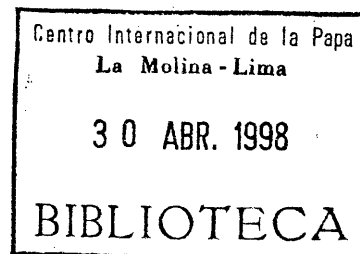
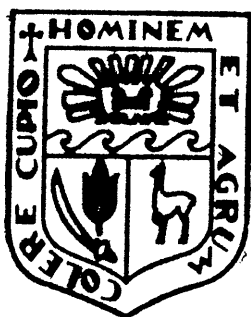


Tesis  
SB  
202.B7  
1157

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST - GRADO**

**ESPECIALIDAD DE FITOPATOLOGIA**



30/4/98

**"CORRELACION ENTRE LAS PRUEBAS DE INVERNADERO  
Y CAMPO PARA EVALUAR LA RESISTENCIA HORIZONTAL  
A *Phytophthora infestans* EN PROGENIES  
SEGREGANTES DE PAPA"**

**Tesis para Optar el Grado de:**

**MAGISTER SCIENTIAE**

**RODRIGO ALCIDES MORALES ARAUZ**

**LIMA - PERU**

**1998**

10097

# 10097

**Universidad Nacional Agraria La Molina**

**Escuela de Post grado**

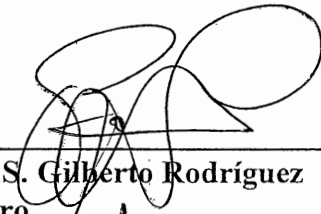
**Especialidad de Fitopatología**

**Correlación entre las pruebas de Invernadero y Campo  
para Evaluar Resistencia Horizontal a *Phytophthora*  
*infestans* en Progenies Segregantes de Papa**

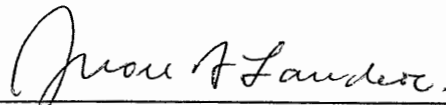
Tesis para optar el grado de Magister Scientiae

**Rodrigo Alcides Morales Araúz**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado



Ing. M.S. Gilberto Rodríguez  
Miembro



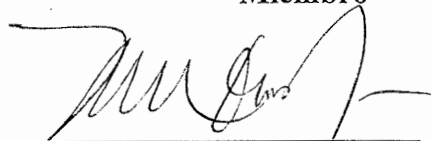
Ph.D. Juan A. Landeo  
Patrocinador



Ing. Mg.Sc. Luz Leonor Mattos C.  
Consejera



Ing. M.S. César Fribourg S.  
Miembro



Ing. M.S. Ricardo Mont K.  
Miembro

**Lima, Perú**

**1998**

## **DEDICATORIA**

A Fulvio y Fredesvinda.

A Brenda, Johanny Mallanine y Rodrigo Alcides

A Fulvio Jr., Jaime, Jorge y Carlos.

## AGRADECIMIENTO

Al Dios Todopoderoso por permitirme alcanzar las metas trazadas.

Al Dr. Juan A. Landeo, patrocinador de nuestro trabajo de investigación, por su asesoría y orientación constante, elementos esenciales que permitieron la culminación exitosa.

Al Dr. Patricio Malagamba y al personal de la Unidad de Capacitación del CIP por el financiamiento económico y por la gran amistad brindada.

Al Ing. Manuel Gastelo por el apoyo técnico y sugerencias durante el desarrollo de la investigación.

A la red del PRECODEPA y a su coordinador (hasta 1997), Ing. Roberto Rodríguez Chávez, a quien le estoy muy agradecido por sus sabios consejos.

Al IDIAP por autorizar nuestra superación académica.

Al Dr. Fernando Ezeta, Representante Regional del CIP para Latinoamérica y El Caribe, al departamento de Patología y a la Unidad de Estadística.

A los miembros del Comité Consejero la de Universidad Nacional Agraria La Molina.

A la Ing. Judith Echeagaray por su invaluable apoyo durante el transcurso de nuestros estudios de postgrado.

## INDICE

Lista de cuadros

Lista de figuras

I.	Introducción.....	1
	Objetivos.....	5
II.	Revisión de literatura.....	6
2.1.	El patógeno <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary.....	6
	2.1.1. Origen y distribución geográfica.....	8
	2.1.2. Biología de <i>Phytophthora infestans</i> .....	12
	2.1.2.1. Características morfológicas.....	12
	2.1.2.2. Ciclo del tizón tardío de la papa.....	14
	2.1.2.2.1. Ciclo de vida asexual.....	14
	2.1.2.2.2. Ciclo de vida sexual.....	17
2.2.	Sintomatología.....	20
2.3.	Condiciones ambientales favorables.....	22
2.4.	Variabilidad genética de <i>Phytophthora infestans</i> .....	24
	2.4.1. Tipos de apareamientos.....	25
	2.4.2. Ploidía.....	25
	2.4.3. Agresividad.....	26
	2.4.4. Virulencia.....	26
	2.4.5. Resistencia al fungicida Metalaxyl.....	28
	2.4.6. Marcadores moleculares y bioquímicos.....	29
	2.4.6.1. Análisis de aloenzimas.....	29
	2.4.6.2. Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción de ADN (RFLP).....	30
	2.4.6.3. RFLP DEL DNA mitocondrial.....	31

