a los gorgojos del grano almacenado. *Boletín Informativo del Programa de Frijol del CIAT* 9: 1-4.

Cardona, C. y Kornegay, J. (1989). Use of wild *Phaseolus vulgaris* to improve beans for resistance to bruchids. In p 90-98: S. Beebe (ed), *Current topics in breeding of common beans*. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical.

- Cardona C. (2004). Common beans: Latin America. In: Hodges R, Farrell (eds) *Crop post-harvest: Science and Technology*. Durables, vol 2. Blackwell, Oxford, pp 145–150.
- Castillo, C. (1996). Estrategia de control del gorgojo *Acanthoscelides obtectus* SAY en fréjol arbustivo, Mascarilla, Carchi. *Tesis de pregrado*. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Central del Ecuador.
- 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.
- 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.
- Kingsolver, J. M. (1968). A review of the *obtectus* group in *Acanthoscelides* Schilsky, with designations of lectotypes (Coleoptera: Bruchidae:Bruchinae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 70(1): 5-9.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP). (2016). “La Política Agropecuaria Ecuatoriana. Hacia el desarrollo territorial rural sostenible 2015-2025”. *Anexo 58.1-C*. Quito, Ecuador.
- Osborn, T., Burow, M and Bliss, F. (1988). Purification and Characterization of Arcelin Seed Protein from Common Bean. *Plant Physiol.* 86, 399-405.

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.

Ramírez, S y M. Suris. (2015). Ciclo de vida de *Acanthoscelides obtectus* (Say.) sobre frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de laboratorio. *Rev. Protección Veg.* 30(2): 158-160.

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

Producto 4. 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. Los principales productores de fréjol tierno en el 2015 fueron: Los Ríos con el 40% y un rendimiento de 1.06 t/ha, Imbabura con 19% y un rendimiento de 1.87 t/ha.; con relación a fréjol seco en el 2015, los productores están localizados en las provincias de Bolívar con el 21% del total nacional y con un rendimiento 0.72 t/ha, luego consta Azuay con el 15% de la producción y un rendimiento de 0.39 t/ha (MAGAP, 2015). Con respecto a fréjol seco, en el 2015, la producción nacional se incrementó en el 2.6% con respecto al 2014; se tiene un comportamiento variable, en que la mayor producción se logró en el 2005 con 23,488 t. y en el 2015 se redujo a 12,878 t.

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 Colombia se ha reportado la reducción del rendimiento en más del 79% en campos infestados de cultivo de fréjol (Kornegay y Cardona 1990) y pérdida total del cultivo en condiciones de sequía y altas temperaturas. 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), situación que ocasiona incrementos de costos de producción, sumado a la contaminación a los agricultores y al ambiente, por ello se precisa aplicar otras alternativas para un manejo integrado de la plaga, como la resistencia genética de las plantas hospederas (HPR-Host Plant resistance).

Varias investigaciones se han desarrollado para identificar fuentes de resistencia a *E. kraemeri* en germoplasma de *Phaseolus vulgaris* L., en varios países; el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Colombia, inicia un programa de mejoramiento genético para evaluar la resistencia varietal a la plaga en 1974 (Hallam, 1984), con evaluaciones en campo e invernadero de más de 22.000 accesiones por un periodo de 10 años, de las cuales el 3,4% del germoplasma ha sido identificado como resistente, predominando la categoría de tolerancia al daño de *E. kraemeri*, pocos

genotipos identificados con categoría de antixenosis o no preferencia de adultos hembras de *E. kraemeri* para la oviposición en plantas de fréjol (Kornegay and Cardona 1990); se ha reportado antibiosis como categoría de resistencia (Pillmer and Tingey 1976).

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, a fin de incrementar los rendimientos y los ingresos económicos de los agricultores, reducir o eliminar la aplicación de los pesticidas para tener un menor impacto en la salud de los agricultores y consumidores, que sea compatible con otras estrategias de manejo como el control biológico.

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*, para lo cual, previamente se identificará y confirmará, en base a caracteres morfológicos usando claves taxonómicas y técnicas moleculares, el género y la especie de la plaga, *Empoasca kraemeri*, que se utilizará en los ensayos; identificando la resistencia, el programa de mejoramiento genético de Programa de Leguminosas y Granos Andinos (PRONALEGGA) 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 (MAE)

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 (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-2019-0175-O del 15 de febrero, 2019.

Colecta de población de *E. kraemeri* Ross & Moore.

La zona de muestreo y colecta, se definió en base a criterios de selección como importancia del cultivo de fréjol arbustivo, áreas de siembra continua de fréjol, altos porcentajes de infestación de la plaga. La colecta de especímenes de insectos adultos de *E. kraemeri*, se realizó a partir de la emergencia de las plantas (García, 1981); se seleccionaron la cuarta y quinta hojas apicales, en las cuales se realizaron ligeros golpes para coleccionar los adultos en recipientes plásticos que fueron cubiertos con tela tul, Pedigo (1988); luego fueron transportados al invernadero ubicado en la Granja de Tumbaco y colocados en plantas de fréjol, variedad susceptible (blanco fanesquero) en jaulas de madera, para el desarrollo de la cría de insectos bajo condiciones controladas de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 45% HR y un fotoperiodo de 16:8 (D: N). Se realizó la identificación taxonómica de los adultos, en base a los caracteres morfológicos de venación de las alas, considerando la metodología descrita por (Aguin-Pombo, D., Valido, L., Sousa, F y Arraiol, A. 2014; Arroyo, W., Pérez, A., Soto, J y Beltrán, J. 2015).

Adicionalmente, se obtuvo información de las características de la zona de muestreo, daño de la plaga, manejo del cultivo de fréjol, variedades, entre otros temas, en base a una ficha de colecta.

Resultados

En el mes de abril, 2019, se realizó la colecta de una población de *E. kraemeri* en cultivo de fréjol de la variedad Centenario, en la localidad de Carpuela, Cantón Ibarra, provincia

de Imbabura. Con esa población se implementó la cría de la plaga en cajas de madera en el invernadero de la Granja de Tumbaco. Durante dos meses se trató de reproducir la plaga, sin embargo, factores bióticos como la presencia severa de patógenos (*Erysiphe polygoni*) en las plantas de fréjol, fue una limitante para mantener la cría de la plaga. Ante esa situación, se implementó un ensayo, en la localidad de Carpuela, provincia de Imbabura, ubicada a 1630 m., (0°25'24''N/77°58'58''), para determinar la resistencia en las siete variedades comerciales de fréjol, se aplicó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones; hasta la presente fecha se continúa evaluando.

Conclusiones

- Se ha realizado la colecta de una población de insectos adultos de *E. kraemeri*, en la provincia de Imbabura.
- Se realizó la identificación taxonómica de la especie, *E. kraemeri*, mediante características morfológicas utilizando claves taxonómicas.
- Se implementó la cría de *E. kraemeri* bajo condiciones controladas de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 45% HR
- Se ha implementado un ensayo de campo para determinar niveles de resistencia en siete variedades comerciales de fréjol a la plaga *E. kraemeri*.

Recomendaciones

Las actividades de identificación de resistencia en variedades comerciales de fréjol finalizarán en el mes de diciembre, 2020.

Referencias

- Aguin-Pombo, D., Valido, L., Sousa, F y Arraiol, A. (2014). Differences in wing venation between parthenogenetic and bisexual species of *Empoasca* leafhoppers from Madeira Island. *Bulletin of Insectology*. 67 (1): 1-12.
- Arroyo, W., Pérez, A., Soto, J y Beltrán, J. (2015). Identificación de morfotipos de *Empoasca* spp. (Hemiptera: Cicadellidae) en agro-ecosistemas de ñame y yuca (Sucre, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*. 41 (2): 163-169.
- 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.
- Kornegay, J. y Cardona, C. (1990). Development of an appropriate breeding scheme for tolerance to *Empoasca kraemeri* in common bean. *Euphytica* 47: 223-231.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP). (2016). “La Política Agropecuaria Ecuatoriana. Hacia el desarrollo territorial rural sostenible 2015-2025”. *Anexo 58.1-C*. Quito, Ecuador.
- 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.

Pillmer E and Tingey W. (1976). Hooked Trichomes: A Physical Plant Barrier to a

Major Agricultural Pest. *Science* 193: 484-484.

Productos 5 y 6. Estudio de la reacción a enfermedades y productividad del fréjol en asociación con maíz en la Sierra de Ecuador.

Responsable: José Ochoa Lozano., Ph.D.

Colaboradores:

Ing. Nelson Mazón, Ing. Ángel Murillo, Ing. Laura Vega, Ing. Diego Rodríguez-EESC

Agr. Miguel Guamán. EEA.

Antecedentes

En Ecuador, el fréjol (*Phaseolus vulgaris* L), es un cultivo importante, que provee de alimentos (carbohidratos y proteínas) e ingresos económicos a las comunidades de los valles y zonas templadas de los Andes (Peralta et al., 1997). En los valles se cultivan los tipos arbustivos mayormente en monocultivo de variedades mejoradas, mientras que en las zonas templadas, se cultivan los tipos volubles, mayormente asociados con maíz. En la asociación con maíz, el tipo *Canario* es al momento la principal población de fréjol que se cultiva en el país. Sin embargo, en Cotacachi y Saraguro, el cultivo de las variedades conocidas como mixturiados es la principal práctica en la asociación con maíz. Un mixturiado es una variedad mezcla y consiste de una población genéticamente diversa que se siembra, cosecha y consume como mezcla. La composición y frecuencia fenotípica de la variedad mezcla es variable entre regiones, y dentro de regiones. En Cotacachi se cultivan los mixturiados Chacra (habito VI) y los mixturiados Allpa (habito II y III); mientras que en Saraguro se cultivan solo los mixturiado Chacra. Con menos frecuencia, el cultivo de los mixturiados se observa también en las provincias de Bolívar y Azuay.

El interés por el cultivo de variedades mezcla en sitios tradicionales del cultivo de fréjol voluble, es una evidencia de que el cultivo de variedades mezcla, antes del cultivo comercial del tipo *Canario*, ha sido una práctica común de la asociación maíz/frejol en el país.

El cultivo comercial del maíz para choclo y del fréjol para hortaliza, han cambiado las prácticas tradicionales de la asociación, y se ha dado paso al monocultivo de variedades comerciales uniformes. Un ejemplo del abandono de la asociación maíz/fréjol, es el

monocultivo de la variedad de maíz Guagal, y el monocultivo de las variedades de fréjol Canario y Cargamanto en la provincia de Bolívar. Sin embargo, el cultivo de variedades uniformes es vulnerable a problemas principalmente de origen biótico, los que generalmente se presentan en menor frecuencia en la asociación y en el cultivo de variedades mezcla.

Una razón importante de la asociación y del cultivo de variedades mezcla es crear condiciones desfavorables para el desarrollo de enfermedades, aspecto epidemiológico que se conoce como "efecto barrera" (Finck and Wolfe, 2006), y consiste en la disminución de autoinfecciones (Murray and Milgroom, 2012). Una ventaja adicional de la asociación es la complementación mutua de los cultivos por espacio; pero además, en la asociación los cultivos hacen un mejor uso de los nutrientes, creando un proceso sinérgico, que incrementa la productividad de los cultivos.

Los principios asociados con la estabilidad de la asociación de cultivos y del cultivo de variedades mezcla puede contribuir al cultivo contemporáneo del fréjol en el país. En este estudio se evaluó el efecto de la asociación con maíz de la diversidad de variedades de fréjol voluble y arbustivo que se cultivan en el país. Se comparó las epidemias de las enfermedades así como la productividad de la diversidad de variedades de fréjol en asociación con maíz y monocultivo.

Objetivos

- a) Evaluar el efecto de la asociación con maíz en la severidad de las enfermedades de variedades de fréjol voluble y arbustivo en la Sierra de Ecuador.

b) Evaluar el efecto de la asociación con maíz en el rendimiento de las variedades de fréjol voluble y arbustivo en la Sierra de Ecuador.

Materiales y métodos

Estudio 1: Efecto de la asociación con maíz de la diversidad local de fréjol voluble

Factores en estudio

Asociación

A1: Fréjol asociado con maíz

A2: Unicultivo de fréjol (cultivo en espaldera)

Variedades de fréjol

V1: Mixturiado Chacra (hábito IV), cultivado en Cotacachi

V2: Mixturiado Allpa (hábito II y III), cultivado en Cotacachi

V3: Canario (hábito IV), variedad comercial local

V4: INIAP-412 Toa (hábito IV), variedad mejorada

V5: INIAP-426 Siete Colinas (hábito IV), variedad mejorada

V6: Cargamanto (hábito IV), variedad mejorada

V7: Mixturiado Chacra + Mixturiado Allpa, cultivado en Cotacachi

Tratamientos

Resultaron de la interacción de los niveles de los factores en estudio. El ensayo se realizó en Uyumbicho-Mejía en la zona baja de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) a 2700 m.s.n.m., y en Bulcay - Gualaceo en la Estación Experimental del Austro (EEA) a 2250 m.s.n.m. En Uyumbicho las variedades de fréjol se asociaron con la variedad local

de maíz Chillos; y en Bulcay, las variedades de fréjol se asociaron con la variedad local de maíz Zhima.

Diseño experimental

El ensayo se implementó en un diseño de parcela dividida con tres repeticiones. En la parcela grande se implementó el factor asociación, mientras que en la parcela pequeña se implementó el factor variedades. La unidad experimental estuvo constituida por cuatro surcos de cinco metros espaciados a 1 m, y la parcela neta estuvo constituida por los dos surcos centrales. En la parcela neta se seleccionaron 10 sitios al azar, donde se realizaron las evaluaciones de las enfermedades y el rendimiento. Cada sitio estuvo constituido por lo menos por una planta de fréjol y una planta de maíz, lo que se logró sembrando tres semillas de fréjol y tres semillas de maíz en cada sitio. El espaciamiento entre sitios fue de 0.80 m.

Estudio 2: Efecto de la asociación con maíz de la diversidad local de fréjol arbustivo

Factores en estudio

Asociación

A1: Fréjol asociado con maíz

A2: Unicultivo de fréjol

Variedades de fréjol

V1: INIAP-484 Centenario

V2: INIAP-481 Rojo del Valle

V3: INIAP-411 Imbabello

V4: INIAP-404 Cargabello

V5: Rojo Moteado Allpa

V6: Morado Rayado Allpa

V7: Rojo Rayado allpa

V8: Allpa Negro

V9: Campeon Morado

V10: Mixturiado Allpa

V11: Mixturiado variedades mejoradas

3.2.2 Tratamientos

Resultaron de la interacción de los niveles de los factores en estudio. El ensayo se realizó en Uyumbicho - Mejía en la zona baja de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) a 2700 m.s.n.m., y en la asociación con maíz se utilizó la variedad local de maíz Chillos

Diseño experimental

El ensayo se implementó en un diseño de parcela dividida con tres repeticiones. En la parcela grande se implementó el factor asociación, mientras que en la parcela pequeña se implementó el factor variedades. La unidad experimental estuvo constituida por cuatro surcos de cinco metros espaciados a 1 m, y la parcela neta estuvo constituida por los dos surcos centrales. En la asociación, el fréjol se sembró entre las plantas de maíz, que estuvieron espaciadas a 0.8 m, mientras que el fréjol en monocultivo se sembró a 0.40 cm entre sitios. En la asociación se sembraron tres semillas de maíz y tres semillas de fréjol por sitio, mientras que monocultivo tres semillas de fréjol por sitio.

Variables

Severidad de enfermedades foliares

En estos estudios se evaluaron las enfermedades mancha gris (*Cercospora* sp), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), roya (*Uromyces appendiculatus*), mildiu polvoso (*Erysiphe polygoni*) y el virus del mosaico común del fréjol (CBMV). Para la evaluación de las enfermedades se utilizó la escala modificada de Cobb (0-100), adaptada para fréjol por Stavely, 1983), donde 0 corresponde a ausencia de síntomas y 100 a plantas completamente afectadas por la enfermedad. Las enfermedades se evaluaron desde la aparición de los primeros síntomas cada 21 días hasta la maduración fisiológica de la planta. En este reporte se analiza la evaluación más representativa de cada enfermedad.

Rendimiento

Se cosechó y pesó las semillas de cada sitio seleccionado (g/sitio), valor que se transformó a kg/ha.

Resultados y discusión

Efecto de la asociación con maíz de la diversidad local de fréjol voluble

En este estudio se evaluó la reacción de la diversidad local de fréjol a mancha gris y roya en Uyumbicho, y a CBMV, mildiu polvoso y roya en Bulcay. Las condiciones frías y húmedas favorecieron a mancha gris en Uyumbicho, mientras que las condiciones secas y abrigadas favorecieron a CBMV y mildiu polvoso en Bulcay, aspecto que permitió evaluar el efecto de la asociación y el comportamiento de las variedades de fréjol en condiciones contrastantes.

El análisis del ADEVA (Tabla 1) para la evaluación de mancha gris en Uyumbicho presenta diferencias altamente significativas para el factor asociación, variedades e interacción asociación x variedades, mostrando un efecto importante de la asociación con maíz en el desarrollo de la enfermedad, y diferencias de reacción de las variedades en la asociación. En el análisis de medias (Tabla 2) se observa que la asociación tiene un efecto positivo, reduciendo la severidad de mancha gris en relación al monocultivo. La variedad Cargamanto presentó menos severidad de la enfermedad tanto en asociación como en monocultivo. Un resultado interesante que resaltar de este estudio es que en la asociación las variedades susceptibles presentaron menor enfermedad, por lo que las diferencias de severidad entre variedades es menos evidente, creando colectivamente uniformidad epidemiológica. La severidad de roya por otra parte fue en general baja en Uyumbicho; sin embargo, en el ADEVA se observó diferencias significativas para variedades e interacción asociación x variedades. Las variedades INIAP-412 Toa e INIAP-416 fueron las que menos severidad presentaron, mientras que la variedad Cargamanto presentó mayor severidad tanto en asociación con maíz como en monocultivo. El efecto de la interacción se observó con claridad en las variedades mixturiados Chacra y mixturiados Allpa, las que presentaron menor enfermedad en asociación que en monocultivo (Tabla2). El efecto de la interacción asociación x variedades en las variedades mixturiados Chacra y Allpa también está asociado con la diversidad de resistencia de los genotipos componentes de las variedades mezcla.

Tabla 1

Análisis del ADEVA para severidad de mancha gris y roya, rendimiento de grano de siete variedades de fréjol voluble evaluadas en monocultivo y en asociación con maíz en Uyumbicho-Mejía

	GL	Cuadrados Medios		
		Mancha gris	Roya	Rendimiento
Repetición	2	51.3***	15.391**	11
Asociación	1	23707***	0.903	282514***
Variedades	6	3610***	28.449***	22419***
Asociación x variedades	6	1366***	19.555**	31048***
Residual		44848	1179.8	594558

En Bulcay, el análisis del ADEVA para CBMV, mildiu polvoso y roya presentó diferencias estadísticas para la asociación y variedades y solo para mildiu polvoso para la interacción asociación x variedades (Tabla 3). En el análisis de medias (Tabla 4) se observa el efecto positivo de la asociación, produciendo una reducción de la severidad de las tres enfermedades, especialmente de roya. En este estudio las variedades Cargamanto, INIAP-412 y INIAP-426 presentaron menor severidad de CBMV, la variedad Cargamanto presentó menos severidad de mildiu polvoso, y las variedades Cargamanto y mixturiado Allpa presentaron menor severidad de roya. En la interacción asociación x variedades se observó un efecto importante de la asociación en la reducción de las epidemias del mildiu polvoso en las variedades Cargamanto y mixturiado Allpa (Tabla 4), lo que probablemente se deba a la precocidad de estas variedades.

Tabla 2. Analisis de medias para severidad de mancha gris y roya, y rendimiento de grano, de siete variedades de frejol voluble evaluadas en monocultivo y en asociación con maíz en Uyumbicho - Mejía.