2.5.	Tipos de resistencias.....	33
2.5.1.	Resistencia vertical.....	33
2.5.2.	Resistencia horizontal .....	39
2.5.2.1.	Resistencia a la infección .....	41
2.5.2.2.	Período de latencia o pre-reproductivo.....	41
2.5.2.3.	Crecimiento lento de la lesión.....	42
2.5.2.4.	Esporulación reducida .....	42
2.5.2.5.	Formación de calosas o papilas .....	43
2.5.2.6.	Actividad de la peroxidasa .....	43
2.5.2.7.	Actividad de la adenosinasa .....	43
2.5.2.8.	Actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL) .....	44
2.6.	Interacción de resistencia vertical con resistencia horizontal en campo .....	45
2.6.1.	Efectos enmascarados .....	47
2.6.2.	Dilución de inóculo .....	47
2.6.3.	Retardo de la epidemia .....	48
2.6.4.	Simulación de la resistencia horizontal .....	49
2.7.	Estrategia de mejoramiento genético para resistencia horizontal.....	50
2.8.	Utilidad de la resistencia horizontal .....	51
2.9.	Pruebas de evaluación de la resistencia y su cuantificación.....	53
2.9.1.	Prueba de plántulas.....	54
2.9.2.	Cámara de inoculación .....	54
2.9.3.	Prueba de invernadero .....	55
2.9.4.	Prueba de campo.....	56
2.9.4.1.	Modelos matemáticos de epidemiología .....	57
2.9.4.1.1.	Modelo logístico.....	58
2.9.4.1.2.	Estimación de la tasa de infección.....	59
2.9.4.2.	Escalas .....	60

	2.9.4.3. Curva de progreso de la enfermedad .....	63
	2.9.4.4. Area bajo la curva de progreso de la enfermedad .....	64
	2.9.4.5. Interferencias de parcelas .....	66
	2.9.4.6. Asociación entre las prueba de invernadero y campo .....	66
III.	Materiales y métodos.....	70
3.1.	Ubicación geográfica.....	70
	3.1.1. Laboratorio .....	70
	3.1.2. Invernadero.....	70
	3.1.3. Campo .....	71
3.2.	Infraestructura utilizada.....	71
3.3.	Materiales genéticos .....	72
3.4.	Manejo del patógeno .....	75
	3.4.1. Obtención de inóculo de <i>Phytophthora infestans</i> .....	75
	3.4.2. Multiplicación de inóculo .....	75
	3.4.3. Colecta de esporangios .....	76
3.5.	Manejo del material genético .....	76
	3.5.1. Invernadero.....	76
	3.5.2. Campo .....	82
3.6.	Evaluación de la resistencia horizontal a <i>Phytophthora infestan</i> .....	86
	3.6.1. Escala de evaluación.....	86
	3.6.2. Invernadero.....	86
	3.6.3. Campo .....	88
3.7.	Cosecha .....	89
3.8.	Análisis estadísticos .....	89
	3.8.1. Diseño experimental.....	89
	3.8.2. Modelo aditivo lineal.....	89
	3.8.3. Análisis de variancia.....	90

3.8.3.1.	Invernadero y campo .....	90
3.8.3.2.	Homogeneidad de variancias para el análisis combinado de campo.....	92
3.8.4.	Correlaciones.....	93
IV.	Resultados y discusión .....	95
4.1.	Prueba de invernadero .....	95
4.2.	Prueba de campo.....	102
4.2.1.	Prueba de homogeneidad de variancias.....	107
4.3.	Correlaciones.....	110
4.3.1.	Correlaciones por categorías de infección foliar .....	112
4.3.2.	Correlaciones sin considerar categorías de infección foliar .....	117
V.	Conclusiones y recomendaciones.....	126
VI.	Resumen .....	129
VII.	Bibliografía.....	131

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Sistema internacional de genes para resistencia a <i>P. infestans</i> en papa y los genes correspondientes para virulencia en razas del patógeno. ....	35
Cuadro 2.	Características agroecológicas de las localidades donde se establecieron los experimentos.....	72
Cuadro 3.	Listado del material genético libre de genes R para resistencia a <i>P. infestans</i> , utilizado para el estudio de correlación entre las pruebas de invernadero y campo.....	73
Cuadro 4.	Genealogía del progenitor hembra de las progenies segregantes de papa estudiadas. ....	74
Cuadro 5.	Análisis de variancia para el diseño BCA para la prueba de invernadero y campo. Modelo al azar. ....	90
Cuadro 6.	Análisis de variancia para el diseño BCA, para el combinado de campo. Modelo al azar.....	91
Cuadro 7.	Análisis de variancia del porcentaje de infección foliar (LB2) de las progenies segregantes en invernadero. La Molina, Lima, Perú. ....	96
Cuadro 8.	Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes en invernadero. La Molina, Lima, Perú.....	96
Cuadro 9.	Promedio del porcentaje de infección foliar causado por <i>P. infestans</i> por familia segregante en invernadero (LB2). La Molina, Lima, Perú.....	98
Cuadro 10.	Valores promedios del AUDPC por familia segregante en invernadero. La Molina, Lima, Perú. ....	99

Cuadro 11.	Progenies segregantes por categoría de infección foliar en la prueba de invernadero y el número de plantas por progenie en el combinado de campo. ....	101
Cuadro 12.	Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes. Mayobamba, Huánuco, Perú. ....	103
Cuadro 13.	Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes. Comas, Junín, Perú. ....	103
Cuadro 14.	Valores promedios del AUDPC por progenie segregante en Mayobamba, Huánuco, Perú. ....	105
Cuadro 15.	Valores promedios del AUDPC por progenie segregante en Comas, Junín, Perú. ....	106
Cuadro 16.	Análisis de variancia del AUDPC de las familias para el combinado de campo. Mayobamba y Comas, Perú. ....	109
Cuadro 17.	Distribución de promedios y ordenamiento numérico de infección foliar (LB2) por familia en invernadero dentro de categorías y su correspondiente valor del AUDPC en el campo. ....	112
Cuadro 18.	Distribución de promedios y ordenamiento numérico del AUDPC por familia en invernadero dentro de categorías y su correspondiente valor del AUDPC en el campo. ....	114
Cuadro 19.	Porcentajes promedios de LB2, promedios del AUDPC y el orden numérico correspondiente por familia en la prueba de invernadero. La Molina, Lima, Perú. ....	118
Cuadro 20.	Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en Mayobamba, Huánuco, Perú. ....	119

Cuadro 21.	Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en Comas, Junín, Perú. ....	120
Cuadro 22.	Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en el combinado de campo. ....	121
Cuadro 23.	Matriz de correlación de rangos de Spearman resultantes del orden numérico de los promedios de LB2 y AUDPC en invernadero con los del AUDPC por progenie en campo. ....	122

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo del tizón tardío de la papa causado por el hongo <i>Phytophthora infestans</i> .....	19
Figura 2.	Disco de papa de la variedad susceptible Huayro con micelio esporulante del hongo <i>P. infestans</i> .....	78
Figura 3.	Colecta de esporangios utilizando primero un filtro de 30 $\mu\text{m}$ y posteriormente un filtro de 10 $\mu\text{m}$ . ....	79
Figura 4.	Riego con microaspersores a las plántulas de papa en el invernadero para brindar las condiciones óptimas para el desarrollo de <i>P. infestans</i> .....	80
Figura 5.	Inoculación de esporangios con la raza cero de <i>P. infestans</i> realizada con un compresor eléctrico a 3 lb/plg <sup>2</sup> , dirigida al envés de todos los folíolos por planta. ....	81
Figura 6.	Contorno del experimento de campo con la variedad de papa susceptible, Yungay, como dispersor de <i>P. infestans</i> .....	84
Figura 7.	Establecimiento de la prueba de campo donde las progenies segregantes fueron distribuidas de acuerdo al diseño estadístico BCA.....	85
Figura 8.	Plántula de papa con tizón en el follaje y en el tallo causado por el hongo <i>P. infestans</i> .....	87.

**LISTA DE GRAFICOS**

- Gráfico 1. Dispersión de valores promedios del AUDPC-Campo con valores promedios de LB2 (1) y de valores promedios del AUDPC-Campo con AUDPC-Invernadero (2), agrupados en categorías de infección. .... 111
- Gráfico 2. Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC en campo con las categorías de infección foliar en invernadero (LB2) por progenie (1) y del orden numérico del AUDPC de campo con el AUDPC de invernadero (2). .... 115
- Gráfico 3. Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC en Mayobamba con el orden de categorías por LB2 por progenie..... 124
- Gráfico 4. Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC en Comas con el orden de categorías por LB2 por progenie..... 124
- Gráfico 5. Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC del combinado de campo con el orden de categorías por LB2 por progenie. .... 125



## I. INTRODUCCION

La papa (*Solanum tuberosum*) es el cuarto cultivo alimenticio en orden de importancia a nivel mundial, después del trigo, el arroz y el maíz (40, 79). Su producción es afectada por el hongo *Phytophthora infestans* en cualquier parte del mundo donde se siembre papa (29, 56).

En zonas paperas endémicas para el *P. infestans* como las de Centro América, las condiciones ambientales son ideales para su desarrollo, causando en pocos días daños al follaje en variedades comerciales hasta del 100 por ciento. Esto hace que se destine gran cantidad de recursos económicos, debido al elevado número de aplicaciones de fungicidas llegando hasta 12 por ciclo, con intervalos de 3 a 8 días (123).

El hongo *P. infestans* se constituye en una amenaza creciente para la producción mundial de papa, provocando que más fungicidas se apliquen a este cultivo alimenticio que a cualquier otro. Al causar los primeros efectos devastadores en Irlanda en el siglo XVIII, hizo que los científicos de vanguardia aplicaran sus conocimientos a la agricultura, desarrollando los primeros fungicidas efectivos,

estableciendo el mejoramiento institucionalizado de la papa (130) y por qué no señalarlo, al nacimiento de la fitopatología como ciencia (34).

El tizón tardío es el nombre de la principal enfermedad de la papa causada por el hongo *P. infestans* y actualmente es más compleja y agresiva; más compleja debido a una nueva migración del patógeno que incluye dos tipos de apareamiento sexual (A1 y A2) procedentes de la sierra central de México, donde ambos tipos pueden reproducirse sexual y asexualmente. Es más agresiva ya que causa mayores daños a plantaciones de papa y tomate y en etapas más tempranas del cultivo, lo que significa una adaptación más rápida al ambiente y a las medidas de control, existiendo pocos fungicidas efectivos para el control de este importante patógeno (26, 27).

La mayoría de los cultivares de papa sembrados por los agricultores en el mundo (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*), constituyen variedades susceptibles al ataque del patógeno en estudio; entre éstas mencionaremos: Russet Burbank, Alpha, Granola, Amigo, Bintje, Desiree y muchas más. Surge en consecuencia desde el reconocimiento de la resistencia horizontal, el desarrollo de cultivares de papa con alta resistencia—como una prioridad—en los programas de mejoramiento genético (22, 23, 24, 28, 30, 39, 45, 46, 131).