	Mancha Gris ¹		Roya ¹		Rendimiento (kg/ha)	
	Asociado	No Asociado	Asociado	No Asociado	Asociado	No Asociado
Cargamanto ²	35.0 a	40.0 a	3.0 b	1.3 ab	619.4 b	2148.9 a
Mixturiado Chacra ³	42.1 ab	71.7 c	0.1 a	0.8 ab	927.5 a	824.3 b
Canario ⁴	42.6 ab	71.5 c	0.0 a	0.1 a	606.0 b	897.8 b
Mix Chacra + Mix Allpa	45.6 ab	–	1.6 ab	–	789.1 a	–
Mixturiado Allpa ³	46.9 ab	55.2 b	0.0 a	2.3 b	440.5 b	1789.4 a
INIAP-426 Siete Colinas ²	48.2 b	73.8 c	0.0 a	0.0 a	1077.8 a	2122.1 a
INIAP-412 Toa ²	56.7 b	73.9 c	0.3 a	0.0 a	984.3 a	1744.0 a
Promedio	45.3 a	64.4 b	0.7	0.8	777.8 b	1587.7 a

¹Severidad utilizando la escala modificada de Cobb (0-100)

²Líneas (variedades) mejoradas

³Variedades mezcla cultivada en Cotacachi-Imbabura

⁴Variedad comercial local

En relación al rendimiento, en el análisis del ADEVA en la localidad de Uyumbicho (Tabla 1) se presentó diferencias estadísticas para el factor asociación, variedades e interacción asociación x variedades. En el análisis de medias (Tabla 2) se observó que el rendimiento en monocultivo fue estadísticamente mayor que en la asociación, lo que básicamente se debió a los rendimientos significativamente altos en monocultivo de las variedades Cargamanto, INIAP-426, INIAP-412, y mixturiado Allpa. Sin embargo, la variedad mixturiado Chacra fue beneficiada por la asociación, con rendimientos mejores que en monocultivo, mientras que la variedad Canario fue menos afectada por la asociación (Tabla 2). Estos resultados muestran que las variedades mejoradas fueron seleccionadas en condiciones óptimas para el crecimiento y no se adaptan a la asociación, mientras que el mixturiado Chacra está adaptado a la asociación. La variedad mixturiado Allpa, aun cultivada en asociación produce significativamente más en monocultivo, seguramente porque al ser de hábito II y III se afecta más por la competencia.

Tabla 3. Analisis del ADEVA para severidad de CBMV, mildiu polvoso y roya, y rendimiento de grano de siete variedades de fréjol evaluadas en monocultivo y en asociación con maíz en Bulcay-Gualaceo.

GL	Cuadrados Medios			
	CBMV	Mildiu Polvoso	Roya	Rendimiento
Repetición	145.9	0.9	75.6	9190***
Asociación	750.8*	4449***	3604***	17
Variedades	2771.9***	4426***	1750***	39397***
Asociación x Variedades	300.5	626*	421	2083
Residual	24607	39023	38236	185777

Los resultados de Bulcay para rendimiento son diferentes a los de Uyumbicho; en el análisis del ADEVA se observaron diferencias significativas solo para variedades (Tabla 3). Los rendimientos similares entre la asociación y monocultivo lo más probable se debe al efecto negativo de las enfermedades en monocultivo, ya que complementariamente los niveles de severidad de las enfermedades en monocultivo fueron altos. Las variedades que mejor rendimiento presentaron en Bulcay fueron Cargamanto, INIAP-412 e INIAP-426. Las variedades Mixturiado Chacra, Mixturiado Allpa y Canario presentaron rendimientos bajos. Estos resultados claramente muestran que las variedades mejoradas han sido seleccionadas con amplia adaptación, ya que rindieron bien tanto en condiciones frías (Uyumbicho) como en condiciones abrigadas (Bulcay). La variedad mixturiado Chacra de otra forma tiene adaptación restringida y produce bien en condiciones frías (Uyumbicho) similares a las de Cotacachi, y no se adaptaron bien a los valles bajos de Bulcay.

Tabla 4. Análisis de medias para severidad de BCMV, mildiu polvoso y roya, y rendimiento de grano de siete variedades de fréjol voluble evaluadas en monocultivo y en asociación con maíz en Bucay - Gualaquero.

	BCMV ¹		Mildiu Polvoso ¹		Roya ¹		Rendimiento (kg/ha)	
	Asocio	No asocio	Asocio	No asocio	Asocio	No asocio	Asocio	No asocio
Cargamanto ²	1.0 a	1.0 a	8.2 a	21.2 a	2.8 a	4.1 a	1420.9 a	1844.2 a
INIAP-412 Toa ²	8.7 a	17.3 b	48.2 c	53.4 b	12.4 a	17.1 a	1191.1 a	1140.6 b
INIAP-426 Siete Colinas ²	9.3 a	15.3 b	30.2 bc	50.8 b	12.4 a	11.4 a	1208.6 a	1104.5 b
Mixturiado Allpa ³	10.8 a	22.7 b	23.7 ab	40.8 b	0.4 a	7.1 a	551.6 b	798.9 b
Mixturiado Chacra ³	23.2 b	22.2 b	38.7 c	41.2 b	15.3 b	26.3 b	240.9 b	123.3 c
Canario ⁴	30.7 b	27.3 b	35.5 c	34.2 ab	7.8 a	27.1 b	420.2 b	180.2 c
	13.9 a	17.6 b	30.7 a	40.3 b	8.5 a	15.5 b	838.9	865.3

¹Severidad utilizando la escala modificada de Cobb (0-100)

²Líneas (variedades) mejoradas

³Variedades mezcla cultivada en Cotacachi-Imbabura

⁴Variedad comercial local

Efecto de la asociación con maíz de la diversidad local de fréjol arbustivo

En este estudio se evaluó la reacción de la diversidad local de fréjol arbustivo a mancha gris, antracnosis y roya en asociación con maíz y monocultivo. El análisis del ADEVA para mancha gris (Tabla 5) muestra diferencias estadísticas significativas para los factores asociación y variedades, y el análisis de medias (Tabla 6) muestra que la severidad de la enfermedad es mayor en la asociación, lo que probablemente se debe a que en la asociación la humedad es mayor, que favorece el desarrollo de la enfermedad. Las variedades que presentaron menor severidad de la enfermedad fueron INIAP-481 e INIAP-411. La mayoría de variedades presentaron niveles intermedios de enfermedad, y las variedades INIAP-404 y Rojo Moteado Allpa, presentaron niveles de severidad altos.

Tabla 5. Análisis del ADEVA para mancha gris, roya y rendimiento de 11 variedades de fréjol arbustivo

	GL	Cuadrados Medios			
		Mancha Gris	Roya	Antracnosis	Rendimiento
Repetición	2	34.3	22.09*	0.0412	3147.5*
Asociación	1	1932**	40.5**	0.03	2003*
Variedades	10	11504***	6.59ns	145.46***	6224***
Asociación x Variedades	10	237 ns	1683.2	0.35	3415***
Recidual		75606		385.6	195278

Las epidemias de roya fueron esporádicas y poco consistentes; sin embargo, en el ADEVA se presentó diferencias estadísticas significativas para el factor asociación (Tabla 5), y a diferencia de mancha gris, en la asociación con maíz se presentó menor enfermedad que en monocultivo. Las epidemias de antracnosis también fueron bajas pero consistentes, y se presentaron diferencias para variedades (Tabla 5), siendo las variedades INIAP-481 e INIAP-411 susceptibles a la enfermedad (Tabla 6).

El análisis del ADEVA para el rendimiento presenta diferencias estadísticas significativas para la asociación, variedades e interacción asociación x variedades (Tabla 5). El rendimiento fue significativamente más alto en monocultivo, las variedades que presentaron mejores rendimientos tanto en asociación como monocultivo fueron Morado Rayado Allpa e INIAP-411; pero además se notó una clara interacción asociación x variedades (Tabla 6). La mayoría de variedades tuvieron un rendimiento significativamente mayor en la asociación, y las variedades Allpa Negro y mixturiado de variedades mejoradas, rindieron mejor en la asociación; pero además, las variedades INIAP-381 y Campeon Morado rindieron en forma similar en asociación como en monocultivo.

Tabla 6. Análisis de medias para mancha gris, roya y rendimiento de 11 variedades de fréjol arbustivo evaluadas en monocultivo y en asociación con maíz en Amaguaña - Pichincha.

	Mancha gris ¹		Roya ¹		Antracnosis ¹		Rendimiento (kg/ha)	
	Asoc	No Aso.	Asoc	No Aso.	Asoc	No Aso.	Asoc	No Aso.
INIAP-481 Rojo del Valle ²	2.72 a	8.94 ab	0.00	0.00	3.72 b	4.13 b	301.25 bc	440.34 c
INIAP-411 Imbabello ²	7.44 a	6.10 a	0.00	1.68	0.00	0.01 a	570.00 b	1461.24 a
Morado Rayado Allpa ³	21.08 b	9.84 ab	1.55	0.38	0.01 a	0.14 a	1026.25 a	1303.80 ab
Mixturiado Allpa ⁴	22.04 b	18.81 ab	0.43	0.11	0.67 a	0.81 a	416.25 bc	1198.02 ab
Rojo Rayado Allpa ³	24.44 b	17.55 ab	0.33	0.64	0.00	0.01 a	296.25 bc	937.26 abc
Allpa Negro ³	29.89 b	23.90 b	0.00	0.80	0.01 a	0.02 a	695.00 b	396.06 c
Mixturiado variedades mejoradas	32.35 b	26.96 b	0.00	0.45	0.29 a	0.01 a	565.00 b	499.38 c
Campeon Morado ³	33.45 b	32.71 b	0.27	1.48	0.01 a	0.01 a	611.25 b	843.78 bc
INIAP-484 Centenario ²	42.05 c	34.76 b	0.05	0.00	0.01 a	0.01 a	450.00 bc	1055.34 abc
Rojo Moteado Allpa ³	58.35 c	51.96 c	0.00	2.11	0.02 a	0.01 a	328.75 bc	665.60 bc
INIAP-404 Cargabello ²	58.89 c	60.00 c	0.00	0.56	6.11 c	5.83 c	192.50 c	565.80 bc
Promedio	30.25 b	26.5 a	0.24a	0.75b	0.99	0.1	495.68 b	851.61 a

¹ Severidad utilizando la escala modificada de Cobb (0-100)

² variedades mejoradas

³ Líneas tradicionales

⁴ Variedades mezcla obtenidas en Cotacachi-Imbabura

Conclusiones

Para los tipos volubles, la asociación con maíz tuvo un efecto positivo, reduciendo la severidad de todas las enfermedades evaluadas en los tipos volubles de fréjol, tanto en zonas frío-húmedas (Uyumbicho), como abrigado-secas (Bulcay). Sin embargo, para los tipos arbustivos la asociación con maíz tuvo un efecto negativo incrementando la severidad de mancha gris.

El rendimiento de grano de las variedades volubles fue en general mayor en la asociación cuando la presión de enfermedades fue baja (Uyumbicho), pero cuando la presión de las enfermedades fue alta, los rendimientos de la asociación y monocultivo fueron similares (Bulcay), por lo que el efecto de la competencia se compensa con la reducción de las epidemias en la asociación. Este aspecto fue menos evidente en fréjol arbustivo donde el rendimiento fue significativamente mayor en monocultivo, lo que evidenció que para arbustivos, la asociación creó mejores condiciones ambientales para mancha gris.

En las variedades mezcla, mixturiados volubles y mezcla de variedades mejoradas se presentó menor severidad de las enfermedades evaluadas y los rendimientos fueron superiores en la asociación, por lo que la mezcla de variedades es un componente adicional de manejo que mejora la productividad del cultivo de fréjol.

A pesar, de que los rendimientos de las variedades mejoradas fueron afectadas por la competencia, las variedades volubles INIAP-412 e INIAP-426 y las variedades arbustivas INIAP 411 e INIAP-481 tuvieron rendimientos aceptables en la asociación.

Referencias

Finck, M., Wolfe, M., (2006). *Diversification Strategies*, in: Cooke, M., Jones, D., Kaye B (Eds.), *The Epidemiology of Plant Diseases*. Springer, pp. 269–308.

doi:10.1007/1-4020-4581-6

Murray, T., Milgroom, M., (2012). *Epidemiological bases of variety mixtures for reduction of pest and disease damage*, in: Jarvis, D.I., Fadda, C., De Santis, P., Peralta, E., Murillo, A., Mazon, N., Monar, C., Rivera, M., 2013. *Manual agrícola de fréjol y otras leguminosas*.

Peralta, E., Murillo, A., Pinzón, J., (1997). *Fréjol, su importancia económica, ecológica y social, y la oferta tecnológica del Programa Nacional de Leguminosas*, in: Danial, D. (Ed.), *Primer Taller de PREDUZA En Resistencia Duradera En Cultivos Altos En La Zona Andina*. PREDUZA, Quito, Ecuador, pp. 79–87.

Stavely, J.R., (1983). *The modified Cobb Scale for estimating bean rust intensity*. Bean Improvement Cooperative, East Lansing, MI, USA.

Producto 7. Avances del estudio: Evaluación de la resistencia a enfermedades y caracterización agronómica de líneas mejoradas de naranjilla en Ecuador

Responsable: José Ochoa Lozano., Ph.D.

Colaboradores: Ing. Carlos Feican. EEA

Antecedentes

En Ecuador, la naranjilla común o de jugo (*Solanum quitoense* Lamark) se cultiva esporádicamente, debido básicamente a epidemias de la marchitez vascular (*Fusarium oxysporum* f. sp. *quitoense*) (Ochoa et al 2010). El híbrido Puyo que resultó de la cruce entre la naranjilla común y una cocona silvestre (*S. sessiliflorum*) (Heiser 1993), ha reemplazado el cultivo de la naranjilla común en el país, debido básicamente a la resistencia del híbrido Puyo a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*. Sin embargo, una limitante importante de este híbrido es que produce frutos de tamaño pequeño, y para alcanzar el tamaño comercial, el agricultor aplica al fruto dosis bajas de Dacocida, un herbicida hormonal cuyo ingrediente activo es 2-4-D Ester (Lucio 1997).

Durante la implementación del proyecto IPM/CRSP, el Departamento Nacional de Protección Vegetal desarrolló líneas con resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*. Estas líneas se derivaron de cruces inter-específicas entre *S. quitoense* con *S. vestissimum*, *S. hyporodium* y *S. hirtum*. Durante el desarrollo de estas líneas se incluyó como criterio complementario de selección, la calidad de fruta; por lo que al momento se disponen de líneas promisorias F5, resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* y con calidad de fruta similar a la de la naranjilla común.

En este estudio se está evaluando el potencial agronómico de las líneas promisorias de naranjilla con resistencia a *F. oxysporum* f. sp *quitoense*. Complementariamente, se está evaluado el nivel de resistencia de estas líneas a otras enfermedades, lo que permitirá establecer programas de manejo sustentable de estas líneas, en el caso de que sean liberadas como nuevas variedades.

Avances de la actividad

Métodos

Las líneas que se presentan en la Tabla 1, se trasplantaron en Tandapi-Pichincha, Chical-Carchi y Molleturo-Azuay, en enero, febrero y marzo del 2019. Las líneas se evaluaron en un diseño de Bloques Completos al Azar con tres repeticiones. Las parcelas estaban constituidas por tres surcos de cuatro plantas en Chical y Tandapi, mientras que de un surco de cuatro plantas en Molleturo. Las variables se tomaron en al menos cuatro plantas en cada parcela. Los ensayos al momento están en el estado fenológico de madurez fisiológica, por lo que en este reporte se incluye la reacción a enfermedades que se han presentado hasta el momento, y proyecciones de rendimiento comercial de la primera cosecha para Tandapi y Molleturo. Se evaluó la incidencia de la marchitez vascular contando el número de plantas infectadas con *F. oxysporum* f. sp *quitoense*, y la severidad del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) contando el número de lesiones de la enfermedad por planta.

Tabla 1

Genealogía e historial de selección de líneas promisorias de naranjilla que se evalúan en Tandapi-Pichincha, Chical-Carchi y Molleturo Azuay

Líneas	Genealogía	Historial de selección
L1	<i>S. qui</i> var. Dul/ <i>S. ves</i> / <i>S. qui</i> var. Tan	(1)(5)(1)(1)
L2	<i>S. hyp</i> / <i>S. qui</i> var. Bae	(2)(67)(2)(3)
L3	<i>S. hir</i> x <i>S. qui</i> var. Dul/ <i>S. qui</i> var. Tan	(38)(2)(1)
L4	Naranjilla común	

Simbología de la genealogía:

S. qui: *S. quitoense* ; *S. ves*: *S. vestissimum*; *S. hyp*: *S. hyporhodium*; *S. hir*: *S. hirtum*

var. Tan: variedad Tandapi; var. Bae: variedad Baeza; var. Dul: variedad Dulce

Resultados preliminares

La marchitez vascular se presentó en Tandapi y Molleturo, mientras que el tizón tardío se presentó solo en Tandapi. La incidencia de la marchitez vascular llegó al 50% de plantas en Tandapi, mientras que al 35% de plantas en Molleturo, solo en la variedad común. El tizón tardío igualmente fue una enfermedad muy severa en Tandapi (Tabla 2). En naranjilla común se registraron 15 lesiones/planta, muchas de las cuales fueron severas: en cambio la enfermedad fue menos severa en las líneas evaluadas L1 y L2, con 8.3 y 8.6 lesiones/planta, siendo pocas severas. Los bajos niveles de severidad se deben a la resistencia heredada de *S. hyporhodium* y *S. vestissimum* en las líneas L1 y L2 respectivamente. Estos resultados sugieren que el manejo de tizón tardío va a ser más fácil en las líneas mejoradas que en naranjilla común (L4).

Tabla 2. Severidad de tizón de la naranjilla y proyecciones de rendimiento de fruto por planta de líneas promisorias de naranjilla evaluadas en Tandapi-Pichincha y Molletuto-Azuay.

Linea	Lesiones de tizón ¹		Frutos/planta ³		Rendimiento (kg/planta) ⁴	
	Total	Severas ²	Tandapi	Molleturo	Tandapi	Molleturo
L1	8.3	2.0	37	14	4.85	1.54
L2	8.6	1.8	26	35	3.64	5.25
L3	–	–	–	17	–	2.04
L4	15.0	6.5	–	21	–	2.52

¹Enfermedad causada por *Phytophthora infestans*

²Lesiones que causan el estrangulamiento de las ramas

³Frutos producidos en la primera floración

⁴Rendimiento de la primera floración

Los rendimientos de fruto de las líneas evaluadas se presentan en la Tabla 2. Las líneas L1 y L2 que se derivaron de cruzas entre *S. hyporodum* y *S. vestissimum* fueron las que mejores tamaños de fruta y rendimiento presentaron. Los rendimientos de las líneas variaron entre sitios; la línea L1 presentó mejores rendimientos en Tandapi con 37 frutos/planta, mientras que la línea L2 fue más estable y presentó buenos rendimientos en las dos localidades, con 26 y 35 frutos/planta en Tandapi y Molleturo, respectivamente. La línea L3 no presentó buenos rendimientos en Molleturo donde se evaluó. Los resultados para peso de fruto fueron similares que para número de frutos, y la línea L2 presentó un rendimiento estable en Tandapi y Molleturo (Tabla 2). Aunque existen diferencias de rendimiento de las líneas en los sitios evaluados, los rendimientos de las líneas mejoradas fueron similares o mejores que el de naranjilla común (L4).

Conclusiones

Todas las líneas evaluadas presentaron mejores niveles de resistencia a marchitez vascular y tizón tardío que la naranjilla común (L4).

Los rendimientos de las líneas evaluadas son altos para la proyección de la primera cosecha, especialmente de las líneas L1 y L2, por lo que se consideran líneas promisorias.

Recomendaciones

Continuar con las evaluaciones de las siguientes cosechas, para evaluar de mejor manera el potencial de estas líneas, que podrían ser candidatas a nuevas variedades de naranjilla.

Referencias

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

Lucio, C. y Espin, M. (1997). Niveles residuales de Plaguicidas en frutas Andinas. Tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y Naranjilla (*Solanum quitoense*). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito, Ec. PROCIANINO. s.p.