La elaboración e implementación de estrategias de manejo integrado del tizón tardío bajo un enfoque de sistemas, involucra el uso de medidas complementarias necesarias al empleo de cultivares con resistencia horizontal, las cuales están dirigidas a bajar significativamente los costos de producción (por reducción en el uso de fungicidas), contribuyendo al establecimiento de una producción sostenible de papa que considere entre sus metas la protección y conservación de los agroecosistemas y sus cuencas, además de la productividad y rentabilidad (26, 37, 98)

Sin embargo, el mejoramiento genético de la papa es complejo pues requiere la combinación de muchos caracteres para mejorar una futura variedad y requiere de abundantes recursos (25). Los programas de mejoramiento genético desde 1950 han orientado sus esfuerzos hacia la búsqueda de fuentes de resistencia horizontal controlada por la acción de genes menores, por ser de carácter cuantitativo, más estable y duradera (21, 25, 75).

Los programas de mejoramiento con enfoque de selección para uso global inician con una estricta selección en invernaderos, algunas veces seguida por una evaluación detallada de los componentes de resistencia, luego por las pruebas de campo en zonas endémicas (México) y finalizan con las evaluaciones en campo bajo condiciones locales y las pruebas de resistencia en tubérculos (121).

Las pruebas de evaluación de plántulas de papa con resistencia a *P. infestans* en invernaderos posee grandes ventajas comparativas a las pruebas de campo, como la eliminación de individuos susceptibles que conforman una población de material genético en una etapa temprana de un programa de mejoramiento genético para resistencia al tizón tardío; sin embargo, para muchos científicos no representa en forma clara a las pruebas de resistencia en el campo (9, 95, 115).

Si la prueba de resistencia con plántulas en invernadero permite predecir el comportamiento de las plantas adultas en campo, tanto la selección de progenitores como el tamizado de progenies segregantes serían más eficientes. Caso contrario, se determinará que las pruebas de campo son muy necesarias para la cuantificación de la resistencia horizontal tanto en clones como en progenies segregantes.

Considerando la importancia de las pruebas de invernadero y campo en el proceso de selección de material genético de todo programa de mejoramiento genético para resistencia horizontal al tizón tardío de la papa, en el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivos**

1. Establecer la correlación entre la expresión de la resistencia horizontal a nivel de plántulas en invernadero y plantas adultas en campo.
2. Determinar el método (invernadero o campo) más apropiado y práctico de prueba de progenies segregantes para la selección de genotipos resistentes.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 El patógeno *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

Inicialmente, el hongo *P. infestans* causante del tizón tardío de la papa, fue descrito por Montagne en 1845 como *Botrytis infestans*, luego Walker lo incluyó en el género *Peronospora* (34). En 1876, Anton de Bary clasificó al hongo ubicándolo en el Reino Mycetae (Hongo), a la clase Oomycete, orden Peronosporales y a la familia Phythiaceae (2, 34).

Hawksworth y colaboradores (57) y Erwin y Ribeiro (34), presentan la nueva clasificación del género *Phytophthora*; ubicándolo dentro del Reino Protoctista o Chromista que incluye algas marrones y todos los protistas, ambos con flagelos tubulares, mastigonemas (pelos cortos unidos lateralmente al flagelo) y retículo endoplasmático. A la división Oomycota, cuyos miembros son hongos unicelulares a filamentosos móviles, caracterizados por la ausencia de quitina en la pared celular, pero rica en celulosa.

La división Oomycota contiene a la clase Oomycete que se caracteriza por la producción de zoosporas con dos flagelos, uno tipo látigo y otro tipo plumilla, y por la incapacidad de sintetizar los esteroides, que es un componente de la membrana celular. Además de la naturaleza diploide, la presencia de típicos cristales tubulares en la mitocondria y los estudios filogenéticos de pequeñas subunidades de secuencias de ADN ribosomal; sugieren que los Oomycetes están más relacionados a los Chrysophytes que a los hongos superiores como los Ascomycetes y Basidiomycetes (34).

El hongo *P. infestans*, es un patógeno de gran potencial destructivo en muchas especies de la familia Solanaceae, principalmente en papa y tomate. Es un hongo especializado que se comporta como hemibiotrófico ya que es biotrófico en el borde de la lesión pero, necrotrófico cerca del centro de la lesión (45, 95).

Ataca hojas, tallos, bayas y tubérculos de las plantas de papa (60, 90), causando la enfermedad conocida como tizón tardío, ranchar, lancha, hielo, gota, mildiu, late blight (1, 19, 34, 60). Se considera que esta enfermedad bajo condiciones ambientales muy favorables, puede destruir totalmente una plantación en corto tiempo sino se aplican medidas de control oportunas. Aún con niveles bajos de infección la cosecha puede resultar disminuida (37, 81).

Actualmente se gastan sumas exorbitantes en el control de *P. infestans* en papa y tomate, principalmente en fungicidas. Según Landeo (70), se gasta alrededor de 1.8 billones de dólares en fungicidas para controlar el tizón tardío en papa y que el mundo en desarrollo gasta 600 millones de dólares en fungicidas. Los fungicidas utilizados para controlar el tizón tardío no sólo son potencialmente peligrosos y costosos, sino que están perdiendo su efectividad (27).

### 2.2.1 Origen y distribución geográfica

Existen evidencias genéticas de que el hongo se originó en el Valle de Toluca de la zona central de México, considerándose a Reddick y Crossier en 1943 entre los primeros que reportaron que este lugar es el principal centro de origen de *P. infestans* (92). La gran diversidad genética observada en las plantas hospedantes y en el hongo apoyan la hipótesis que el patosistema papa-*P. infestans* ha coevolucionado en este lugar en el tiempo. Niederhauser (91), a través de colecciones de muestras del hongo en 1956 en plantaciones de papa localizadas en el centro de México, identificó el tipo de apareamiento A2 por medio de la presencia de oosporas, las cuales fueron capaces de producir progenies patogénicas. En las poblaciones del patógeno de estas zonas paperas, los tipos de apareamiento A1 y A2 aparecen en igual frecuencia (33,84).

Casi a mediados del siglo XIX muestras del hongo salieron de su enclave biológico y se diseminaron rápidamente a través de tubérculos semillas infectados, llegando a

Norte América, luego a Europa y de allí al resto del mundo. Actualmente es el más importante patógeno de la papa en cualquier lugar donde ésta se cultive. En esta primera migración, sólo se diseminó el tipo de apareamiento sexual A1 y los estudios recientes de estructura genética de estas poblaciones, indican que éstas estaban dominadas por un linaje clonal simple (por ejemplo el US-1) (25, 43, 45, 81, 128).

Alrededor de 1976, se produce una nueva migración de *P. infestans* incluyendo los dos tipos de apareamiento sexual A1 y A2 desde su centro de origen a Europa, y desde allí a través de la venta de tubérculos-semilla, a Asia, Africa y Sudamérica (anteriormente el tipo sexual A2 no había sido detectado fuera de México) (26, 46, 112).

Posteriormente, nuevos genotipos del hongo aparecieron en Estados Unidos y Canadá, pero no a través de tubérculos de papa provenientes de México, sino de las grandes importaciones de frutos de tomate infectados -aparentemente sanos- con *P. infestans*, los cuales eran descartados. Debido a que este hongo puede esporular fácilmente en frutos de tomate infectados, quizás la dispersión aérea contaminó cultivos cercanos de papa y tomate en producción (45). La nueva migración está distribuyéndose en el mundo rápidamente y debido a su mayor agresividad (incremento rápido de la enfermedad en el hospedante) y capacidad de adaptación tiende a desplazar con facilidad a las antiguas poblaciones del hongo (32, 43).

La nueva migración de *P. infestans* se caracteriza por presentar: a) incremento de la capacidad de adaptación y “fitness” (patogenicidad intrínseca), su agresividad y potencial de causar epidemias más severas de la enfermedad y en etapas más tempranas del cultivo, b) desarrollo de resistencia al fungicida metalaxil con más frecuencia, c) más virulencia que las poblaciones antiguas, d) producción de oosporas, que son estructuras de conservación producto de la recombinación sexual, capaces de sobrevivir en estado latente en el suelo durante años y pueden convertirse en una fuente adicional de inóculo que incrementaría el desarrollo epidemiológico de la enfermedad, y e) compatibilidad en algunas variantes del hongo para atacar papa y tomate al mismo tiempo (43).

Al inicio de 1990, los linajes que contribuyeron a aumentar la amenaza de *P. infestans* en la nueva migración fueron (45):

1. *US-6*: Tipo de apareamiento A1, usualmente muy patogénico en tomate -pero no siempre- y resistente al metalaxil. Este genotipo raramente se aisló después de 1993.
2. *US-7*: Tipo de apareamiento A2, patogénico en tomate y resistente al metalaxil. Genotipo causante de epidemias en tomate en los Estados Unidos y Canadá.

3. *US-8*: Tipo de apareamiento A2 y es el genotipo que ha creado mayores problemas. Muy patogénico al follaje y tubérculos de papa y resistente al metalaxil.

Desde el descubrimiento del tipo de apareamiento A2 en aislamientos de muestras de papa en Europa, se han formulado cuatro principales hipótesis para explicar su aparición: (i) surge del tipo A1, a través de mutación o recombinación mitótica entre ambos (107), (ii) ha existido antes de 1980 pero en tan baja frecuencia que éstos nunca fueron detectados (108), (iii) aislamientos introducidos por la migración del patógeno provenientes de su centro de origen en México (47) y (iv) surge por cambios del tipo de apareamiento, por estar expuestos constantemente a fungicidas o por inducción a la autofecundación (64). Entre éstas, la hipótesis de la migración es la más aceptada científicamente.

La rápida distribución de las nuevas variantes del hongo, principalmente del genotipo *US-8* (47), se debe entre otros factores a: (i) el envío transcontinental de tubérculos-semilla de papa, como un método muy efectivo para el movimiento a grandes distancias, (ii) la característica de *US-8* (patogénico al follaje y tubérculos), y cuya infección al tubérculo resulta de los esporangios producidos en el follaje; indicando que quizás el *US-8* es el causante de la infección a los tubérculos de papa (67) y (iii) la diseminación de los esporangios del hongo por el viento, conduce a una dispersión local.