Ochoa JB, Ellis M y Alwang J. 2010. El manejo de la fusariosis como base para un cultivo ecológico de la naranjilla en Ecuador. Boletín técnico No 138, INIAP, Quito, Ecuador.

Producto 9. Monitoreo del psílido de la papa *Bactericera cockerelli*, en dos provincias de Ecuador

Responsable: Carmen Castillo C. Ph.D.

Colaboradores: Nancy Panchi (CIP), MAG Cotopaxi, UTN, UTC, UCE

Antecedentes: La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo de importancia agrícola que forma parte fundamental de la seguridad alimentaria del Ecuador. En el país se registró una producción de 422589 Tm de papa con un área de siembra de 32188 hectáreas en el

2018 (MAG, 2019) lo que indica la importancia de este cultivo. 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 un promedio de 31 mil ha en los dos siguientes años, y otra reducción de 53 mil ha sembradas en el 2016 a un promedio de 32 mil ha en los dos siguientes años (MAG, 2019). Reducciones que podrían ser efecto de la presencia de punta morada de papa. Recientemente fue reportada la presencia del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* Sulc (Triozidae: Homoptera) en Ecuador (Castillo et al. 2019), insecto que, en otros países, ha sido reportado como vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, el agente causal del chip cebrá (Munyanza, et al. 2007). Se presume que *B. cockerelli* está involucrado en la transmisión de fitoplasmas o en la sintomatología de punta morada de papa en Ecuador.

Cuando se dan invasiones de nuevos insectos vectores, existe la posibilidad de que nuevos patógenos ingresen a una región. Los movimientos de estos insectos son generalmente movidos por cambios climáticos, uso de la tierra y el comercio (Chunco, 2014). Cuando los insectos se alimentan de cultivos, el movimiento de poblaciones a nuevas regiones puede llegar a un surgimiento de nuevas plagas debido a los intercambios a los rasgos específicos de la población, incluida una mayor resistencia a los pesticidas, una mayor variedad de plantas hospederas y una mayor capacidad para tolerar la variación climática (Oliveira et al. 2001). Además, la dispersión de estos insectos que son vectores de patógenos de plantas altera la incidencia y la gravedad de los brotes de enfermedades de los cultivos debido a su mayor capacidad para transmitir patógenos (Czosnek, et al., 2017).

Los hemípteros son insectos de un orden muy importante en agricultura porque tiene un número alto de especies que son plagas directas e indirectas. Tres de sus subórdenes tienen importantes plagas agrícolas: Heteroptera (chinchas), Auchenorrhyncha (saltones), Sternorrhyncha (áfidos, moscas blancas, escamas y psílidos). Los psílidos son pequeños, generalmente hospedero-específicos y se alimentan del floema de las plantas (Burckhardt et al. 2014). Dentro de la superfamilia Psylloidea existen más de 4000 especies descritas en el mundo (Ouvrard 2019).

El ciclo de vida de *B. cockerelli* comprende de un estado de huevo, cinco estadios ninfales y un estado adulto (macho y hembra) se reproduce sexualmente. Las ninfas son móviles durante todos sus estadios de desarrollo (Hodkinson 2009). Se alimentan del floema, igual que los adultos, lo que hace de ellos excelentes vectores de bacterias patogénicas. Existen cuatro diferentes haplotipos de la misma especie de *B. cockerelli*: central, occidental, suroccidental y el noroccidental que difieren a nivel molecular en ciertas regiones de su genoma, en endobiontes y en ciertas características reproductivas (Swisher et al. 2012; Cooper et al. 2015). En Ecuador se ha reportado la presencia del haplotipo central de *B. cockerelli* (Castillo et al. 2019).

Para un desarrollo más adecuado de MIP para todas las plagas en los cultivos de 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 monitorear la fluctuación de las poblaciones de plagas. El monitoreo de poblaciones y el establecimiento de umbrales es difícil (Vereijssen et al. 2018) sin embargo existen software de modelos matemáticos desarrollados para utilizar los datos obtenidos en los muestreos para predecir el desarrollo

de las plagas. Las trampas de color amarillo de tamaño estándar (23 cm x 14 cm) logran capturar mayor número de adultos de *B. cockerelli* que las de tamaño pequeño (7.5 cm x 12.5 cm) y las de color anaranjado neón, y capturaron significativamente igual que las de color verde neón. Se colocan sobre una estaca de madera a un metro de altura (Henne et al. 2010). Los monitoreos se pueden realizar mediante la observación y conteo de los diferentes estados de desarrollo de *B. cockerelli*, siendo los más adecuados el conteo de oviposturas y de ninfas durante un determinado tiempo (Verijssen et al. 2018; Castillo et al. 2016).

ILCYM (Insect Life Cycle Modeling) es un software (ILCYM - version 4.0) que facilita el desarrollo de modelos fenológicos de insectos (plaga y enemigos naturales) y provee de herramientas analíticas para el estudio de la ecología de las poblaciones de las plagas. El software ILCYM presenta dos módulos principales. Uno es el “modelo constructor” que facilita el desarrollo del modelo fenológico del insecto basado en datos de temperatura experimental de una plaga específica. Este modelo también provee de herramientas para analizar tablas de vida de las plagas y para validar modelos de desarrollo. El segundo módulo que posee ILCYM, es la implementación del modelo fenológico en un sistema de información geográfico ambiental que permite una simulación espacio-global o regional de las actividades de la plaga (mapeo del riesgo de la plaga). El objetivo del ILCYM es proveer de una herramienta digital de fuente abierta que facilite el desarrollo de modelos fenológicos para investigadores y estudiantes que utilicen técnicas de modelamiento avanzado. El ILCYM interactivamente lleva al usuario a través de pasos al desarrollo de modelos de la fenología de la plaga, o para realizar

simulaciones espaciales con un modelo de desarrollo de la plaga. Puede ser aplicable a muchas especies de plagas y a muchas circunstancias para las cuales el modelo fue necesitado. El software ILCYM se desarrolló en un paquete R que facilita la creación de aplicaciones web interactivas directamente desde R (<https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/ilcym/Home>).

Objetivos:

Caracterizar la abundancia y registrar la población de *B. cockerelli* en dos provincias durante dos ciclos de cultivo de papa.

Colectar otros posibles vectores, enemigos naturales e insectos benéficos en el cultivo de la papa.

Caracterizar molecularmente *B. cockerelli* para determinar su/su haplotipo/s e identificación molecular de los posibles vectores e insectos benéficos.

Aplicar el ILCYM con los datos obtenidos en el muestreo para obtener mapas de riesgo de la plaga.

Metodología: Este estudio se desarrolla en campos sembrados con papa de tres provincias, Imbabura, Pichincha y Cotopaxi. En cada provincia se han seleccionado los cantones/parroquias. El monitoreo se realiza con los estudiantes de la UTN, UCE y UTC como tesis de pregrado, y con los técnicos del MAG quienes llevan a cabo el monitoreo en sus zonas de intervención en Cotopaxi. Los lotes monitoreados tienen una extensión de 2000m² a 10000m². En estos lotes se realizan evaluaciones cada 15 días durante dos ciclos del cultivo de la papa, observando las variables que se detallan en el manejo específico del cultivo.

Monitoreo

Monitoreo de adultos: Las trampas son colocadas a cinco metros del borde del cultivo dos por lote. Las trampas son colectadas y reemplazadas cada 15 días y enviadas al DNPV de la EESC. Previo al envío, se las deberá cubrir con una funda plástica transparente para proteger a los insectos adheridos. Los psílicos son identificados y contabilizados en el laboratorio.

Se registrarán las fechas del periodo en el que las trampas estuvieron en el campo, el lugar de monitoreo, y las coordenadas geográficas. Los resultados serán presentados en el número de psílicos/trampa/15 días (Vereijssen et al. 2015).

Monitoreo de oviposturas: Se seleccionan veinte plantas al azar en un transepto en forma de X en cada lote. En cada planta se contabilizan las oviposturas en cinco minutos (utilizando un cronómetro) (Castillo et al. 2016). Para realizar un conteo adecuado, se divide la planta en cuatro cuadrantes y se revisan en orden los brotes jóvenes de las plantas (parte apical principalmente) para contabilizar todas las oviposturas dentro del tiempo determinado con la ayuda de una lupa. Se registran los datos en el libro de campo y directamente en un aplicativo EPICOLLECT5. Cada técnico mantendrá como respaldo los libros de campo y si es necesario se los entregará a su jefe inmediato quien enviará los datos al INIAP.

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

lupa. Se registran los datos el libro de campo y directamente en un aplicativo EPICOLLECT5.

Frecuencia del monitoreo de las variables: La frecuencia de monitoreo de ninfas y huevos se realizan cada 15 días, las trampas para el monitoreo de adultos se cambian cada 15 días.

Para los monitoreos en Cotopaxi se cuenta con el apoyo de los técnicos del MAG-Cotopaxi, AGROCALIDAD, UTC y también con el apoyo de la UTN y UCE con trabajos de tesis y la UDT-INIAP. Además, además el apoyo de los técnicos de las UDT de Cotopaxi e Imbabura para realizar actividades específicas.

Colecta de *B. cockerelli* para los análisis moleculares: Se colectarán muestras de adultos de cada sitio donde se realicen los monitoreos los cuales serán preservados en tubos Eppendorf con alcohol al 90%, posteriormente estas muestras se someterán a análisis moleculares, cada tubo será rotulado con dato de fecha, lugar de colecta y nombre del colector. Se colectarán muestras por una sola vez en los diferentes lotes de monitoreo.

Información de los lotes: Se recopilará información secundaria como estado fenológico del cultivo de la papa, prácticas culturales, controles fitosanitarios realizados durante los 15 días previos a cada monitoreo, fertilización, riego y/o precipitación, entre otras que nos ayuden a entender la distribución de *B. cockerelli*.

Temperatura: Se colectará información de temperatura registrada en los dispositivos data logger (programados para tomar los datos cada hora durante el tiempo que dure el monitoreo) instalados en la zona más cercana a los sitios seleccionados para los monitoreos.

Los grados días (GD) acumulados serán calculados de la media de la temperatura por hora usando las mínimas y máximas (Butler et al. 2013). En estudios de laboratorio se estimó el tiempo de desarrollo entre una ovipostura a adulto en papa fue de 358 GD para temperaturas debajo del umbral de 7.1°C, de este modo se puede calcular el número potencial de generaciones del psílido por año en una región (Vereijssen et al. 2018).

Caracterización molecular de los psílicos colectados: Se realizará la extracción de ADN genómico del insecto completo en los laboratorios de Biotecnología de la EESC, de acuerdo a protocolos como los de Crosslin et al. (2013) u otros. Se utilizarán primers determinados para la identificación de los diferentes haplotipos y los utilizados para determinar la presencia o ausencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Castillo et al. 2016). Se analizarán los psílicos con la metodología para detectar fitoplasmas en general o específicos (16SrI-F u otro) (Castillo et al. 2018). Además, se utilizarán primers para detectar la bacteria endobionta *Wolbachia* que pudiera ser específica para el haplotipo central (Cooper et al. 2015). La prueba de reacción en cadena de la polimeraza (PCR) serán realizadas en el Dept. de Biotecnología. Los fragmentos serán secuenciados y analizados en comparación a los resultados. Los resultados de los análisis de secuenciación tipo Sanger serán comparados con los ya publicados en la base de datos del GenBank® NCBI con el programa de alineamiento BLAST, luego con las secuencias se realizará el análisis filogenético en el programa PHYLOGENY, ambos disponibles online.

Documento de aprobación: INIAP-EESC_DIR-2019-0905-MEM

Resultados: La actividad se encuentra en ejecución. Se están realizando los monitoreos en lotes de las provincias de Cotopaxi, Pichincha, Imbabura y Carchi (Tabla 1). También se están recolectando datos de temperatura en ciertas zonas.

Se están colectando *B. cockerelli* para su análisis molecular, así como también otros insectos que posiblemente sean vectores de los patógenos de punta morada y de otras enfermedades, y se colectan insectos benéficos como enemigos naturales de *B. cockerelli* y polinizadores en el cultivo de la papa.

Tabla 1

Localidades donde se está realizando el monitoreo de B. cockerelli. Ecuador, 2019

#	Provincia	Cantón	Parroquia	Localidad	UTM	Altitud	
1	Cotopaxi	Latacunga	Alaquez	Cuchitingue	773997	9905760	3183
2	Cotopaxi	Latacunga	Pastocalle	Comuna San Juan	763639	9929177	3532
3	Cotopaxi	Latacunga	Pastocalle	Culche Salas	836365	9221305	3098
4	Cotopaxi	Latacunga	Belisario Quevedo	Compañía	769137	9894201	2860
5	Cotopaxi	Latacunga	Belisario Quevedo	Cangahua	767872	9889726	2727
6	Cotopaxi	Latacunga	Ignacio Flores	Santan Chico	769835	9896077	2949
7	Cotopaxi	Latacunga	Juan Montalvo	Jesús del Gran Poder	776651.6	9901741.4	3604
8	Cotopaxi	Latacunga	Poalo	Maca Atapulo	754129.3	9901656.4	3421
9	Cotopaxi	Latacunga	Poalo	Bellavista	756361	9902586	3219
10	Cotopaxi	Salcedo	La Matriz	Cumbijin	777742.9	9884013	3186
11	Cotopaxi	Salcedo	La Matriz	Cumbijin			
12	Cotopaxi	Salcedo	Mulliquindil	Belisario Quevedo	769904	9888306	2686
13	Cotopaxi	Salcedo	Mulliquindil	Mulliquindil	775977	9886008	3133
14	Cotopaxi	Pujilí	La Matriz	Guantubamba	754056.5	9883752.4	3395
15	Cotopaxi	Pujilí	La Matriz	Rumipungo	749704.46	98926262.4	3574
16	Cotopaxi	Pujilí	La Victoria	La Victoria	750761	9884401	3615
17	Cotopaxi	Pujilí	Zumbahua	Caucho	728000	9900896.3	3450
18	Cotopaxi	Sigchos	La Matriz	Cerro Azul	737894	99308680	2942
19	Cotopaxi	Sigchos	La Matriz	Cerro Azul	737932	9930714	2913
20	Cotopaxi	Sigchos	Chugchilan	Tonducto Alto	720908	9908512	3672
21	Cotopaxi	Sigchos	Chugchilan	Guayama Grande	731583	9908334	3346
22	Cotopaxi	Saquisilí	Cochapamba	Fassupamba	799873	9911781	3508
23	Cotopaxi	Saquisilí	Canchagua	Canchagua 5 esquinas	757009.5	9909950	3113
24	Cotopaxi	Saquisilí	Canchagua				
25	Cotopaxi	Latacunga	Alaquez				
26	Cotopaxi	Latacunga	Salache				
27	Cotopaxi	Salcedo	Salache				
28	Cotopaxi	Salcedo	Rumipamba				
29	Cotopaxi	Salcedo	Rumipamba				
			Mo				
30	Pichincha	Tabacundo	nca	Tabacundo			

			yo				
		Pedro					
			Mo				
			nca				
			yo				
31	Pichincha			2 localidades			
32	Pichincha	Cayambe		3 localidades			
33	Imbabura	Pimampiro		Mariano Acosta	Mariano Acosta		
34	Imbabura	Pimampiro		Mariano Acosta	Mariano Acosta 2		
35	Imbabura	Pimampiro		Mariano Acosta	Pilcacho		
36	Imbabura	Pimampiro		Colimburo	Colimburo		
37	Imbabura	Pimampiro		Colimburo	Colimburo 2		
38	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Comunidad Ugsha- sector Primavera	0,208022	-78,141972
					Comunidad Ugsha- sector Primavera		
39	Imbabura	Otavaló		San Pablo	2	0,206261	-78,134364
					Comunidad Ugsha- sector Primavera		
40	Imbabura	Otavaló		San Pablo	3	0,188886	-78,194381
					Comunidad Ugsha- sector Primavera		
41	Imbabura	Otavaló		San Pablo	4	0,177873	-78,197417
					Comunidad Ugsha- sector Primavera		
42	Imbabura	Otavaló		San Pablo	5	0,177765	-78,197469
					Comunidad Ugsha- sector Primavera		
43	Imbabura	Otavaló		San Pablo	6	0,177803	-78,197459
44	Imbabura	Cotacachi		Imantag	Tunibamba		
45	Imbabura	Cotacachi		Quiroga	Chilcapamba		
46	Imbabura	Cotacachi		Quiroga	Chilcapamba 2		
47	Imbabura	Cotacachi		Quiroga	Ugshapungo		
48	Imbabura	Cotacachi		Quiroga	Ugshapungo 2		
49	Imbabura	Cotacachi		Quiroga	Ugshapungo 3		
50	Imbabura	Pimampiro		Pimampiro	El Inca 1		
51	Imbabura	Pimampiro		Pimampiro	El Inca 2		
52	Imbabura	Pimampiro		Pimampiro	El Inca 3		
53	Imbabura	Pimampiro		Pimampiro	El Inca 4		
54	Imbabura	Pimampiro		Pimampiro	El arbolito		
55	Imbabura	Ibarra		Carolina	CUAMBO		
56	Imbabura	Ibarra		Carolina	CUAMBO 2		
57	Imbabura	Carpuela		Ambuquí	CARPUELA		
				San Vicente de			
58	Carchi	Bolívar		Pusir	TUMBATÚ 1		
				San Vicente de			
59	Carchi	Bolívar		Pusir	TUMBATÚ 2		
60	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi Bajo 1		
61	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi Bajo 2		
62	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi Alto 1	0,265435	-78,137638
63	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi Alto 2		
64	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi Alto 3	0,291444	-78,100903
65	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi alto 1		
66	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi alto 2		
67	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi bajo 1		
68	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi bajo 2		
69	Imbabura	Ibarra		La Esperanza	Chirihuasi bajo 3		
70	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Ugsha 1		
71	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Ugsha 2		
72	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Ugsha 3		
73	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Ugsha 4		
74	Imbabura	Otavaló		San Pablo	Ugsha 5		
75	Imbabura	Cotacachi		San Francisco	Chicapamba		
76	Imbabura	Cotacachi		El Sagrario	Tunibamba		

77	Imbabura	Cotacachi	El Sagrario	Ugshapungo 1
78	Imbabura	Cotacachi	El Sagrario	Ugshapungo 2
79	Imbabura	Cotacachi	El Sagrario	Ugshapungo 3
80	Imbabura	Pimampiro	Pimampiro	Colimburo 1
81	Imbabura	Pimampiro	Pimampiro	Colimburo 2
82	Imbabura	Pimampiro	Mariano Acosta	Pilcacho
83	Imbabura	Pimampiro	Mariano Acosta	Mariano Acosta 1
84	Imbabura	Pimampiro	Mariano Acosta	Mariano Acosta 2

Conclusiones: Se están llevando a cabo los monitoreos y las colectas según lo planificado.

Recomendaciones: Continuar con el monitoreo y la recolección de *B. cockerelli* y los otros insectos posibles vectores y benéficos.

Referencias:

Burckhardt, D.H., Ouvrard, D., Queiroz, D., Percy, D. (2014). *Psyllid host-plants (Hemiptera: Psylloidea):* resolving a semantic problem. *Fla. Entomol.* 97: 242–246.

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: Triozidae). *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.

Chunco, A. J. (2014). Hybridization in a warmer world. *Ecology and Evolution*, 4(10), 2019–2031. doi:10.1002/ece3.1052

- Cooper, W. R., Swisher, K. D., Garczynski, S. F., Mustafa, T., Munyaneza, J. E., & Horton, D. R. (2015). Wolbachia infection differs among divergent mitochondrial haplotypes of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(2), 137-145.
- Crosslin, J. M., Swisher, K. D., & Hamlin, L. L. (2013). A Rapid Method for Preparation of Nucleic Acid Extracts from Potato Psyllids for Detection of ‘Candidatus *Liberibacter Solanacearum*’ and Molecular Analysis. *Southwestern Entomologist*, 38(1), 41-49.
- Czosnek, H., Hariton-Shalev, A., Sobol, I., Gorovits, R., Ghanim, M. (2017). The incredible journey of Begomoviruses in their whitefly vector. *Viruses*, 9(10).
oi:10.3390/v9100273
- MAG. 2019. Sistema de Información Pública (SIPA). <http://sipa.agricultura.gob.ec/>
Junio, 2019.
- Munyaneza, 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.
- Ouvrard, D. (2019). Psyll’list - The World Psylloidea Database. <http://www.hemiptera-databases.com/psyllist>

Swisher, K. D., Munyaneza, J. E., & Crosslin, J. M. (2012). High resolution melting analysis of the cytochrome oxidase I gene identifies three haplotypes of the potato psyllid in the United States. *Environmental Entomology*, 41(4), 1019-1028.

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.

Vereijssen, J., Smith, G. R., & Weintraub, P. G. (2018). *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potatoes in New Zealand: biology, transmission, and implications for management. *Journal of Integrated Pest Management*, 9(1), 13.

Producto 10. Evaluación de la resistencia/ tolerancia a *Meloidogyne* sp. de 10 líneas promisorias de naranjilla.

Responsable técnico: Ing. Pablo Llumiuinga

Colaboradores: Srta. Egda. Doménica Endara.

1. Antecedentes

La naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.), es un frutal originario de la región interandina del Ecuador. En el país, se han desarrollado muchas investigaciones para generar nuevos materiales genéticos como variedades y portainjertos resistentes/tolerantes a diferentes problemas fitosanitarios de interés económico (INIAP, 2014).

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (2013), la superficie cultivada de naranjilla fue de 5015 ha a nivel nacional, con una producción de 22596 t y un rendimiento de 4,5 t ha⁻¹, con un mejor rendimiento en la Amazonía.

A pesar de que la naranjilla es muy apreciada en el mercado nacional y tiene potencial internacional, hay ciertos factores que limitan su producción. Uno de los principales limitantes son los problemas fitosanitarios ocasionados por virus, hongos, insectos y nematodos, que a su vez restringen la producción y su posterior comercialización (Revelo et al., 2010).

Dentro de los nematodos fitoparásitos se encuentra el género *Meloidogyne*, el nematodo del nudo de la raíz, que es considerado como el más perjudicial para muchos cultivos de interés agrícola y comercial, por a su amplio rango de hospederos, adaptabilidad, capacidad reproductiva y sobrevivencia (Jones et al., 2013).

Dentro del manejo integrado del cultivo un pilar importante es la búsqueda de variedades resistentes al parasitismo del nematodo, por ello el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ha realizado diversos estudios con el objetivo de encontrar variedades de naranjilla resistentes a varios agentes limitantes del cultivo, entre ellas a *Meloidogyne* spp. (Bermeo, 2015a; Revelo & Sandoval, 2003; Silva et al., 2016; Viteri et al., 2009).

Pujota (2005), realizó una evaluación de resistencia a *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum*, donde se encontró que las accesiones *S. hirtum* Ecu-6242 y *S. pseudolulo* presentaron resistencia y tolerancia. En 2009 y 2010, en el INIAP se desarrolló una nueva variedad resistente a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne incognita* denominada INIAP

Quitoense 2009, injertada en patrones *S. arboreum* o *S. hirtum*; y encontraron una serie de clones resistentes entre ellos GTP-30, GTP-41, GTP-24, GTP-39, GTP-36 y GTP-7 (Revelo et al., 2010; Viteri et al., 2009).

Bermeo (2015) realizó un screening de varios segregantes de la sección Lasiocarpa para evaluar la resistencia a *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum*, donde se determinó que la variedad HxQ(B)(2)(67)(3) tiene una menor susceptibilidad al nematodo agallador de las raíces. En base a ello este estudio busca evaluar la resistencia de líneas promisorias de naranjilla a *Meloidogyne* sp. para utilizarlas en cruces favorables que permitan el control del ataque de este microorganismo sin afectar el rendimiento y la calidad del fruto.

2. Objetivos

2.1 General

Evaluar la resistencia/tolerancia a *Meloidogyne* sp. de 10 líneas promisorias de la sección Lasiocarpa (Naranjilla) bajo condiciones de invernadero para la selección del mejor material vegetal y su posterior evaluación en campo.

2.2 Específicos

- Identificar morfológicamente la especie de *Meloidogyne* ubicada en campos de naranjilla que servirá como inóculo del ensayo.
- Determinar la resistencia/tolerancia al nematodo en el material vegetal través de las variables agronómicas (número de agallas, número de masa de huevos, factor reproductivo, porcentaje de incremento de peso de la raíz, reducción del largo de la raíz, reducción en largo y peso del tallo).

3. Materiales y métodos

El presente estudio fue aprobado por Comité Técnico de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP (EESC-INIAP) mediante Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2019-0239-MEM.

3.1 Características del sitio experimental

3.1.1 Ubicación

El ensayo se estableció los invernaderos y laboratorios del Departamento Nacional de Protección Vegetal, para la identificación morfológica y evaluación de las líneas promisorias de naranjilla al parasitismo de *Meloidogyne* sp. Las características del sitio se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Características del sitio experimental para la evaluación de resistencia/tolerancia de naranjilla al parasitismo de Meloidogyne sp

Característica	EESC
Provincia:	Pichincha
Cantón:	Mejía
Parroquia:	Cutuglagua
Sitio:	E. E. Santa Catalina
Altitud:	3.058 m.s.n.m.
Latitud:	00° 22' S
Longitud:	78° 33' O
Temperatura promedio:	15.3°C
Humedad relativa promedio:	79 %

3.2 Diseño experimental

3.2.1 Factores en estudio

Se evaluaron 10 líneas promisorias de naranjilla y dos niveles de inoculación n0= sin nematodos y n1= con nematodos (5000 huevos y larvas por planta)

3.2.2 Tratamientos

Resultaron de la interacción de las líneas promisorias con los niveles de inoculación (Tabla 2).

Tabla 2

Tratamientos utilizados para la evaluación de líneas promisorias de naranjilla al parasitismo de Meloidogyne sp

Tratamiento	Código	Descripción
T1	L1n0	(<i>S. vestisimun</i> x NC) x NC sin nematodos
T2	L1n1	(<i>S. vestisimun</i> x NC) x NC con nematodos
T3	L2n0	NC x (16)16 sin nematodos
T4	L2n1	NC x (16)16 con nematodos
T5	L3n0	C2-67 B2B3R3 sin nematodos
T6	L3n1	C2-67 B2B3R3 con nematodos
T7	L4n0	C2-67 B1B5 sin nematodos
T8	L4n1	C2-67 B1B5 con nematodos
T9	L5n0	314 X 100N sin nematodos
T10	L5n1	314 X 100N con nematodos
T11	L6n0	<i>S. pseudolulo</i> sin nematodos
T12	L6n1	<i>S. pseudolulo</i> con nematodos

3.2.3 Unidad experimental

Las plantas de naranjilla de cada línea promisoría y control, dispuestas en fundas negras con 1,5 kg de sustrato.

3.2.4 Tipo de diseño

Se usó un diseño completamente al azar (DCA), con 5 tratamientos y 1 control resistente con 5 repeticiones.

3.2.5 Análisis funcional

Se empleó el programa RStudio (RStudio Team, 2019) para realizar ANOVAs o pruebas no paramétricas en caso de no existir normalidad y homocedasticidad. Se utilizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) al 5% para tratamientos con significancia estadística. Además se compararon las medias entre las plantas inoculadas y no inoculadas mediante una prueba t de Student al 95% para identificar la tolerancia de las líneas evaluadas.

3.2.6 Variables medidas

3.2.6.1 Evaluación de la resistencia a *Meloidogyne* sp.

a) Factor reproductivo

Resultó de la razón entre la población final (Pf) resultante del conteo de huevos y larvas presentes tanto en suelo como en raíces y la población inicial (Pi), que fue de 5000 larvas y huevos en cada planta.

$$I = \frac{Pf}{Pi}$$

Donde: I = Incremento poblacional

Pf = Población final

Pi= Población inicial

Una planta es resistente al nematodo cuando $I \leq 1$ y una planta susceptible cuando $I > 1$.

b) Número de agallas

Se contó el número de agallas presentes en la raíz de cada planta y se determinó el índice de agallamiento de acuerdo a la escala de índice de agallamiento de Taylor & Sasser (1978) modificada por Mukhtar et al. (2013), como se observa en la tabla 3.

Tabla 3

Índice de agallamiento para determinar severidad de daño por Meloidogyne sp. en raíces

Número de agallas	Índice de agallamiento	Escala de resistencia
Sin agallas	0	Inmune (I)
1-2	1	Altamente resistente (HR)
3-10	2	Resistente (R)
11-30	3	Moderadamente resistente (MR)
31-70	4	Moderadamente susceptible (MS)
71-100	5	Susceptible (S)
Mayor a 100	6	Altamente susceptible (HS)

Fuente: Mukhtar et. al., 2013.

3.2.6.2 Evaluación de la tolerancia a *Meloidogyne sp.*

a) Incremento de largo y peso de la raíz

Se relacionó el largo y peso de las raíces de cada planta inoculada con el peso de las raíces de las plantas no inoculadas a las 10 semanas desde la inoculación y se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ reducción} = \left(\frac{Pri}{Prn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Pri = Peso de raíz inoculada

Prn= Peso de raíz no inoculada

$$\% \text{ reducción} = \left(\frac{Lri}{Lrn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Lri = largo de raíz inoculada

Lrn= largo de raíz no inoculada

b) Incremento en largo y peso del tallo

Se relacionó el peso/largo de los tallos de cada planta inoculada con el peso/largo de los tallos de las plantas no inoculadas a las 10 semanas de la inoculación y se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ reducción peso tallo} = \left(\frac{Pti}{Ptn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Pti = Peso del tallo inoculado

Ptn= Peso del tallo no inoculado

$$\% \text{ reducción longitud tallo} = \left(1 - \frac{Lti}{Ltn} \right) \times 100$$

Donde:

Lti = longitud del tallo inoculado

Ltn= longitud del tallo no inoculado

c) Incremento del contenido de clorofila de las hojas

Se relacionó el índice de clorofila de las plantas inoculadas con el índice de clorofila de las plantas sin inocular y se expresó en porcentaje mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ reducción del contenido de clorofila} = \left(1 - \frac{CCHI}{CCHN} \right) \times 100$$

Donde:

CCHI = contenido de clorofila en hojas de plantas inoculadas

CCHN= contenido de clorofila en hojas de plantas no inoculadas

3.2.7 Selección de materiales resistentes/tolerantes

Se seleccionó los materiales estudiados a partir de la evaluación de la interacción de los parámetros de resistencia (Incremento poblacional) y tolerancia (Incremento de peso y largo de raíz y tallo e índice de clorofila). Los criterios de Cook (1974) citados por Revelo et al. (2009) se visualizan en la tabla 4.

Tabla 4

Reacción de resistencia/tolerancia de las plantas al efecto de Meloidogyne sp

Daño del nematodo a la planta		
Eficiencia del hospedero para la reproducción del nematodo	Estadísticamente significativo (p<0,05)	Estadísticamente no significativo (p>0,05)
Eficiente (Pf/Pi > 1)	Susceptible no tolerante	Susceptible tolerante
Eficiente (Pf/Pi < 1)	Resistente no tolerante	Resistente tolerante

Fuente: Revelo et al., 2009

4. Resultados

Se observó un bajo porcentaje de germinación de las semillas de naranjilla al momento de preparar el material vegetal. Es así que, se realizó una prueba de tetrazolio al 1% y se verificó que muchas semillas de los segregantes a evaluarse tenían daños en el embrión de la semilla.

4.1 Identificación morfológica de *Meloidogyne sp.*

El inóculo utilizado en el presente estudio fue colectado en 2014, de un campo de naranjilla ubicado en Tandapi. Desde entonces ha sido mantenido bajo condiciones

controladas en el invernadero del DNPV-EESC-INIAP, en plantas de tomate riñón y naranjilla.

Las medidas morfométricas realizadas a 25 machos y 25 larvas juveniles en segundo estado juvenil (J₂) (Tabla 5), se compararon con medidas de otros estudios y claves taxonómicas (Karssen et al., 2013, Del Moral y Romero, 1979 y Whitehead, 1968), los cuales indican que la población de la presente investigación corresponde a la especie *Meloidogyne hapla*.

Tabla 5
Promedios de medidas morfométricas de machos e infectivos juveniles de Meloidogyne sp. que se utilizó en el presente estudio

Caracter morfométrico	Machos (µm)	J ₂ (µm)
Largo del estilete	20,83±0,20 (19,09-22,46)	12,96±0,23 (9,60-14,22)
Distancia del estilete al bulbo medio	83,48±1,25 (70,50-93,47)	53,16±0,72 (46,22-63,06)
Distancia del estilete al anillo nervioso	93,88±1,35 (79,27-105,20)	61,52±0,73 (56,84-74,35)
Distancia del estilete al poro excretor	97,87±1,31 (85,05-109,10)	65,65±0,84 (60,35-79,42)
Espícula	27,00±0,88 (17,27-32,35)	-
Gobernáculo	14,59±0,44 (9,65-19,30)	-

a (Largo/Ancho del cuerpo)	34,99±0,83 (28,98-44,98)	24,73±0,53 (20,11-30,76)
H% (Largo cola hialina/Largo cola x 100)	-	29,56±1,22 (19,67-45,98)
C (Largo del cuerpo/Largo de la cola)	129,82±5,03 (93,23-186,66)	7,53±0,27 (5,14-11,11)
C' (Largo de la cola/ancho de cola)	0,61±0,02 (0,42-0,78)	4,85±0,12 (4,12-6,25)

Además, se realizaron cortes perineales de 25 hembras de *Meloidogyne* sp, encontradas en las raíces de naranjilla que se observan en la Figura 1. Estos cortes se compararon con bases existentes de estudios a nivel mundial (Vergel et al., 2000 y García-Bastidas et al., 2004) y se determinó que la especie del inóculo pertenece a *M. hapla*.

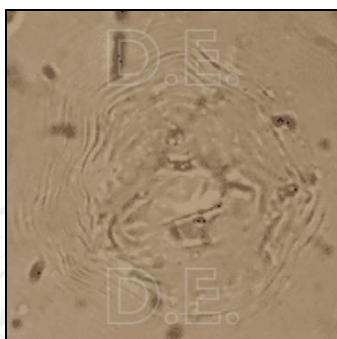


Figura 1. Patrón perineal de *Meloidogyne*

4.2. Evaluación de resistencia/tolerancia de segregantes de naranjilla a *M. hapla*

4.2.1. Evaluación de resistencia de segregantes de naranjilla a *M. hapla*

Las líneas promisorias de naranjilla utilizadas en el presente estudio mostraron un incremento poblacional menor a uno con lo que se determinó que todas las líneas

evaluadas presentaron resistencia a *Meloidogyne hapla*. Para corroborar lo expuesto anteriormente, las variables número de agallas y masas de huevos determinaron un índice de agallamiento entre 3-4 que expresan una resistencia moderada de las líneas evaluadas. En la tabla 6 se muestran los valores obtenidos en la evaluación de resistencia de líneas segregantes de naranjilla a *Meloidogyne hapla*.

Tabla 6

Reacción de resistencia de segregantes de naranjilla a Meloidogyne hapla

Línea	Número de agallas	Masa de huevos	Índice de agallamiento	Incremento Poblacional (I)	Reacción
(<i>S. vestisimun</i> x NC) x	21	22	3	0,57	Resistente
NC	32	51	4	0,72	Resistente
NC x (16)16	24	32	3	0,76	Resistente
C2-67 B2B3R3	31	36	4	0,76	Resistente
C2-67 B1B5	14	15	3	0,40	Resistente
314 X 100N	14	15	3	0,35	Resistente
<i>S. pseudolulo</i>					

4.2.2 Evaluación de la tolerancia de segregantes de naranjilla a *M. hapla*

Los segregantes evaluados mostraron tolerancia al parasitismo de *M. hapla*, debido a que no existió diferencia estadística para el incremento en valores de las variables medidas entre plantas inoculadas y no inoculadas. Estos datos se pueden observar en la tabla 7.

Tabla 7

Reacción de tolerancia de segregantes de naranjilla a *Meloidogyne hapla*

Línea	Tallo		Raíz		Clorofila (%)
	Peso (%)	Largo (%)	Peso (%)	rgo (%)	
(<i>S. vestisimun</i> x NC) x	-15,96 ^{ns}	-7,41 ^{ns}	-40,58 ^{ns}	-29,75 ^{ns}	-7,01 ^{ns}
NC	86,59 ^{ns}	4,00 ^{ns}	1,20 ^{ns}	13,19 ^{ns}	27,62 ^{ns}
NC x (16)16	13,70 ^{ns}	17,78 ^{ns}	81,89 ^{ns}	10,86 ^{ns}	18,36 ^{ns}
C2-67 B2B3R3	47,87 ^{ns}	24,76 ^{ns}	137,76 ^{ns}	4,42 ^{ns}	-4,64 ^{ns}
C2-67 B1B5	97,65*	-25,75 ^{ns}	38,82 ^{ns}	1,39 ^{ns}	18,29 ^{ns}

S. pseudolulo

4.3 Selección de los materiales resistentes/tolerantes.

En base a las variables anteriormente evaluadas, se determinó que todas los segregantes estudiados presentaron resistencia-tolerancia de acuerdo a los criterios de Cook (1974) citados por Revelo et al. (2009). El incremento poblacional fue menor a uno (Resistentes) y las variables evaluadas no presentaron diferencia estadística significativa entre plantas inoculadas y no inoculadas (Tolerantes).

5. Conclusiones

- La población utilizada en esta investigación pertenece a la especie *Meloidogyne hapla*.
- Las líneas segregantes evaluados en el presente estudio mostraron resistencia-tolerancia al parasitismo de *Meloidogyne hapla*.

6. Recomendaciones

- Realizar una segunda evaluación de los materiales para una eficaz determinación de resistencia como se recomienda internacionalmente.
- Realizar el screening de los materiales con otra población de nematodos como *M. incognita*.

7. Bibliografía

Bermeo, N. (2015). Evaluación de la resistencia a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne incognita* en segregantes de cruzamientos entre miembros de la sección Lasiocarpa. Universidad Central del Ecuador.

Camarena Gutiérrez, G., & De La Torre Almaraz, R. (2008). Fitoplasmas: síntomas y características moleculares. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 14(2), 81–87.

INIAP. (2014). Propagación Asexual por Injertos. Boletín técnico. Quito-Ecuador.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2013). Visualizador de Estadísticas Agropecuarias ESPAC.

Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., ... Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946–961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>

Karszen, G., Wesemael, W. M. L., & Moens, M. (2013). Root Knot Nematodes. In M. Moens & R. N. Perry (Eds.), *Plant Nematology* (2nd ed.). Oxfordshire, UK: CAB International.

- Mukhtar, T., Kayani, M. Z., & Hussain, M. A. (2013). Response of selected cucumber cultivars to *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, 44, 13–17.
- 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.
- Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., Valverde, F., León, J., & Gallegos, P. (2010). Manual del Cultivo Ecologico de la Naranjilla (Primera ed). Quito, Ecuador: INIAP.
- Revelo, Jorge, & Sandoval, P. (2003). Factores que Afectan la Producción y Productividad de la Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) en la Región Amazónica del Ecuador. Quito, Ecuador.
- RStudio Team. (2019). RStudio: Integrated Development for R. Boston, MA: RStudio, Inc. Tomado de <http://www.rstudio.com/>
- Silva, W., Gómez, P., Viera, W., Sotomayor, A., Viteri, P., & Ron, L. (2016). Selección de líneas promisorias de naranjilla para mejorar la calidad de la fruta. *Ecuador Es Calidad*, 3, 23–30.
- Taylor, A., & Sasser, J. (1978). Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species) Raleigh. NC: *United States Agency for International ...*, 111.
- Viteri, P., Vásquez, W., León, J., Viera, W., Posso, M., Hinojosa, M., ... Ochoa, J. (2009). Iniap Quitoense - 2009. Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Lam.) injerta en patrones de solanáceas silvestres resistentes a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita*. Quito, Ecuador: INIAP.