El hongo *P. infestans* se reproduce en forma asexual y sexual, pero la reproducción sexual ocurre únicamente por recombinación entre tipos de apareamiento opuestos (A1 y A2). Tooley y colaboradores (118) encontraron que los alelos de las aloenzimas Isomerasa de glucosa fosfato y Peptidasa (Gpi y Pep), en una población del hongo colectada en la zona central de México, se encontraban en igual proporción de equilibrio, indicando que esta condición ocurre en poblaciones con apareamiento sexual al azar (Hardy - Weinberg). Por otro lado, el mismo estudio con poblaciones asexuales del hongo provenientes de aislamientos colectados en Estados Unidos y Canadá, no resultó en equilibrio para estos alelos.

### **2.1.2 Biología de *P. infestans***

#### **2.1.2.1 Características morfológicas**

El micelio del hongo se caracteriza por presentar hifas o filamentos hialinos, ramificados y cenocíticos (sin septas). Esporangióforos que se diferencian de las hifas somáticas, ramificados en forma simpódica y de crecimiento indeterminado, en cuyo ápice se forman los esporangios ovoides, elipsoidales a limoniformes; con tamaños entre 22 a 36  $\mu\text{m}$  de largo y de 19 a 29  $\mu\text{m}$  de ancho. Los esporangios son semipapilados, con tallo corto ( $< 5 \mu\text{m}$ ) y caducos (al madurar se desprenden) (2, 34).

Durante el crecimiento de los esporangióforos de *P. infestans*, los esporangios son desplazados hacia una posición lateral y posteriormente se desprenden siendo diseminados por el viento. Los esporangióforos forman un simpodio con un crecimiento más o menos ondulado en los sitios donde emergen los esporangios y forman dilataciones que es una característica particular del hongo (34).

Los esporangios pueden germinar emitiendo un tubo germinativo, pero con mayor frecuencia liberan zoosporas móviles, unicelulares, periformes a reniformes y con dos flagelos de diferentes tamaños que son utilizados para nadar libremente en el agua. Cada zoospora contiene típicamente un solo núcleo y cerca de éste se encuentran dos cuerpos basales a partir de los cuales salen dos flagelos, uno liso y el otro tipo plumilla (1,34,60).

En cuanto a las estructuras sexuales de *P. infestans*, el oogonio (órgano femenino) es de 31 a 50  $\mu\text{m}$  de diámetro y generalmente es globoso o subgloboso, pero ocasionalmente es piriforme; es hialino y en algunos casos la pared se torna ligeramente pigmentada de una tonalidad marrón amarillenta. El anteridio (órgano masculino), es conocido como anfígeno por el tipo de inserción con el oogonio (2). El anteridio es anfígeno ya que al inicio de su desarrollo el oogonio atraviesa la pared y se transforma en una estructura esférica situada sobre el anteridio (32).

Cada talo es bisexual con potencial para formar anteridios y oogonios; por falta de nutrientes una cepa produce anteridios, mientras que una bien nutrida produce los oogonios. Además, diversos aislamientos de *P. infestans* tienen diferentes grados de fuerza sexual; es decir, cuando una cepa se aparea con ciertos aislamientos puede mostrar potencial masculino, pero cuando se aparea con otros puede actuar con potencial femenino (109).

Verificada la fecundación del oogonio se forma la oospora, la cual es aplerótica (no llena toda la cavidad oogonial). Es una estructura de conservación que está compuesta por tres capas siendo la externa lisa y llega a medir de 24 a 35  $\mu\text{m}$  de diámetro (34).

### **2.1.2.2 Ciclo del tizón tardío de la papa**

#### **2.1.2.1.1 Ciclo de vida asexual**

En algunas zonas productoras de papa la infección inicial parte de los tubérculos-semilla infectados con micelio del hongo (figura 1). En condiciones ambientales favorables, los esporangióforos aparecen en gran cantidad a través de las lenticelas o lesiones de los tubérculos. Es frecuente el desarrollo del micelio hacia el tallo de las plantas con mayor rapidez a nivel de la región cortical, dando como resultado la decoloración y necrosis de las células de esa zona. Posteriormente el micelio se

desarrolla entre las células medulares del tallo, pero rara vez se le encuentra en el sistema vascular, finalmente el micelio llega a la superficie del suelo (1,32).

El hongo crece en los nuevos tejidos de las plántulas y esporula en sus partes aéreas, siendo la esporulación más abundante en el envés de las hojas que en el haz de las mismas, causando una rápida diseminación de la enfermedad.

En presencia de agua los esporangios pueden germinar directamente, mediante un tubo germinativo que emerge por el extremo papilado, el cual penetra por un estoma e infecta el tejido de las hojas de las plantas de papa. También pueden liberar de 10 a 12 zoosporas en presencia de agua y temperaturas más bajas. Una vez que las zoosporas entran en reposo, se enquistan y germinan produciendo un tubo germinativo y micelio (34).

Las zoosporas son consideradas los mayores propágulos infectivos. El tubo germinativo produce un apresorio, órgano aplanado, adherido a la superficie de las hojas, a partir del cual se forma la hifa de infección que penetra en la célula epidérmica del hospedante (53).

El tubo germinativo puede penetrar en forma directa la cutícula de la hoja, por medio de las enzimas galactanasa y galacturonasa producidas por *P. infestans*; sin embargo,

la enfermedad del tizón tardío no se caracteriza por causar una desintegración completa del tejido y pared celular. El tubo germinativo penetra mayormente a través de los estomas (20). Después de penetrar en la hoja por los estomas, el tubo germinativo se transforma en un micelio ramificado, que desarrolla dentro del tejido vegetal a nivel intercelular y solo sus haustorios largos entran a las células del mesófilo de las hojas (53).