Producto 13. Evaluación de calidad y estabilidad del bioformulado gránulo cubierto con base en *Trichoderma* spp. en condiciones de almacenamiento.

Responsable: Cristina Tello

Colaboradores: Ana Pincay, Cynthia Perdomo

Antecedentes

El uso de microorganismos es una alternativa de control biológico que disminuye la aplicación de agroquímicos en diferentes cultivos; sin embargo, es importante destacar, que las esporas fúngicas como otros propágulos microbianos, son susceptibles a condiciones ambientales como las altas temperaturas, el pH del medio, la desecación y la radiación ultravioleta del sol, siendo esta última, uno de los factores más limitantes para la persistencia y eficacia de los bioformulados en campo (Chaparro et al., 2012).

Los microorganismos benéficos como los hongos del género *Trichoderma*, son usados para elaborar bioformulaciones que mejoran el establecimiento del microorganismo en el sitio de aplicación, permitiéndole actuar como biocontrolador de hongos fitopatógenos (Pineda et al., 2017). Las formulaciones consisten en una combinación equilibrada de ingredientes, que le proporcionan estabilidad al agente biológico (mohos, levaduras, bacterias, virus o nematodos) y los protege de las condiciones ambientales, dándoles un mayor tiempo de viabilidad. La mayoría de las formulaciones de hongos entomopatógenos se elaboran con materiales inertes tales como polvos, microtalcos, solventes, emulsificantes y otros aditivos, los cuales deben ser inocuos para la salud y el ambiente, de fácil adquisición y bajo costo pero que aseguren la viabilidad y mantengan la actividad antagonista del ingrediente activo (Chaparro, et al. 2012).

En cuanto al almacenamiento, las formulaciones a base de microorganismos deben tener un trato especial, considerando que su ingrediente activo es un organismo vivo. Se recomienda que su almacenamiento se realice en contenedores o empaques bien sellados que no permitan el ingreso de humedad ambiental. Igualmente se recomienda que los productos no sean expuestos a altas temperaturas y en algunos casos puede ser recomendable su refrigeración para prolongar su vida de anaquel (Chaparro, et al. 2012). Las formulaciones microbianas pueden dividirse en dos grupos: sólidos/secos, en el que se utiliza un vehículo que absorbe la humedad de los conidios y los encapsula para mantenerlos viables por un tiempo considerable, o líquidos/emulsiones, en el que los conidios están suspendidos en un medio líquido para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación y mantener la viabilidad del hongo en el almacenamiento y después de su aplicación (Burgues, 1998).

En la presente investigación se realizó el estudio de la estabilidad de una formulación gránulo cubierto, con base en diferentes aislamientos del hongo *Trichoderma* spp., en diferentes condiciones de almacenamiento.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la calidad y estabilidad del bioformulado gránulo cubierto con base en aislamientos de *Trichoderma* spp. almacenados a diferentes condiciones.

Objetivos específicos

- Realizar pruebas microbiológicas para el control de la calidad de un bioformulado con base en *Trichoderma asperellum* almacenado en temperatura ambiente de la provincia de Los Ríos.
- Realizar pruebas microbiológicas para el control de la calidad de un bioformulado con base en *Trichoderma harzianum* almacenado en temperatura ambiente de la provincia de Tungurahua.
- Evaluar la estabilidad de los bioformulados por un período de seis meses de almacenamiento.

Metodología

El presente estudio corresponde al Protocolo de investigación aprobado por Comité Técnico “Control de Calidad de formulaciones experimentales y productos biológicos comerciales con base en los hongos *Trichoderma* sp., *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., *Isaria* sp. y *Purpureocillium* sp.”, como referencia el Memorando Nro. INIAP-EESC_PV-2017-0039MEM, del 20 de abril de 2017. Actividad que se realizó con financiamiento del Proyecto AgResearch – Nueva Zelanda.

Ubicación del ensayo experimental

El análisis de la calidad y estabilidad de los bioformulados, almacenados en dos ambientes, se realizó en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP.

Manejo del experimento

Análisis de calidad de bioformulados con base en *Trichoderma* spp.

Para la recuperación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se tomaron mensualmente muestras del bioformulado para su análisis de pruebas microbiológicas. El bioformulado con base en *Trichoderma asperellum* fue almacenado a temperatura ambiente de la Provincia de Los Ríos, mientras que, el de *Trichoderma harzianum* se almacenó a temperatura ambiente de la Provincia de Tungurahua.

En laboratorio se procedió a homogenizar las muestras de bioformulado (lotes 2, 3 y 4), posteriormente, se pesó 1 gramo de producto para diluir en 9 ml de una solución de agua destilada estéril con dispersante Silwet® (150 µL/L). Los tubos de ensayo con la suspensión obtenida, fueron agitados durante 10 minutos mediante un vortex. Una vez transcurrido este tiempo en la cámara de flujo laminar se procedió a realizar las diluciones de 10^{-2} hasta 10^{-8} con la solución agua destilada y dispersante Silwet® (150 µL/L). Luego por el método de extensión en placa se sembraron 100 µL de cada dilución en las cajas Petri con medio PDA. Las cajas fueron incubadas durante 7 días a 25 °C, posteriormente se dejaron a temperatura ambiente por 3 días más, para favorecer la esporulación de las colonias de *Trichoderma* spp. Finalmente, se seleccionó la dilución adecuada para realizar el conteo de colonias por caja Petri y multiplicar por el factor de dilución, así obtuvo el número de UFC/g (entre 10 y 100 colonias/caja Petri) (Báez et al., 2019).

Resultados

Se analizó la viabilidad de los lotes de los bioformulados gránulos cubiertos, con base en *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma harzianum*, almacenados a temperatura ambiente de cada localidad en la que se aplicó el mismo. La viabilidad del ingrediente activo se

evaluó durante 6 meses para cada lote conservado, evidenciando una reducción en la concentración de colonias (UFC/g) de los microorganismos en la formulación gránulo cubierto. Los lotes de gránulo cubierto a base de *Trichoderma asperellum*, almacenados a 19°C (Provincia de Tungurahua), Tabla 1 y Figura 1, presentaron una viabilidad de 1×10^7 , 5×10^6 y 4×10^6 UFC/g para los tres lotes evaluados. Mientras que, a 30°C (Provincia Los Ríos), Tabla 2 y Figura 2, presentaron una viabilidad de 1×10^7 , 2×10^5 y 5×10^6 UFC/g para los tres lotes evaluados, siendo estas, inferiores al límite de aceptación establecido por el Laboratorio de Control Biológico (1×10^8 UFC/g). Por otro lado, los lotes con base en *Trichoderma harzianum* almacenados a 19°C, Tabla 3 y Figura 3, presentaron una viabilidad de 1×10^8 , 3×10^6 y 2×10^7 UFC/g, respectivamente, evidenciando que solo el segundo lote se mantuvo sobre el límite de aceptación.

Tabla 1

Concentración de colonias (UFC/g) y conidias (esporas/g) en la formulación de gránulo cubierto a base de dos microorganismos - *Trichoderma asperellum* 19°C.

Lote N°	Concentración UFC/g		Concentración esporas/g	
	Inicial	Final	Inicial	Final
2	$2,27 \times 10^8$	$1,35 \times 10^7$	$2,27 \times 10^8$	$6,46 \times 10^7$
3	$3,74 \times 10^8$	$5,30 \times 10^6$	$3,74 \times 10^8$	$2,25 \times 10^6$
4	$2,47 \times 10^8$	$4,50 \times 10^6$	$2,47 \times 10^8$	$5,00 \times 10^6$

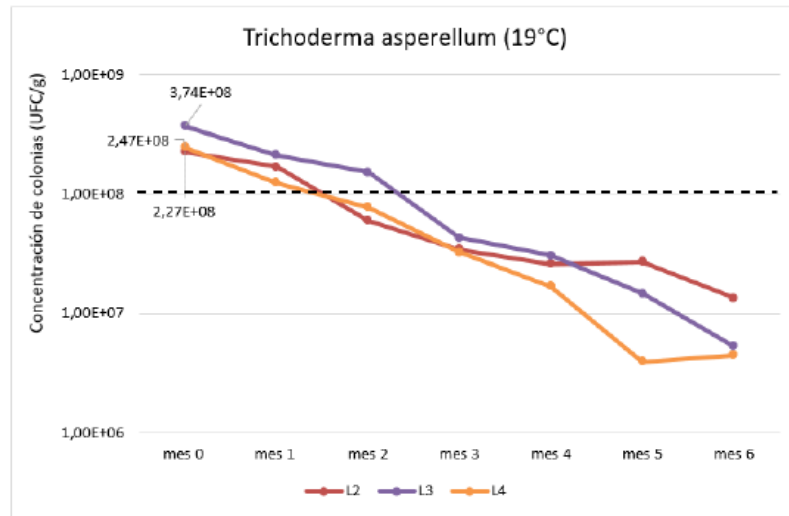


Figura 1. Lotes de *Trichoderma asperellum* almacenados a 19°C durante 6 meses.

Tabla 2

Concentración de colonias (UFC/g) y conidias (esporas/g) en la formulación de gránulo cubierto a base de dos microorganismos - *Trichoderma asperellum* 30°C

Lote N°	Concentración UFC/g		Concentración esporas/g	
	Inicial	Final	Inicial	Final
2	$2,27 \times 10^8$	$1,58 \times 10^7$	$2,27 \times 10^8$	$3,65 \times 10^7$
3	$3,74 \times 10^8$	$2,70 \times 10^5$	$3,74 \times 10^8$	$3,35 \times 10^5$
4	$2,47 \times 10^8$	$5,10 \times 10^6$	$2,47 \times 10^8$	$5,24 \times 10^7$

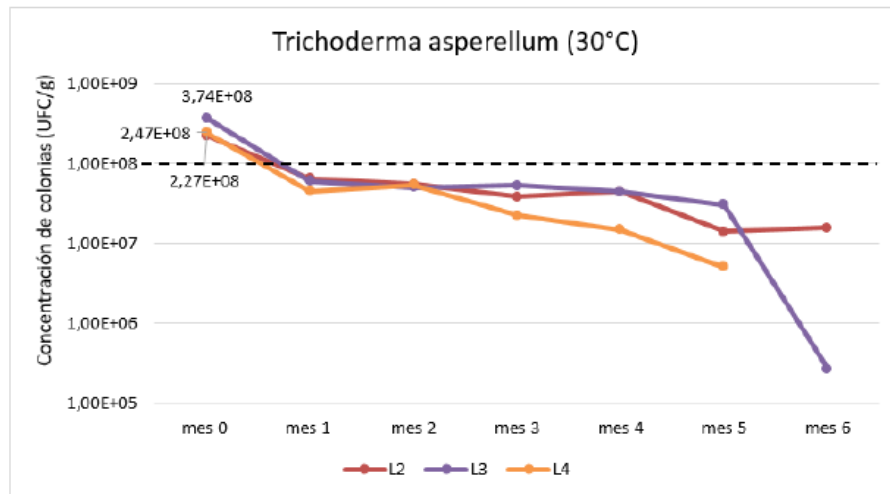


Figura 2. Lotes de *Trichoderma asperellum* almacenados a 30°C durante 6 meses.

Nota: el último lote almacenado a 30°C, se evaluó únicamente hasta el quinto mes, fecha hasta la que se recibió la muestra correspondiente de la Estación Litoral Sur donde fue almacenada.

Tabla 3

Concentración de colonias (UFC/g) y conidias (esporas/g) en la formulación de gránulo cubierto a base de dos microorganismos - *Trichoderma harzianum* 19°C

Lote N°	Concentración UFC/g		Concentración esporas/g	
	Inicial	Final	Inicial	Final
2	$5,40 \times 10^8$	$1,56 \times 10^8$	$4,38 \times 10^8$	$1,25 \times 10^8$
3	$1,00 \times 10^8$	$3,80 \times 10^6$	$2,00 \times 10^8$	$3,00 \times 10^7$
4	$3,20 \times 10^8$	$2,98 \times 10^7$	$2,00 \times 10^8$	$4,88 \times 10^7$

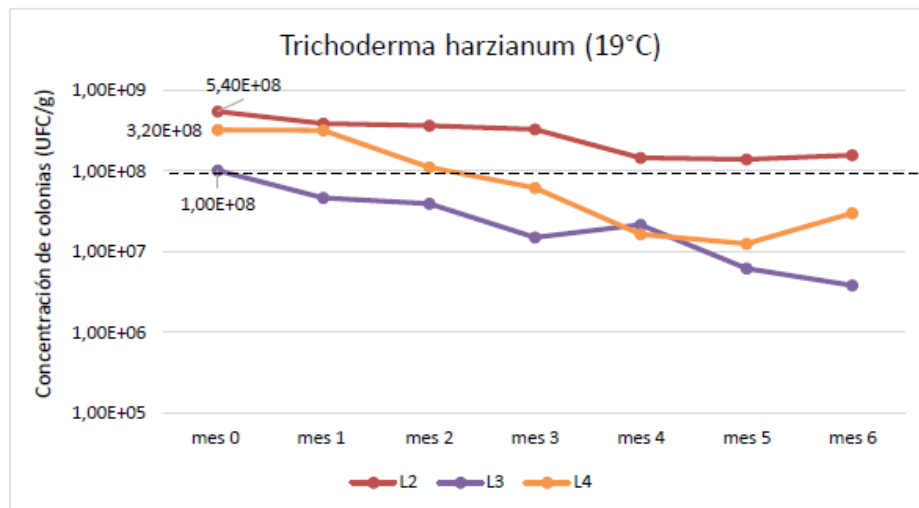


Figura 3. Lotes de *Trichoderma harzianum* almacenados a 19°C durante 6 meses.

Conclusiones

La viabilidad el formulado gránulo cubierto con base en aislamientos de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma harzianum*, no alcanzó los 6 meses de vida en anaquel a temperaturas ambientes de 30°C y 19°C, respectivamente; en promedio los lotes evaluados mantienen la calidad hasta los tres meses de almacenamiento a 19°C; sin embargo, se pudo determinar que a mayor concentración de colonias/viabilidad (UFC), se

prolonga la viabilidad en percha, encontrándose sobre nuestro límite de aceptación a los seis meses de almacenamiento a 19°C, uno de los lotes del bioformulado con *Trichoderma harzianum*, el cual presentó la concentración inicial más alta ($5,40 \times 10^8$). La formulación gránulo cubierto le proporciona al microorganismo un ambiente estable y seguro que lo protege de las condiciones ambientales adversas para establecerse en el suelo, pero hay que considerar que el almacenamiento es clave para conservar un bioformulado y éste pueda ser eficaz en campo.

Recomendaciones

Para incrementar el tiempo de estabilidad y calidad de los bioformulados en almacenamiento se sugiere incrementar la concentración de los mismos en su formulación inicial, además, evaluar la calidad en condiciones de refrigeración.

Referencias

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. 45 p.

Burges, H. (1998). Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic. p. 381.

Chaparro, M., Quiroga, I., Espinel, C., Gómez, M., Villamizar, L. (2012). Capítulo 2: Estabilidad frente a la luz ultravioleta y en almacenamiento de dos formulaciones a base de Granulovirus para el control de *T. solanivora* en campo. pp 21 – 35. En

Villamizar, L. Desarrollo de un bioplaguicida a base de Granulovirus para el control de la polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora*) en campo. Primera edición. Editorial Produmedios. Colombia. 66p.

Pineda, J., Benavides, E., Duarte, A., Burgos, C., Soto, C., Pineda, C., Fierro, F., Mora, E., Álvarez S. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp. Una revisión ICIDCA. Redalyc.org. 51(1): 47-52.

Producto 16. Difusión de un Sistema de Apoyo a la Decisión para el control del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa (*Solanum tuberosum*) en tres provincias del Ecuador.

Responsable: Cristina Tello

Colaboradores: Victoria López, Fausto Yumisaca, David Ortega, Gabriela Narváez, Diego Peñaherrera

Antecedentes

La papa representa el 7 % de la canasta básica familiar nacional del Ecuador. En la sierra ecuatoriana la papa es el segundo cultivo más importante después del maíz. Constituye la base de la alimentación de gran parte de la población ecuatoriana (Chehab & Jácome, 2013).

El Tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa (TTP), es considerada una de las enfermedades que más pérdidas causa al cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Ecuador y a nivel mundial, cuyas pérdidas que varían entre el 30% y 100 % del rendimiento. La presencia constante de inóculo y la susceptibilidad de la mayoría de cultivares comerciales obligan al productor al uso intensivo de fungicidas cuyo costo

representa entre el 8 y el 20% del valor comercial de la producción de papa, (Oyarzun, Taipe, & Forbes, 2001).

Variedades de papa, susceptibles y tardías (Superchola y Capiro), dominan el panorama productivo. La aspersion de fungicidas de contacto y en menor grado sistémicos es la estrategia actual que aplican los productores para controlar el TTP en todas las zonas productoras. El alto costo de producción, el constante riesgo de pérdidas y la falta de conocimiento de los agricultores incrementan su inseguridad por lo cual realizan un control químico intensivo (independientemente de la variedad cultivada) deteriorando su salud, la de su familia y el medio ambiente. El CIP y el INIAP diseñaron varias estrategias de manejo del TTP con el conocimiento generado los últimos años, (Pérez et al., 2015).

Estas estrategias de control del TTP incluyen la rotación de fungicidas y el uso de un Sistema de Apoyo a la Decisión (SAD) desarrollado por el CIP – Perú, el cual a partir del año 2014 ha sido evaluado en experimentos en diferentes ambientes, para adaptarlo a las condiciones de Ecuador; el SAD relaciona tres elementos importantes en el desarrollo de la epidemia: la resistencia genética del cultivar, el factor climático y el intervalo de aplicación de fungicidas; al relacionar estos tres parámetros, este sistema guía al agricultor en la decisión de cuándo aplicar y qué tipo de fungicida (sistémico o de contacto), haciendo un control más eficiente y favoreciendo a la optimización de recursos, (INIAP & CIP, 2014).

En el proceso de adaptación del SAD a las condiciones agroclimáticas del Ecuador y a las variedades locales de papa, se han obtenido resultados importantes en los que se ha

demostrado que la estrategia de rotación de fungicidas más el SAD tiene similar eficacia de control del TTP que la estrategia utilizada por el agricultor, la gran diferencia entre ambos tratamientos fueron los valores más bajos de Impacto Ambiental (IA) obtenidos con el uso de estas herramientas, (Taípe et al., 2015; Inca, 2015; Yépez, 2016; Muisín, 2016).

El criterio SAD establece tres diferentes herramientas, cada herramienta será usada de acuerdo a la variedad sembrada, de esta manera cada herramienta dentro del primer nivel presenta un determinado color, este color puede ser; verde para las variedades con alto nivel de resistencia al TTP (escala de susceptibilidad 0, 1, 2), amarillo para las variedades con nivel de resistencia intermedio (escala de susceptibilidad 3, 4, 5) y rojo para las variedades susceptibles (escala de susceptibilidad 6, 7, 8, 9, 10). Este primer nivel representa el cultivar estudiado o la respectiva variedad sembrada (dentro del triángulo de desarrollo de una enfermedad con el hospedante), lo cual indica la herramienta adecuada para utilizar de acuerdo a la resistencia genética del cultivar (Kromann et al., 2014).

Objetivos

General

Realizar la Difusión de uso del SAD para control del Tizón tardío en papa a organizaciones campesinas de la agricultura familiar de las provincias de Pichincha, Cotopaxi y Chimborazo, beneficiarios del proyecto FONTAGRO.

Específicos

- Implementar parcelas demostrativas del uso del SAD en la variedad Superchola con Organizaciones campesinas.

- Capacitar a las Organizaciones campesinas beneficiarias del proyecto en el manejo del cultivo con las tecnologías generadas por el INIAP y CIP, en temas como el manejo integrado de plagas y buenas prácticas agrícolas.

Metodología

El presente trabajo, utilizó la metodología correspondiente al Protocolo de investigación aprobado por Comité Técnico “Evaluación de fungicidas para el control de tizón tardío (*Phytophthora infestans*)”, como referencia el Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2018-1243MEM, del 22 de noviembre de 2018. Esta actividad que se realizó con el financiamiento del Proyecto FONTAGRO – Tizón tardío de la papa.

La difusión del SAD para control del tizón tardío de la papa se realizó mediante la implementación de parcelas demostrativas durante los ciclos del cultivo 2019, en las provincias de Pichincha, Cotopaxi y Chimborazo con diferentes organizaciones campesinas de la agricultura familiar. La ubicación y características de los sitios donde se instalaron tres parcelas de difusión, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

Descripción de las características geográficas y agroclimáticas donde se implementó la parcela de difusión. Cotopaxi 2019

Provincia	Pichincha	Cotopaxi	Chimborazo
Cantón	Mejía	Latacunga	Riobamba
Parroquia	Machachi	Juan Montalvo	Quimiag
Localidad	Puichig	Pusuchusi	Puculpala
Altitud¹	3150 msnm	2975 msnm	3107 msnm
Topografía	Pendiente 40%	Pendiente 5%	Pendiente 10%
Tipo de suelo	Franco	Franco arenoso	Franco
Temperatura promedio²	10 °C	12 °C	10 °C
Precipitación promedio²	850 mm	500 mm	930 mm

Fuente: ¹ Datos tomados por GPS, 2019; ² Información Datalogger/pluviómetro

Se sembraron tres parcelas grandes (de 1000 m²) utilizando la variedad Superchola, cada una con diferente manejo del TTP (Manejo utilizando el SAD, Manejo de agricultor y testigo absoluto sin control del TTP), se separaron las parcelas grandes con caminos de 2 metros de ancho, en los cuales se sembró cebada, para delimitar y facilitar la aplicación de los diferentes manejos.

Se registró la información en cada parcela y por tipo de manejo del TTP, de 20 plantas al azar etiquetadas, como referencia del comportamiento de la epidemia en cada localidad y la eficacia de la estrategia SAD, la estrategia del agricultor y el testigo a libre infección.

Las variables evaluadas:

Severidad del TTP: Cada 12 días se monitoreó la variedad Superchola (SAD amarillo), se realizaron evaluaciones del porcentaje de área foliar afectada por el TTP, la primera lectura se realizó a partir de los 35 días de la siembra, con las lecturas obtenidas durante el ciclo del cultivo se utilizó la siguiente fórmula para calcular el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (AUDPC), propuesta por (Yuen & Forbes, 2009).

$$AUDPC = [L1 + 2 * (L2 + L3 + \dots + LN - 1) + Ln] * t / 2$$

Dónde:

L1(%) = Primera lectura

Ln(%) = Última lectura

Ln - 1(%) = Penúltima lectura

t = Tiempo entre lecturas

Número de tubérculos por planta: de las 20 plantas tomadas al azar de la parcela, se contó el número total de tubérculos cosechados y se obtuvo el promedio por planta.

Rendimiento total: de la cosecha de las plantas tomadas al azar, se determinó el rendimiento por categorías. El rendimiento se dividió en categorías de papa comercial de primera o gruesa (tubérculos mayores a 100 g), papa comercial de segunda o “semilla” (tubérculos de 70 a 100 g), papa redrojilla o semilla fina (tubérculos de 40 a 70 g) y fina o desecho (tubérculos menores a 40 g, o con deformidades o daño fitosanitario). Se registró el rendimiento de cada categoría el rendimiento total.

Manejo específico de la parcela

Para la implementación del cultivo se seleccionaron lotes comunales en zonas paperas de las provincias Pichincha, Cotopaxi y Chimborazo, de una superficie total de 2500 m². Aproximadamente, 30 días antes de la siembra, al azar se tomaron de 20 submuestras por parcela, efectuando un recorrido en zig-zag. Las muestras se homogenizaron y se obtuvo una muestra de aproximadamente 1 kg de mezcla de suelo, la cual se envió al laboratorio para su respectivo análisis de macro y micro elementos en el Departamento de Suelos de la EESC.

La preparación del terreno se realizó mediante una arada con tractor 30 días antes de la siembra y una rastra para dejar uniforme la superficie del suelo, posteriormente previo a la siembra se surcó a 1,20 m de distancia.

La fertilización edáfica tanto inicial como complementaria se realizó bajo cálculos, tomando en cuenta el resultado del análisis del suelo y las recomendaciones de

fertilización para el cultivo de papa por parte del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas de la Estación Experimental Santa Catalina; además, se realizó fertilización foliar según la etapa fenológica y el comportamiento del cultivo en campo (Montesdeoca et al., 2012).

La siembra se realizó cuando la semilla presentó un estado adecuado de brotación, sin presencia de ataques de plagas ni enfermedades, semilla joven y con varios brotes cortos y fuertes (Montesdeoca et al., 2012). Se incorporó el fertilizante químico de acuerdo al análisis de suelos, se sembró a 0,30 m entre plantas (un tubérculo por sitio) y de 1,20 m entre surcos.

Para el manejo de plagas y enfermedades, se aplicaron las recomendaciones del Manejo Integrado de Plagas: rotación de cultivo, sembrar en un suelo bien trabajado con anticipación, aplicar abonos de origen orgánico bien descompuestos, instalar trampas para gusano blanco, utilizar semilla de buena calidad, evitar el encharcamiento de agua en la parcela, limpieza de malezas, (Montesdeoca et al., 2012), además de usar el control químico cuando sea estrictamente necesario, procurando utilizar productos de menor toxicidad.

Para el manejo de punta morada, se realizaron las recomendaciones descritas en la Guía de Manejo de la Punta Morada de la Papa (Cuesta et al., 2018).

Se cosechó cuando los tubérculos estuvieron maduros, es decir, cuando estos no estuvieron pelosos a la fricción de los dedos (Pumisacho & Velásquez, 2009).

Finalmente, se realizaron capacitaciones en cada localidad a los grupos de agricultores participantes; además, se llevó a cabo un día de campo en la Provincia de Pichincha,

dirigida a los beneficiarios del proyecto, sobre el uso de SAD, manejo integrado de plagas de importancia de la papa y buenas prácticas agrícolas.

Manejo Integrado del tizón tardío de la papa en la variedad Superchola.

El CIP y el INIAP han identificado una estrategia de manejo integrado del tizón tardío, la cual se aplicó en la variedad Superchola para su difusión. La implementación de esta estrategia requiere la aplicación de las siguientes recomendaciones, las mismas que se describen en la parte posterior de las herramientas SAD:

Iniciar el control con un fungicida sistémico: es necesario realizar un control preventivo aplicando un fungicida sistémico (se recomienda dimetomorf) cuando se observe un 80% de emergencia de los tubérculos sembrados.

- **Rotar ingredientes activos:** aplicar cíclicamente varios ingredientes activos, tomando como referencia los fungicidas que se recomiendan en la parte posterior de SAD.
- **Uso de azoxistrobina con doble propósito y en etapas claves del cultivo:** la azoxistrobina es un fungicida efectivo en el control del tizón tardío de la papa, pero muy costoso. Por esta razón, se recomienda usarlo únicamente si se llegara a presentar otro problema fitosanitario como oidio y/o roya y generalmente se necesita una sola aplicación pasada la floración.
- **Utilizar fungicidas de bajo impacto ambiental:** dentro de la rotación de fungicidas, el uso de fosfitos nos permite reducir el impacto ambiental y evita el uso y la exposición de los productores a sustancias peligrosas como el mancozeb, sin afectar el control del tizón tardío y la productividad.

- La aplicación de fungicidas se hará utilizando un sistema de apoyo a la decisión

(SAD): usar el SAD amarillo para la variedad Superchola, por presentar niveles moderados de susceptibilidad al TTP. Esta herramienta SAD relaciona tres factores: el nivel de susceptibilidad de la variedad de papa a cultivar, el factor climático y el intervalo en días desde la última aplicación.

En la primera rueda (amarilla) se encuentra la escala de evaluación de susceptibilidad de las variedades de papa y el número de días que se debe considerar para intervalos de seguimiento en el lote, en Superchola son 12 días.

En la segunda rueda (azul) se encuentra el factor clima. Este se relaciona con la cantidad de lluvia y la neblina durante el período desde la última evaluación.

En la tercera rueda (naranja) se consideran los días transcurridos desde la última aplicación de fungicida que se realizó para el control del TT.

En la cuarta y última rueda (morada) se encuentra la recomendación para la aplicación, esta puede ser: no aplicar, aplicar producto de contacto o aplicar un producto sistémico.

Criterios de evaluación y decisión.

Resultados

Severidad del TTP

En la Tabla 2, se presentan los resultados de AUDPC para cada manejo del TTP, manejo del cultivo con el SAD, manejo del agricultor y el testigo sin aplicaciones. La severidad de TTP de la parcela con el manejo utilizando el SAD, comparten el primer rango de significancia estadística con la parcela manejada por el agricultor; mientras que, la parcela del testigo absoluto ocupa el segundo rango de significancia con el AUDPC más

alto, en las tres provincias, lo que demuestra que las condiciones ambientales fueron adecuadas para el desarrollo de la enfermedad.

Tabla 2

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad TTP en la difusión del SAD, variedad Superchola, en las provincias de Cotopaxi, Pichincha y Chimborazo 2019

Provincia	Cotopaxi	Pichincha	Chimborazo
AUDPC SAD	599 a	163 a	157 a
AUDPC gricultor	728 a	63 a	407 a
AUDPC Testigo	1460 b	2300 b	1250 b

Número de tubérculos por planta

De la parcela de la variedad Superchola (Categoría Registrada), se contabilizó el número de tubérculos cosechados de 20 plantas de cada tipo de manejo de TTP, como se presenta en la Tabla 3, la observación del manejo del cultivo con el SAD obtuvo un promedio de 27,3 tubérculos por planta, mientras que la observación del manejo del agricultor alcanzó 14,05 tubérculos por planta y el testigo obtuvo 7,45 tubérculos por planta en la Provincia de Cotopaxi; en Pichincha SAD 23 tubérculos por planta, manejo del agricultor 26 tubérculos por planta y el testigo 12 tubérculos; mientras que, en Chimborazo el SAD obtuvo en promedio 28 tubérculos por planta, el manejo del agricultor 26 tubérculos y el testigo 10 tubérculos. Los resultados en todas las provincias presentan diferencias significativas entre tratamientos, ubicándose en el primer rango de significancia los tratamientos de manejo del TTP con uso de SAD y el manejo realizado por el agricultor; mientras que, en el segundo rango con la menor cantidad de tubérculos se encuentran las parcelas de testigo absoluto.

Tabla 3

Número de tubérculos por planta de la parcela de difusión de papa variedad Superchola. Cotopaxi, Pichincha y Chimborazo. 2019

Provincia	Número de tubérculos / planta		
	Cotopaxi	Pichincha	Chimborazo
T SAD	27,3 a	23 a	28 a
T Agricultor	14,05 ab	26 a	26 a
Testigo	7,45 b	12 b	10 b

Rendimiento

En la provincia de Cotopaxi, de la parcela de la variedad Superchola (Categoría Registrada), como se presenta en la Tabla 4, el manejo del cultivo con el SAD obtuvo un rendimiento total de 21,33 t.ha⁻¹, de las cuales 7,33 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 7,00 t son de semilla (70 a 100g), 4,5 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,50 t de papa desecho. Estos resultados que se encuentran dentro de las características propias de la variedad cuyo rendimiento fluctúa entre 20 y 30 t.ha⁻¹.

Tabla 4

Rendimiento en t.ha⁻¹ de la parcela de difusión de papa variedad Superchola. Cotopaxi, 2019

Tratamiento	Gruesa (>100g)	Semilla (70 a 100g)	Semilla fina (40 a 70g)	Desecho (<40g)	Rendimiento
T SAD	7,33	7,00	4,50	2,50	21,33
T Agricultor	4,00	1,50	1,75	2,00	9,25
Testigo	1,00	0,13	0,75	0,75	2,63

Para la observación del manejo del agricultor se alcanzó 9,25 t.ha⁻¹, de las cuales 4,00 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 1,50 t son de semilla (70 a 100g), 1,75 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,00 t de papa desecho. Mientras que, para el

testigo se alcanzó 2,63 t.ha⁻¹, de las cuales 1,00 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 0,13 t son de semilla (70 a 100g), 0,75 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,63 t de papa desecho.

En la provincia de Pichincha, de la parcela de la variedad Superchola (Categoría Registrada), como se presenta en la Tabla 5, de la observación del manejo del cultivo con el SAD obtuvo un rendimiento total de 13,7 t.ha⁻¹, de las cuales 5,40 t son de semilla (70 a 100g); 7,8 t de semilla fina (40 a 70g) y 0,50 t de papa desecho.

Tabla 5

Rendimiento en t.ha⁻¹ de la parcela de difusión de papa variedad Superchola. Pichincha, 2019

Tratamiento	Gruesa (>100g)	Semilla (70 a 100g)	Semilla fina (40 a 70g)	Desecho (<40g)	Rendimiento
T SAD	0	5,4	7,8	0,5	13,7
T Agricultor	0	4,1	11,1	8,5	23,7
Testigo	0	1,1	3,2	3,7	8,0

Para el manejo del agricultor se alcanzó 23,7 t.ha⁻¹, de las cuales 4,1 t corresponden a semilla (70 a 100g); 11,1 t de semilla fina (40 a 70g) y 8,5 t de papa desecho. Mientras que, para el testigo se alcanzó 8,0 t.ha⁻¹, de las cuales 1,1 t son de semilla (70 a 100g), 3,2 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 3,7 t de papa desecho.

En la provincia de Chimborazo, como se presenta en la Tabla 6, el manejo del cultivo con el SAD obtuvo un rendimiento total de 21,33 t.ha⁻¹, de las cuales 7,33 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 7,00 t son de semilla (70 a 100g), 4,5 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,50 t de papa desecho.

Tabla 6

Rendimiento en t.ha⁻¹ de la parcela de difusión de papa variedad Superchola. Chimborazo, 2019

Tratamiento	Gruesa (>100g)	Semilla (70 a 100g)	Semilla fina (40 a 70g)	Desecho (<40g)	Rendimiento
T SAD	10,9	7,5	9,3	5,3	33
T Agricultor	5,3	2,8	4,5	3,4	16
Testigo	0	0,7	0,5	1,9	3,1

Para el manejo del agricultor se alcanzó 9,25 t.ha⁻¹, de las cuales 4,00 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 1,50 t son de semilla (70 a 100g), 1,75 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,00 t de papa desecho. Mientras que, para el testigo se alcanzó 2,63 t.ha⁻¹, de las cuales 1,00 t corresponden a papa gruesa comercial (>100g), 0,13 t son de semilla (70 a 100g), 0,75 t se obtuvo de semilla fina (40 a 70g) y 2,63 t de papa desecho.

En la Tabla 7, se presentan los promedios de rendimiento total de cada uno de los manejos de TTP, observándose que, en las provincias de Cotopaxi y Chimborazo, el manejo con el SAD obtuvo un mayor rendimiento que las parcelas con el manejo de TTP del agricultor y en la provincia de Pichincha fue superior el manejo del agricultor, sin embargo, en este manejo fue muy elevado el rendimiento de papa desecho.

Tabla 7

Rendimiento total en t.ha⁻¹ de las parcelas de difusión de papa variedad Superchola. Cotopaxi, Pichincha y Chimborazo, 2019

Provincia	Rendimiento total t.ha ⁻¹		
	Cotopaxi	Pichincha	Chimborazo
T SAD	21,33 a	13,7 ab	33,0 a
T Agricultor	9,25 b	23,7 a	16,0 b
Testigo	2,63 b	8,0 b	3,1 c
Promedio	9,5	7,9	15,0

Conclusiones

En las parcelas de difusión del SAD para control del TTP, los resultados de severidad la enfermedad y rendimientos obtenidos en las diferentes provincias, fueron muy similares entre tratamiento de uso del SAD y manejo del agricultor, pero la ventaja de usar el SAD, es que se disminuye el número de aplicaciones y se recomiendan fungicidas menos tóxicos, lo que se confirmará con los resultados de análisis económico y de impacto ambiental.

Recomendaciones

Continuar con la difusión del uso del SAD en otras localidades y utilizando diferentes variedades de papa, implementando un manejo integrado de plagas.

Continuar con el incentivo a la producción de semilla de papa de categorías iniciales para fortalecer a las asociaciones a nivel socioeconómico y asociativo.

Seguir transfiriendo tecnologías sostenibles a los agricultores para la producción de papa de excelente calidad.

Realizar el análisis de costos de producción y de impacto ambiental para cada tratamiento.

Referencias

Chehab, C. & Jácome, M. (2013). El cultivo de papa en Ecuador. Planes de mejora. Conferencia Magistral. V Congreso Ecuatoriano de la Papa. IV Congreso Iberoamericano sobre Investigación y Desarrollo en Papa. III Feria Expopapa.

Cuesta, X., Peñaherrera, D., Velásquez, J., Castillo, C. (2018). Guía de manejo de la punta morada de la papa. INIAP, Manual técnico No. 104. Primera edición. Mejía – Ecuador. 15 p.

Inca, A. (2015). Validación de la herramienta circular de toma de decisiones para el control del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) (Mont.) De Bary de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Tunshi, provincia de Chimborazo. Tesis de grado previa a la obtención de título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Ingeniería Agronómica. Riobamba, Ecuador. 136 p.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador y Centro Internacional de la Papa. (2014) Ayuda memoria “Taller de Estrategias sobre Manejo del Tizón Tardío de la Papa”. Estación Santa Catalina. Quito, Ecuador.

Kromann, P., Taipe, A., Pérez, W., Gamboa, S., Forbes, G. & Andrade, J. (2014). Combatiendo el Tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Quito, Ecuador: CIP.

Montesdeoca, F., Panchi, N., Pallo, E., Yumisaca, F., Taipe, A., Mera, X., Espinoza, S., Andrade, J. (2012). Produzcamos nuestra semilla de papa de buena calidad. Guía para agricultoras y agricultores. Centro Internacional de la Papa (CIP). 82 p.

Muisín, B. (2016). Evaluación de nueve fungicidas para el control del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en papa. Tesis de grado previa a la obtención de título de Ingeniera Agrónoma. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Escuela de Ingeniería Agronómica. Quito, Ecuador. 64 p.

Oyarzun, P., Taipe, J. & Forbes, G. (2001). *Phytophthora infestans*, su actividad y particularidades en el Ecuador. 12p.

Pérez, W., Arias, R., Anticona, R., Orrego, R., Ortiz, O., Forbes, G. y Andrade, J. (2015). Decision Support System prototypes for control late blight designed for use of Andean Farmers. Manuscrito, 21p.

Pumisacho, M., Velásquez, J. (2009). Manual del cultivo de papa para pequeños productores. Manual técnico 78: 100 p.

Taipe, A., Kromann, P., Andrade-Piedra, J., Pérez, W., Tello, C., Panchi, N. y Cuesta, X. (2015). Desarrollo de Estrategias de Manejo del Tizón Tardío de la Papa en Ecuador. Memorias VI Congreso Ecuatoriano de la Papa, del 08 al 11 de Julio de 2015. Ibarra – Ecuador. pp 83 – 85.

Yépez, L. (2016). Validación de estrategias de manejo del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en tres variedades de papa. Tesis de grado previa a la obtención de título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Escuela de Ingeniería Agronómica. Quito, Ecuador. 93 p.

Yuen, J., & Forbes, G. (2009). Estimating the Level of Susceptibility to *Phytophthora infestans* in potato genotypes. *Phytopathology*. Recuperado el 24 de enero de 2019, de: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PHTO-99-6-0782>.

ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN NO CONTEMPLADAS EN EL POA 2019

Producto 17. Identificación molecular de bacterias asociadas al floema causantes de punta morada, marchitez letal y escoba de brujas en solanáceas.