Después de la infección, en condiciones ambientales favorables, surgen numerosos esporangióforos por los estomas de las hojas de plantas de papa y dan lugar a un gran número de esporangios, los cuales se forman entre 4 a 5 días después de la infección. Estos son dispersados por el viento e infectan nuevas plantas, de esta manera, si las condiciones son favorables para el desarrollo del hongo, en un período de crecimiento del cultivo, puede producirse nuevas infecciones y numerosas generaciones asexuales del hongo (enfermedad policíclica). Al avanzar la enfermedad, las lesiones previas continúan extendiéndose apareciendo otras, dando como resultado la muerte prematura del follaje de las plantas y una disminución proporcional en la producción de tubérculos de papa (1, 2, 34, 60).

En condiciones de presencia de lluvias, los esporangios y zoosporas son lavados y caen al suelo en donde éstos germinan y sus tubos germinativos penetran en los

tubérculos a través de lenticelas, yemas, heridas o por cualquier superficie que no ha suberizado completamente (1, 87).

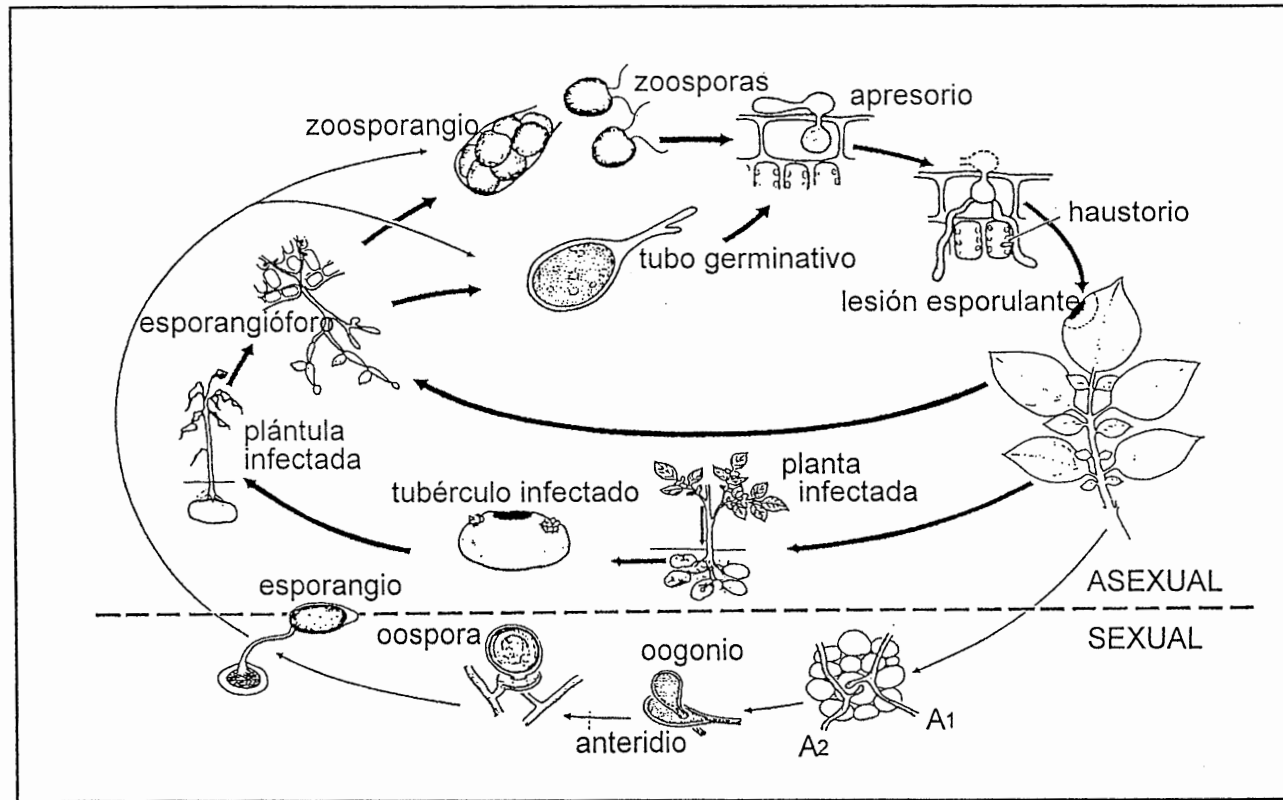
En las zonas templadas de días largos el hongo *P. infestans* sobrevive en forma de micelio que crece en los tubérculos dejados en el campo o en los utilizados como semilla. En las áreas tropicales, donde se cultiva papa durante todo el año, su presencia es constante debido a la siembra permanente de plantaciones de papa. El patógeno también puede sobrevivir en especies silvestres de papa que se encuentran ampliamente distribuidas tanto en América Central como en América del Sur, propagándose desde allí a plantaciones comerciales (4). Las estructuras de propagación del hongo mueren si no encuentran un tejido hospedante vivo.

#### 2.1.2.2.2 Ciclo de vida sexual

*P. infestans* es heterotálico ya que requiere del apareamiento de dos aislamientos con tipos de compatibilidad opuestos para que se produzca la reproducción sexual. Esta tiene lugar mediante la formación del anteridio y del oogonio en tipos de apareamiento opuestos (Figura 1).

El anteridio que es anfígeno, en su fase inicial de desarrollo no intercambia citoplasma con el oogonio (34). El oogonio se expande y su tallo es taponado,

posteriormente todos los núcleos en el oogonio -excepto uno- emigran hacia la periferia.