Responsable técnico: Ing. Pablo Javier Llumiquinga Hormaza

Colaboradores: Dr. José Ochoa, Ing. Johana Buitrón, Dr. Eduardo Morillo, Dra. Paulina Cabezas, Dra. María Luisa Insuasti

1. Antecedentes

Los cultivos pertenecientes al grupo de las solanáceas están afectados a menudo por un sinnúmero de agentes patógenos como son virus, bacterias, hongos y nematodos. En los últimos años, los agricultores ecuatorianos han obtenido una baja producción de sus cultivos debido a la presencia de bacterias asociadas al floema de la planta como son fitoplasmas y *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Los fitoplasmas son organismos pertenecientes a la clase Mollicutes que están asociados al floema de las plantas y son transmitidos por insectos vectores del orden Hemiptera (Weintraub & Beanland, 2006). Estas bacterias se caracterizan porque carecen de pared celular y poseen un genoma entre 700 a 1600 kb (Camarena Gutiérrez & De La Torre Almaraz, 2008).

Candidatus Liberibacter solanacearum es una bacteria Gram negativa perteneciente al grupo de organismos asociados al floema de varios grupos de plantas y que son

transmitidos por medio de psíllidos principalmente *Bactericera cockerelli* (Bujanos & Ramos, 2015) . Esta bacteria produce considerables pérdidas en varios cultivos de interés económico principalmente solanáceas y algunas apiáceas (EPPO, 2013).

En el país, se han realizado varios análisis en papa en búsqueda del agente causal de punta morada (*C. Phytoplasma* y *C. Liberibacter solanacearum*), en los cuales se detectaron *C. Phytoplasma aurantifolia* (Caicedo et al., 2015) y *C. Phytoplasma* grupo 16SrI (Castillo et al. 2018) sin detectar la presencia de *C. L. solanacearum*. Sin embargo, en análisis realizados en 2015 en cuatro laboratorios internacionales de muestras sintomáticas de papa de la provincia del Carchi, sólo en México se encontró la presencia de *C. L. solanacearum* (Báez, 2016; Castillo et al. 2017).

En 2019, en ensayos de investigación de técnicos de la Estación Experimental Santa Catalina se visualizaron síntomas de esta enfermedad en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y *S. hirtum* por lo que se realizaron análisis para microorganismos asociados al floema de estas plantas mediante métodos moleculares.

Objetivos

General

- Identificar molecularmente *C. Phytoplasma* y *C. Liberibacter solanacearum* asociados a cultivos solanáceos.

Específicos

- Determinar mediante PCR convencional la presencia de *C. Phytoplasma* y *C. Liberibacter solanacearum* en cultivos solanáceos.
- Comparar mediante secuenciación los productos de amplificación obtenidos de estas bacterias.

Materiales y Métodos

Se analizaron 17 muestras de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 12 muestras de papa (*S. tuberosum*), 3 de *S. hirtum* y 2 ají habanero (*Capsicum chinense*) provenientes de las provincias de Pichincha, Tungurahua e Imbabura que presentaron síntomas de la enfermedad, las cuales se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8

Muestras colectadas con posibles síntomas de C. Liberibacter solanacearum y C. Phytoplasma en varias localidades del país

Cultivo	Número y códigos de Muestras	Localidad	Síntomas
Tomate de árbol	7 (T1-T3, T6-T9)	Tumbaco - Pichincha	Enanismo, clorosis morada, escoba de brujas.
Tomate de árbol	2 (T4-T5)	Cotacachi - Imbabura	Enanismo, clorosis morada, escoba de brujas.
Tomate de árbol	6 (T10-T15)	Pelileo - Tungurahua	Clorosis morada, escoba de brujas.
Tomate de árbol	2 (T16-T17)	Baños - Tungurahua	Clorosis morada, escoba de brujas.
Papa	8 (P1-P4; P9-P12)	Machachi - Pichincha	Tubérculos aéreos, enrollamiento de hojas.
Papa <i>in vitro</i>	2 (P5-P6)	Machachi - Pichincha	Sin síntomas (diagnóstico).
Papa	2 (P7-P8)	Pintag - Pichincha	Zebra Chip, tubérculos aéreos, enrollamiento de hojas.
<i>S. hirtum</i>	3 (N1-N3)	Tumbaco - Pichincha	Enanismo, clorosis, escoba de brujas
Ají	2(A1-A2)	Pifo - Pichincha	Enanismo generalizado, clorosis

De cada una de las muestras colectadas, se extrajo el ADN total de las nervaduras de las hojas y de los peciolo de cada planta mediante la metodología de Doyle y Doyle (1990) de acuerdo a protocolo CTAB. Luego se amplificó el ADN mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con los cebadores OA2/OI2c (Liefiting et al., 2008, Liefiting et al., 2009) que amplifica la región 16S del RNA ribosomal de *C. L. solanacearum*. Las muestras con amplificación positiva se secuenciaron mediante metodología Sanger y los resultados obtenidos se analizaron mediante el programa informático BLAST (Altschul et al., 1990).

Resultados

En campo se observó los daños provocados por *C. L. solanacearum* los cuales se observan en la Figura 2, que fueron un acortamiento y ensanchamiento de los entrenudos, una clorosis generalizada, coloración morada de los bordes y las nervaduras de las hojas así como enrollamiento de las hojas en todos los cultivos analizados. Además se observó tubérculos aéreos y una muerte vascular de los tubérculos de papa denominado “zebra chip”.



Figura 2. Síntomas de la enfermedad en A) tomate de árbol B) Papa C) Ají D) *S. hirtum*

Mediante amplificación con los cebadores anteriormente mencionados, se detectó que las muestras analizadas presentaron *C. Liberibacter solanacearum*. En un primer diagnóstico amplificaron tres muestras de tomate de árbol y una muestra de *S. hirtum* con los marcadores anteriormente mencionados con aproximadamente 1200 pb (OA2/OI2c) como se muestra en la Fig. 3. Además, se analizaron seis muestras de papa provenientes de campo y plántulas in vitro sin visualizarse alguna amplificación.



Figura 3. Amplificaciones del gen 16S de *C. L. solanacearum* mediante marcadores OA2/OI2c.

P1-P3: Papa P5-P6: Papa in vitro T1-T3: Tomate de árbol N: Naranjilla.

En análisis posteriores de dos muestras de papa, seis de tomate de árbol, dos de ají y una de *S. hirtum* se observaron amplificaciones de aproximadamente 1200 pb con primers OA2/Oi2C.

En la tabla 2, se expone las muestras que tuvieron amplificaciones positivas para *C. Liberibacter solanacearum* con los primers especie específico OA2/Oi2C en varios cultivos de importancia. En tomate de árbol se detectaron cinco de 17 muestras las cuales pertenecen a Tumbaco y Cotacachi. En papa se encontró dos de 12 muestras de papa que amplificaron para este microorganismo provenientes de Pintag, en cambio en ají

habanero se encontró *C. Liberibacter solanacearum* en todas las muestras tomadas desde campo de Pifo.

Luego, se secuenciaron dos muestras de tomate de árbol (T1 y T4) y una de *S. hirtum* (N1) en dirección forward y reverse y mediante análisis BLAST se determinó con un porcentaje de identidad entre 99.37% y 99.62% y una cobertura entre 99%-100% que las muestras fueron afectadas por *C. Liberibacter solanacearum*. En la tabla 2, se observa los resultados obtenidos en la identificación de este microorganismo.

Tabla 2

Amplificaciones de varias muestras de cultivos solanáceos e identidad de muestras tomadas en el presente estudio

Cultivo	Parte Muestreada	Código laboratorio	Ubicación	Tamaño de banda	% Identidad <i>C. Liberibacter solanacearum</i>
Tomate de árbol	Hoja	T1	Tumbaco		99.62
Tomate de árbol	Hoja	T2	Tumbaco		
Tomate de árbol	Hoja	T3	Tumbaco		
Tomate de árbol	Hoja	T4	Cotacachi		99.52
Tomate de árbol	Hoja	T5	Cotacachi		
<i>S. hirtum</i>	Hoja	N1	Tumbaco	En todos los casos ~1200 pb	99.37
Papa	Peciolo	P5	Pintag		
Papa	Peciolo	P7	Pintag		
Ají habanero	Peciolo	AJ1	Pifo		
Ají habanero	Peciolo	AJ2	Pifo		

Conclusiones

Se determinó la presencia de *C. Liberibacter solanacearum* mediante métodos moleculares de amplificación con cebadores especie específico OA2/OI2C, en cuatro especies solanáceas (tomate de árbol, *S. hirtum*, papa y ají).

Se estableció por medio de secuenciación de la región 16S (>99% identidad) que dos muestras de tomate de árbol (T1 y T4) y *S. hirtum* (N1) pertenecen a *C. Liberibacter solanacearum*.

Recomendaciones

- Realizar futuros muestreos y detección en otras especies solanáceas y apiáceas que son hospederos de este microorganismo, así como presencia en vectores de esta bacteria.
- Determinar transmisibilidad de la enfermedad por vectores e injertos.

Bibliografía

Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410. PubMed

Báez, F. (2016). Reporte de avances de punta morada. Informe de actividades DNPV. Machachi-Ecuador.

Bujanos, R., & Ramos, C. (2015). El psílido de la papa y tomate *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia del manejo integrado de plagas en la región del OIRSA. San Salvador: OIRSA.

Caicedo, J., Crizon, M., Pozo, A., Cevallos, A., Simbana, 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; doi: 10.5197/j.20440588. 2015.032.020.

Castillo, C., Paltrinieri, S., Bustamante, J., Bertaccini, A. (2018). Detection and molecular characterization of a 16SrI-F phytoplasma in potato showing purple top disease in Ecuador. *Australasian Plant Pathology* 47(3): 311-315; doi:10.1007/s13313-018-0557-9

Castillo, C., Buitrón, J.L., Insuasti, M.L., Castillo, N., Rivadeneira Ruales, J.E., y Cuesta Subía, H.X. (junio, 2017). Avances en el diagnóstico del agente causal del problema de punta morada en papa en Ecuador. En P. Kromann, X. Cuesta, B.R. Montero, P. Cuasapaz, A. León-Reyes y A. Chulde (Eds.), VII Congreso Ecuatoriano de la Papa: Memorias (pp. 189-191). Tulcán, Ecuador: CIP/INIAP.

Doyle JJ, Doyle JL, 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12, 13-15.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) (2013).

Candidatus Liberibacter solanacearum?. EPPO bulletin 43 (2), 197-201.

Liefting, L. W; Sutherland, P.W; Ward, L.I; Paice, K.L; Weir, B.S; Clover, G.R.G.

2009. A new `Candidatus Liberibacter` species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease*. 93: 208-214.

Liefting, L.W; Perez-Egusquiza, Z.C; Clover, G.R.G; Anderson, D.A.D. 2008. A

New `Candidatus Liberibacter` species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease*. 92:1474.

Weintraub, P. G., & Beanland, L. (2006). Insect vectors of Phytoplasmas. *Annual*

Review of Entomology, 51(1), 91–111. Recuperado desde:

<http://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151039>

Producto 18. Evaluación de calidad y estabilidad de dos bioformulados gránulo cubierto con base en cepas de *Trichoderma* spp. en dos condiciones de almacenamiento.

Responsable: Cristina Tello

Colaboradores: Cynthia Perdomo

Antecedentes

En base a los resultados del estudio que antecede, se realizó la presente investigación, en la que se evaluaron dos formulaciones gránulo cubierto, utilizando dos cepas de *Trichoderma* spp. pertenecientes a una empresa productora de bioinsumos con la cual se iniciará la fase de escalamiento de la tecnología de formulación generada por el Departamento de Protección Vegetal del INIAP; para lo cual, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, firma una Carta Compromiso con una empresa privada, el pasado 25 de marzo de 2019, con el fin de aplicar las tecnologías generadas por el INIAP y generar bioinsumos de calidad e innovadores, que puedan ser aplicados para mejorar la productividad de los cultivos, contribuyendo al uso de tecnologías limpias, mediante el desarrollo de prototipos de bioformulaciones estables y eficientes, con lo que se espera mejorar la productividad de los cultivos y promover la disminución de aplicaciones de agroquímicos.

Objetivo

Evaluar mensualmente la estabilidad y calidad de dos bioformulados con base en dos cepas de *Trichoderma* spp., en condiciones de almacenamiento al ambiente y en refrigeración, por el lapso de seis meses.

Metodología

El presente estudio utilizó la metodología correspondiente al Protocolo de investigación aprobado por Comité Técnico “Control de Calidad de formulaciones experimentales y productos biológicos comerciales con base en los hongos *Trichoderma* sp., *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., *Isaria* sp. y *Purpureocillium* sp.”, como referencia el Memorando Nro. INIAP-EESC_PV-2017-0039MEM, del 20 de abril de 2017. Actividad que se realizó en el marco de un convenio con una empresa privada y con el financiamiento del Proyecto AgResearch – Nueva Zelanda.

El análisis de la calidad y estabilidad de los bioformulados, almacenados en dos ambientes, se realizó en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP.

El manejo específico del experimento, corresponde a la metodología descrita en el estudio que antecede, a lo que se adicionó la evaluación de pruebas físico-químicas, descritas en Baez et al., 2019.

Resultados

Los resultados obtenidos en las evaluaciones realizadas a los bioformulados con base en *Trichoderma* spp., se detallan en las Tablas 1 y 2, así como en las Figuras 1 y 2.

Tabla 1

Características microbiológicas y físicoquímicas de bioformulado gránulo cubierto con base en una cepas de Trichoderma spp. (T7), almacenados a 4°C y 18°C (6to. mes de almacenamiento)

Características	Cepa T 7					
	Almacenamiento 4°C			Almacenamiento 18°C		
	Inicial	Mes 3	Mes 6	Inicial	Mes 3	Mes 6
Viabilidad (UFC/g)	7,68x10 ⁸	5,15x10 ⁸	3,03x10 ⁸	7,68x10 ⁸	2,97x10 ⁸	1,73x10 ⁸
Concentración (conidios/g)	6,95x10 ⁸	7,63x10 ⁸	3,49x10 ⁸	6,95x10 ⁸	6,23x10 ⁸	3,22x10 ⁸
Pureza (%)	99,99	99,97	100	99,99	99,97	99,99
Humedad (%)	6,43	5,58	5,76	6,43	5,75	5,49
Actividad de agua	0,55	0,44	0,49	0,55	0,52	0,58

Tabla 2

Características microbiológicas y físicoquímicas de bioformulado gránulo cubierto con base en una cepas de Trichoderma spp. (T-Calam), almacenados a 4°C y 18°C (6to. mes de almacenamiento)

Características	Cepa T CALAM					
	Almacenamiento 4°C			Almacenamiento 18°C		
	Inicial	Mes 3	Mes 6	Inicial	Mes 3	Mes 6
Viabilidad (UFC/g)	1,44x10 ⁹	5,33x10 ⁸	3,15x10 ⁸	1,44x10 ⁹	4,80x10 ⁸	1,90x10 ⁸
Concentración (conidios/g)	4,88x10 ⁹	4,46x10 ⁹	3,96x10 ⁹	4,88x10 ⁹	5,50x10 ⁹	3,96x10 ⁹
Pureza (%)	99,99	99,99	100	99,99	99,99	100
Humedad (%)	6,46	5,37	5,09	6,46	5,78	5,89
Actividad de agua	0,57	0,49	0,43	0,57	0,57	0,59

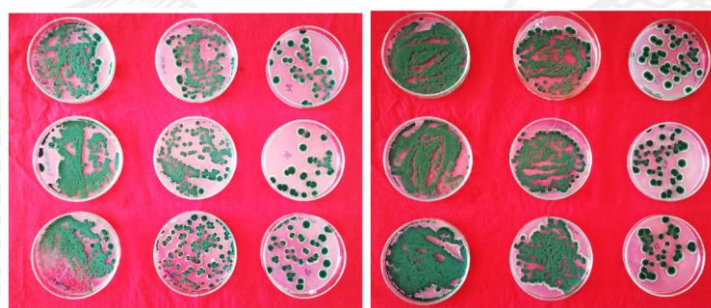


Figura 1. Viabilidad de formulado gránulo cubierto con base en Trichoderma cepa T-Calam., al sexto mes de almacenamiento a 18°C (izquierda) y 4°C (derecha). Diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷.

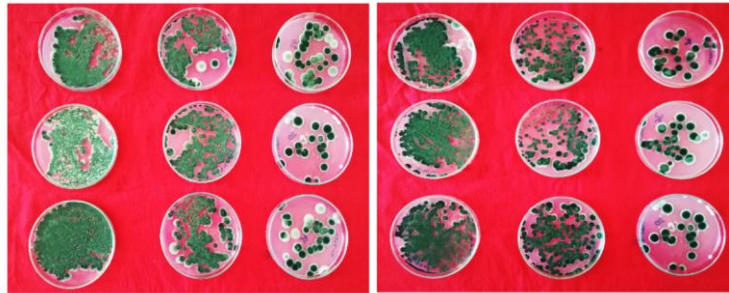


Figura 2. Viabilidad de formulado gránulo cubierto con base en *Trichoderma* spp. cepa T 7., al sexto mes de almacenamiento a 4°C (izquierda) y 18°C (derecha). Diluciones 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} .

La viabilidad al sexto mes de almacenamiento de los bioformulados con base en *Trichoderma* spp., presentaron valores dentro del rango de $1,73 \times 10^8$ a $3,15 \times 10^8$ UFC/g para las dos temperaturas de almacenamiento, como se muestra en la Tablas 1 y 2, Figuras 1 y 2; manteniéndose la estabilidad de los microorganismos dentro de los límites de aceptación establecidos por el Laboratorio de Control Biológico del INIAP-EESC (vida útil en percha).

Conclusiones

- El bioformulado de CG con base a cepas de *Trichoderma* spp. se han evaluado hasta el sexto mes de almacenamiento, manteniéndose estables para las dos cepas, T7 y T-Calam, de acuerdo con los parámetros establecidos por el Laboratorio de Control Biológico, INIAP-EESC.
- Los bioformulados evaluados presentaron una concentración inicial alta, lo que favoreció a mantener los estándares de calidad, tanto para características microbiológicas como parámetros físico químicos, durante los seis meses de almacenamiento en ambas condiciones de temperatura.

Recomendaciones

Al conseguir bioformulados de calidad y estabilidad luego de seis meses de almacenamiento, se recomienda realizar el escalamiento de la tecnología a empresas productoras de bioinsumos interesadas, que permita mejorar la producción de bioinsumos de buena calidad en el país.

Referencias

Báez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Trevor, J., Jaronski, S., y Viera, W. (2019). Manual para el análisis de calidad de formulaciones de hongos benéficos. Manual N° 112. INIAP - Estación Experimental Santa Catalina. Mejía – Ecuador. 45 p.

Producto 19. Identificación de los agentes causales de punta morada de papa.

Responsable: Carmen Castillo C. Ph.D.

Colaboradores: Assunta Bertaccini (U. de Boloña), Viviana Rivera Varas y Gary Secor (U. de Dakota del Sur).

Antecedentes: En el 2013 aparecieron plantas con síntomas de punta morada en la provincia del Carchi afectando el cultivo de la papa. Desde ahí, la producción ha ido decreciendo en las zonas paperas donde se ha reportado la enfermedad. En la actualidad punta morada está reportada en todas las provincias de la sierra, excepto en Loja. En el 2015 se inició el diagnóstico de los patógenos involucrados mediante análisis moleculares. Amplificaciones con primers utilizados en detección de fitoplasmas no dieron resultados claros. En el 2015, aparece el primer reporte sobre la presencia del fitoplasma *Candidatus Phytoplasma aurantifolia*, perteneciente al 16SrII en Ecuador (Caicedo et al. 2015). Se realizan pruebas para la detección de otros patógenos y se reporta la presencia de tres diferentes virus (PRLV, PVY, PVX) y otros patógenos como *Fusarium sp.*, *Cylindrocarpon sp.*, *Pectobacterium sp.*, *Pseudomonas viridiflava*, en las mismas plantas que presentaron síntomas de punta morada (Castillo et al. 2017). Al

finalizar el 2017, se observa por primera vez en América del Sur, la presencia del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* en Ecuador (Castillo et al. 2019). En lotes afectados con el problema de punta morada en la sierra ecuatoriana se encuentra una alta población del psílido de la papa *B. cockerelli*, que se presume está estrechamente relacionado con los síntomas de punta morada o con la transmisión de estos patógenos. El psílido de la papa se encuentra reportado en todas las provincias de la sierra, excepto en Cañar, Azuay y Loja. Más tarde, en el 2018 se determina la presencia de otro fitoplasma perteneciente al grupo 16SrI-F en ADN de plantas de papa con síntomas (Castillo et al. 2018).

Objetivos: Identificar los patógenos involucrados en la sintomatología de punta morada de papa. Determinar protocolos adecuados para la detección.

Metodología: Protocolos utilizados para la detección de fitoplasmas.

Resultados: A raíz del primer despunte de la enfermedad en Carchi, en el 2014, el INIAP inicia con muestreos, capacitación/difusión y análisis en laboratorios convencionales y moleculares (INIAP 2014). En el 2015, descarta a *Rhizoctonia solani* como agente causal de punta morada, determina la presencia de PFRV (serología), y de fitoplasmas en general (con injertos y PCRs) (Rivadeneira et al., 2015; Castillo et al. 2017). En el mismo año, Caicedo et al. reporta por primera vez la presencia del fitoplasma *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* en plantas con síntomas de punta morada en Ecuador. Muestras analizadas en el exterior en este año mostraron los siguientes resultados. El USDA-WA negativo para CaLso (con los primers OA2-OI2c) y negativo para fitoplasmas (con los primers P1/P7 – FU5/rU3). En México positivo para CaLso (LpFrag2 (1138R)/LpFrag2(266F)) y negativo para fitoplasma (R16R2/R16F2n). Nueva Zelanda

obtuvo negativo para fitoplasmas y para CaLso. El CIP de Perú obtuvo negativo para fitoplasmas (P1/P7 – R16R2/R16F2n, P1Att/P625r) (INIAP 2016). El INIAP con los primers (P1/P7, R16F2/R16R2, 16end/Tint, R16mF2/R16mR1) obtiene resultados parciales para fitoplasma (Rivadeneira et al. 2015).

En el 2016 se realizan nuevos análisis convencionales de las mismas plantas de las que se extrajo DNA para los análisis moleculares. Por serología se detectó la presencia de otros dos virus (PVY, PVX) y por cultivo in vitro se detectó *Fusarium* sp. *Cylindrocarpon* sp., *Pseudomonas viridiflava*, y parásitos como *Globodera* sp. en muestras de suelo de lotes afectados con punta morada (Castillo et al. 2017). Más tarde, la presencia de *Pseudomonas viridiflava* fue corroborada con análisis moleculares de la siguiente generación. Los análisis moleculares se realizaron con los mismos utilizados en el año anterior (mencionados anteriormente) y se añadieron otros (R16mF2n/R16mR2, P3/P7, FU5/RU3, P1/16S-SR, P1A/16S-SR), obteniendo bandas múltiples, que daban indicios de la presencia de fitoplasmas. Además, se utilizaron primers para la detección de CaLso (OA1/O12c) solo obteniendo positivos únicamente en los testigos.

Entre el 2017 y 2018, Agrocalidad utiliza el protocolo de FAO y obtiene positivos y negativos para fitoplasmas de plantas con síntomas de punta morada. INIAP con la colaboración de la Universidad de Boloña, determina la presencia de un fitoplasma del grupo 16SrI-F con la utilización de los primers P1/P7 – R16(I)F1/R1 y con RFLPs, además confirma que no hay CaLso (con los primers TX16/23 F/R) en los ADN de plantas con síntomas (Castillo et al. 2018).

En el 2019, se reporta que a finales del 2017 se observa por primera vez la presencia de *B. cockerelli* (haplotipo central) en Ecuador (Castillo et al. 2019). Se continúa con el diagnóstico y los laboratorios de la Universidad de North Dakota obtienen negativos para fitoplasmas (P1/P7 – F2n/R2) y negativos para CaLso (CliPoF/OI2c). Los laboratorios del USDA-WA reportan negativo para fitoplasma (R16(1)F1/R1) y negativo para CaLso (OA2/OI2c, C1514F/R).

Caicedo y sus colaboradores obtienen positivos para CaLso con los primers LsoF/OI2c en papa, tomate, zanahoria y *B. cockerelli* (in press). Paralelamente, INIAP también obtiene positivos para CaLso (CliPo/OI2c, Oa2/OI2c) en papa (INIAP 2019).

Muestras analizadas por PepsiCo México, obtuvieron positivo para CaLso (Clip.poF/OI2c) y negativo para fitoplasmas (P1/P7 – R16R2/R16F2).

Muestras de *B. cockerelli* están siendo analizadas en la U. de Boloña y los resultados recibidos el 28 de noviembre, indican la presencia de CaLso y de otros tres nuevos grupos de fitoplasmas no reportados en papa en Ecuador.

Conclusiones: Hasta el momento se ha reportado la presencia de dos grupos de fitoplasmas y de CaLso en plantas de papa con síntomas de punta morada. Este tipo de patógenos son los que están causando la epidemiología devastadora en el campo. Los otros patógenos como virus y hongos, que también están presentes, no causan este tipo de comportamiento en campo y no presentan este tipo de difusión de la enfermedad. Sin embargo, se desconoce la interacción de todos estos patógenos en la sintomatología. La presencia de *B. cockerelli* como plaga directa y como vector de patógenos agrava la situación.

Las réplicas de los diferentes protocolos para determinar la presencia de fitoplasmas no han sido consistentes. En laboratorios moleculares de varios países que han colaborado en la identificación, se han obtenido resultados que varían en el diagnóstico, como se presenta a continuación. Razón por la cual se sigue en el proceso de determinar qué patógenos están involucrados en esta enfermedad emergente. Recientemente, se detectó la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) en muestras de plantas con síntomas de punta morada (Caicedo et al. In press; INIAP 2019). La detección molecular de CaLso es más directa y no da falsos negativos como en el caso de la detección de fitoplasmas.

Recomendaciones: El laboratorio de la U. de Boloña, liderado por la Dra. Assunta Bertaccini, es el que está obteniendo los resultados positivos para la detección de fitoplasma. Se recomienda que personal del INIAP y de Agrocalidad (que tengan destrezas en el laboratorio molecular y que hablen inglés) soliciten una pasantía para capacitarse en detección de estos patógenos.

Referencias:

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), 2044-0588.

Castillo Carrillo, C., Buitrón, J., Insuasti, M., Castillo, N., Rivadeneira, J., Cuesta, X. (2017). Avances en el diagnóstico del agente causal del problema de punta

- morada en papa en Ecuador. Memorias del VII Congreso Ecuatoriano de la Papa, Tulcán.
- Carrillo, C. C., Paltrinieri, S., Bustamante, J. B., & Bertaccini, A. (2018). Detection and molecular characterization of a 16SrI-F phytoplasma in potato showing purple top disease in Ecuador. *Australasian Plant Pathology*, 47(3), 311-315.
- Castillo Carrillo, C. (2019). Potato purple top disease in Ecuador. *Phytopathogenic Mollicutes*, 9(1), 143-144.
- Castillo Carrillo, C., Fu, Z., and Burckhardt, D. (2019). First record of the tomato potato psyllid *Bactericera cockerelli* from South America. *Bulletin of Insectology*, 72(1): 81-91.
- INIAP. (2014). Informe Técnico Anual 2014. Fitoplasmas asociados a la punta morada de la papa en Ecuador. Programa Nacional de Raíces y Tubérculos, Rubro papa. Quito, Ecuador. 81 p.
- INIAP. (2016). Informe técnico de avances, identificación y diagnóstico del agente causal de la enfermedad Punta morada de la papa en el Ecuador. Tello C. DNPV. EESC, INIAP.
- INIAP. (2019). Informe de resultados, identificación molecular del agente causal de punta morada en solanáceas. LlumiQuinga P, Ochoa J, Insuasti M, Cabezas P, Buitrón J, Morillo E. 2019. DNPV. EESC, INIAP.
- 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.

RUBRO: PRODUCCIÓN Y SERVICIOS

Producto 1. Diagnóstico de nematodos presentes en muestras de clientes externos.

Responsable: Ing. Pablo Javier Llumiyinga Hormaza

Antecedentes

Muchos cultivos de importancia económica en el país son afectados por agentes parásitos como son los nematodos fitoparásitos (Revelo, 1998). Estos organismos se caracterizan por disminuir el rendimiento de los cultivos ya que afectan a varias partes de la planta principalmente la raíz (Abad, Castagnone-Sereno, Rosso, Engler, & Favery, 2009). El factor que ocasiona esta disminución en el rendimiento es el bajo transporte de nutrientes y agua desde el suelo a la parte aérea de la planta por lo que se observa amarillamiento del follaje y enanismo (Karssen, Wesemael, & Moens, 2013).

En el periodo 2015-2018, se ha observado que la mayoría de ingresos de muestras para análisis nematológico fue de cultivos ornamentales, hortícolas y frutales. Entre los géneros de interés encontrados estaban *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Nacobbus* spp., *Pratylenchus* spp., etc.

En el año 2019, se identificaron una mayor cantidad de muestras que el año 2018 en cultivos como banano, rosas, hipericum, gypsophyla, papa, tomate riñón y naranjilla. Además, los análisis se realizaron para clientes externos y para investigación de otros programas y departamentos de la Estación Experimental Santa Catalina.

2. Objetivos

Determinar el género y cantidad de nematodos presentes en poblaciones de muestras de clientes externos e internos ingresadas al laboratorio de Nematología

3. Materiales y métodos

Aislamiento a partir de suelo

Se toma 100 g de suelo de las muestras tomadas, y se coloca en la parte superior del elutriador de Oostembrink, se llena con agua hasta la primera marca, luego se deja ingresar agua a un caudal de 1000 mL/min., se abre la ducha que se encuentra en la parte superior lavando la muestra depositada, se deja que el nivel de agua llegue hasta el segundo nivel, después se cierra la ducha y se baja el caudal de agua hasta 600 mL/min., se deja que llegue hasta el final del recipiente y se cierra el paso. Por último se destapa el elutriador para que el contenido caiga en los tres tamices de 45 μ m (Van Bezooijen, 2006).

Método del algodón para incubación de nematodos

Se coloca dos hojas de papel filtros mojados con agua en el tamiz con el anillo, luego se llena con agua un plato de aluminio el mismo que se soporta con una cruceta y se pone encima el tamiz, posterior a esto se coloca un vidrio reloj encima del papel filtro, por último se deposita el contenido dentro del tamiz durante una 10 a 20 segundos hasta que se filtre todo, limpiando tanto el vidrio reloj como el anillo con agua. Se retira el tamiz de la cruceta, se coloca en un nuevo recipiente con 100 mL. de agua, y se deja que repose durante 48 horas. Por último se recoge el contenido en un matraz para posteriormente observarlo al microscopio (Van Bezooijen, 2006).

Aislamiento a partir de raíz

Se lava las raíces infectadas con abundante agua para quitar partículas de suelo, luego con la ayuda de un cuchillo se las corta en pedazos pequeños, se pesa 10 g de raíz y se deposita el contenido licuándolo con una copa y media de hipoclorito de sodio al 5% por 2-3 minutos. Se transfiere el licuado a un recipiente y se agita durante cinco minutos, luego se transfiere el contenido a un juego de tamices (75um arriba y 10 um abajo), se lava con abundante agua hasta quitar el cloro, finalmente se recoge el contenido del tamiz en un matraz y se etiqueta (Ravichandra, 2010).

Aislamiento de quistes de *Globodera* spp.

Se introduce un tubo para el ingreso de agua por la parte inferior del elutriador a un caudal de 4 L/min, luego se abre la ducha superior y se llena el tanque hasta que rebose de agua. Se coloca la muestra en el filtro superior y se lava hasta que haya pasado todo el suelo, se deja en funcionamiento durante cinco minutos, dejando que todo lo que vaya bajando se recolecte en un tamiz de 65 um., se deposita el contenido en un matraz balón y se permite decantar las impurezas y se recoge los quistes en un papel filtro y por último se deja secar (Van Eck, Eguiguren, Défaz, Revelo, & Cedeño, 1984).

4. Resultados

Los análisis nematológicos aumentaron de 52 en 2018 a 85 en 2019. En la tabla 1, se presenta el resumen de resultados de los análisis nematológicos del presente año.

Tabla 1

Resumen de Análisis Nematológicos realizados a clientes externos en el año 2019

Número de análisis	Cultivo	Nematodos encontrados
12	Hypericum	Meloidogyne Helicotylenchus Tylenchus Aphelenchus
19	Rosa	Meloidogyne Paratylenchus

		Tylenchus Psylenchus Aphelenchoides Tylenchorhynchus Pratylenchus
13	Gypsophila	Meloidogyne Tylenchorhynchus Trichodorus Nacobbus Tylenchus Helicotylenchus Criconemoides
8	Liatriis	Aphelenchoides Tylenchus
3	Tomate riñón	Meloidogyne Nacobbus
29	Banano	Radophulus similis Meloidogyne Helicotylenchus
1	Papa	Pratylenchus Paratylenchus Trichodorus

Se realizaron 12 análisis nematológicos para el Programa Nacional de Fruticultura y tres para el Departamento Nacional de Producción de Semillas. Además se realizó dos análisis como trabajo colaborativo de comparación interlaboratorios de AGROCALIDAD.

Conclusiones

Se evidencia un aumento del número de muestras en el año 2019, en una cantidad de 81 entre suelo y raíces. *Meloidogyne* sp. fue el nematodo preponderante en las muestras ornamentales, mientras que en banano se evidenció la presencia mayoritaria de *Radophulus similis* y *Helicotylenchus* spp.

Recomendaciones

Mejorar el sistema de gestión administrativa para brindar un servicio de calidad a la comunidad.

Gestionar la adquisición de nuevos equipos para el laboratorio y capacitación continua del personal.

Bibliografía

Abad, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M., Engler, J., & Favery, B. (2009). Invasion, Feeding and Development. En R. Perry, M. Moens, & J. Starr (Eds.), *Root Knot Nematodes* (Primera ed, pp. 163–176). Oxfordshire, UK.

Karssen, G., Wesemael, W. M. L., & Moens, M. (2013). Root Knot Nematodes. En M. Moens & R. N. Perry (Eds.), *Plant Nematology* (2a ed.). Oxfordshire, UK: CAB International.

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

Revelo, J. (1998). Manejo integrado de plagas para el mejoramiento de la producción sostenible de frutas en la zona andina. Recuperado el 11 de agosto de 2016, de <http://www.fontagro.org/proyectos/manejo-integrado-de-plagas-para-el-mejoramiento-de-la-producción-sostenible-de-frutas-en-l>

Van Bezooijen, J. (2006). *Methods and Techniques for Nematology*. (J. Van Bezooijen, Ed.) (Segunda). Wageningen: Wageningen UR.

Van Eck, A., Eguiguren, R., Défaz, M., Revelo, J., & Cedeño, G. (1984). Métodos de extracción de nematodos. En *Técnicas de Laboratorio en Nematología* (pp. 10–15).

Producto 2

Diagnóstico de problemas fitosanitarios de los cultivos del área de influencia de la EESC - clientes externos

Responsable: María Luisa Insuasti

Colaboradores: Paulina Cabezas, 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 diagnosis 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. El Medio V8 Agar se utilizó para aislamiento de patógenos foliares. Se utilizaron antibióticos para hacer más selectivos los medios.

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 observación y 40X para observar. Para la identificación del patógeno se utilizaron claves taxonómicas, comparando las estructuras morfológicas (figura 1b), 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.

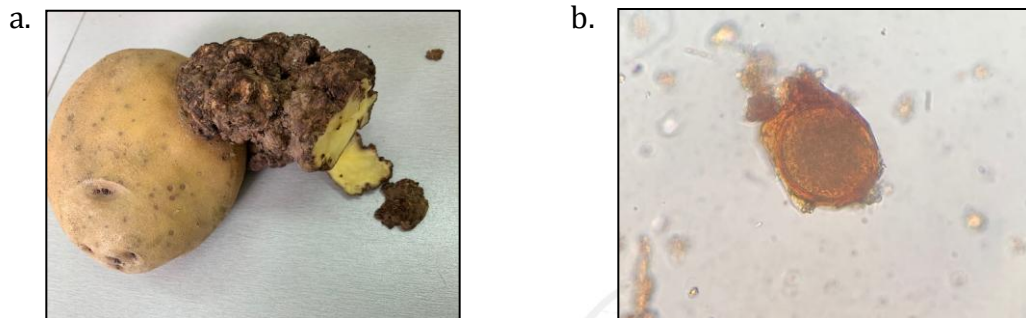


Figura 1. a. Verruga de *Synchytrium endobioticum* sobre tubérculo de papa.
b. Espora de resistencia de *Synchytrium endobioticum* en papa.

- **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 observación 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, (figura 2). 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.

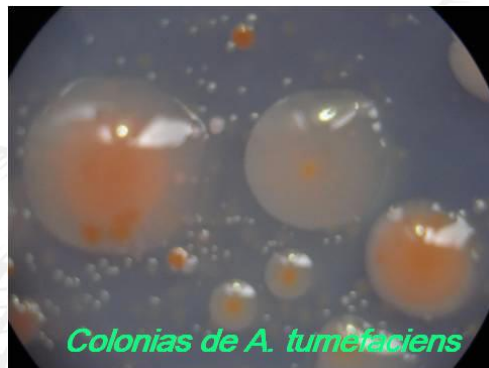


Figura 2. Morfología y coloración de colonia bacteriana

- **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.



Figura 3. Reacción positiva de la presencia de virus en la placa ELISA.

Resultados:

El número de análisis realizados durante el periodo de Enero a Diciembre del 2019 se detalla en la tabla 1.

Tabla 1
Detalle de los servicios realizados durante el 2019.

Tipo de análisis	Nº muestras	Nº de empresas
Micológico	114	17
Bacteriológico	42	6
Viroológico	40	2
Total	196	25

Durante el 2019 se identificaron los microorganismos descritos en las tablas 2 y 3.

Tabla 2
Hongos identificados durante el 2019.

Muestra	Hongos
Liatrix (bulbos)	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Rizoctonia</i> sp
	<i>Verticillium</i> sp
Alverja	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Penicillium</i> sp
	<i>Cladosporium</i> sp
Maíz blanco (raíz)	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Rhizoctonia</i> sp
	<i>Pyrenochaeta</i> sp
	<i>Trichoderma</i> sp
Aguacate (raíz)	<i>Cylindrocarpon</i> sp
	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Pyrenochaeta</i> sp
Clavel	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Cladosporium</i> sp
Albahaca	<i>F. oxysporum</i>
	<i>Trichoderma</i> sp
	<i>Cladosporium</i> sp

Lechuga *Microdochium* sp

Cladosporium sp

Hypericum (tallo y raíz) *Cylindrocarpon* sp

Pestalotia sp

Cladosporium sp

Piña (tallo) *F. oxysporum*

Fusarium sp

Rhizoctonia sp

Penicillium sp

Trichoderma sp

Mucor sp

Cladosporium sp

Papa *Synchytrium endobioticum*

Rosas (hojas) *Cladosporium* sp

Tabla 3
Bacterias identificadas durante el 2019

Muestra	Bacterias
Liatrix	<i>Pseudomonas</i> sp
Hypericum	<i>Pseudomonas</i> sp <i>Bacillus mycoides</i>
Maíz	<i>Pseudomonas</i> sp
Clavel	<i>Pectobacterium</i> sp.

Otros análisis:

- Se ha trabajado en pruebas preliminares de detección rápida mediante tinción de tejidos vegetales, para diagnóstico de Fitoplasmas en diferentes solanáceas.
- Se ha colaborado con el Departamento de Biotecnología y Departamento de Producción en el diagnóstico de Fitoplasma en papa, en muestras provenientes del invernadero automatizado
- Se ha continuado apoyando al Departamento de Producción de semillas en el Control Interno de Calidad de semilla de papa en la determinación de virus y de patógenos en semillas de otros rubros.

Bibliografía.

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. (1983). *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.

Singleton, L.L; Mihail, and Rush, C.M. (1992). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. 266p.