**Figura 1.** Ciclo del tizón tardío de la papa causado por el hongo *Phytophthora infestans*.  
 Fuente: André Dreth, 1994.

La meiosis ocurre en los gametangios multinucleados (29, 32). La fecundación se verifica al penetrar el tubo de fecundación del anteridio a través de la pared oogonial, depositando sus núcleos. El oogonio fertilizado se convierte en una estructura con pared gruesa, conocida como oospora (2).

Las oosporas a diferencia de los esporangios y las zoosporas pueden resistir condiciones ambientales desfavorables como temperaturas congelantes, sequías y la ausencia de hospedantes. Las plantas de papa totalmente afectadas por el tizón tardío conteniendo oosporas que se dejan en el campo, con el tiempo se descomponen en el suelo y las oosporas son liberadas (33). Las oosporas pueden germinar e infectar tubérculos y plántulas de papa, así como hojas y tallos que estén en contacto con el suelo. La germinación de las oosporas se inicia con el consumo de los cuerpos lípidos presentes en el ooplasto, seguida por la disolución de su pared y finaliza con la formación de uno o varios tubos germinativos. Cada uno de éstos, pueden iniciar un crecimiento micelial directamente o terminar en un esporangio que puede germinar directamente o produciendo zoosporas (2,32).

## 2.2 Sintomatología

Los primeros síntomas en las hojas consisten en pequeñas manchas húmedas entre verde claro y oscuro, de forma circular a irregular y por lo común aparecen en las puntas o bordes de las hojas. En condiciones húmedas, las lesiones se extienden

rápida­mente convirtiéndose en zonas necróticas grandes de color café a negro que presentan bordes irregulares. A menudo se forma un halo de color verde claro a amarillo en la parte externa de la zona necrótica de la hoja (1, 60, 95).

En el borde de las lesiones, especialmente en el envés de las hojas, se forma una zona blanca de aspecto algodonoso, constituido por esporangios y esporangióforos. En condiciones favorables, en menos de una semana la enfermedad puede propagarse de los primeros folíolos infectados a todas las hojas de una planta, cubriendo a casi toda la plantación (18, 60).

Las lesiones necróticas se extienden por toda la hoja hasta el peciolo y muchas veces infectan los tallos, los cuales son quebradizos y al colapsar matan finalmente las partes de la planta por encima de las lesiones. En campo, las plantas severamente afectadas emiten un olor característico debido a la rápida descomposición del tejido foliar muerto. En climas secos las lesiones existentes dejan de extenderse, se ennegrecen, enrollan, se secan y el hongo ya no se desarrolla más en el envés de las hojas (60).

El hongo también ataca a las bayas y los tubérculos (60, 90). En muchos lugares las infecciones a los tubérculos son poco frecuentes (87). Cuando estos órganos son infectados muestran áreas de la piel levemente hundidas de color café a morado,

debajo de la cual se observa una pudrición seca y granular de color café pálido, que se extiende dentro del tubérculo aproximadamente de 1 a 2 cm en un patrón irregular. Posteriormente, las zonas afectadas adquieren firmeza y se secan en cierto grado. Las lesiones en la piel pueden ser pequeñas o cubrir toda la superficie del tubérculo, sin extenderse más adentro del mismo (87).

Los tubérculos al ser infectados durante la cosecha con esporangios todavía presentes en el suelo, o al ser expuestos con el hongo esporulante presente en el follaje parcialmente enfermo de algunas plantas, es muy probable que se produzca otra infección, la cual se desarrolla durante el almacenamiento de los tubérculos. La mayoría de los tubérculos que han sido infectados se pudren en el campo o bien cuando son almacenados (1, 60).

### **2.3 Condiciones ambientales favorables**

La temperatura y la humedad relativa son factores importantes para el desarrollo del tizón tardío de la papa. Erwin y Ribeiro (34) mencionan las siguientes condiciones ambientales que generalmente preceden al desarrollo de la epidemia del tizón tardío:

a) temperaturas nocturnas igual que las gotas de rocío al menos por 4 horas, b) temperaturas nocturnas menores a 10°C cuando no se forman gotas de rocío sobre las hojas, y c) por lo menos un día con neblina y posterior a éste, lluvia de por lo menos 0.1 mm.

La esporulación es más intensa a 100 por ciento de humedad relativa y temperatura óptima de 21°C, pero se ha observado crecimiento entre 4 y 26°C. Temperaturas superiores a 26°C, matan las hifas en una semana. La producción más abundante de esporangios se evidencia a temperaturas entre 9 y 22°C, siendo lo óptimo entre los 18 a 22°C. En este rango se forman abundantes esporangios en 14 h, mientras que a temperaturas más bajas, 9 a 15°C, se requieren 48 h. En cuanto a la humedad relativa para la producción de esporangios, el óptimo es de 100 por ciento y el mínimo de 91 por ciento (34,60).

Los esporangios son capaces de germinar dentro de un amplio rango de temperaturas, desde 4 hasta 24°C; sin embargo, a temperaturas mayores de 24°C los esporangios pierden viabilidad en un tiempo de 1 a 3 h en aire seco y de 5 a 15 h en aire húmedo. Además de la temperatura y la humedad, la edad de los esporangios influyen sobre la germinación (1, 34).

Los esporangios requieren de agua libre para germinar, la cual puede darse en forma directa mediante la formación de un tubo germinativo que es favorecido por temperaturas altas (60), siendo la temperatura óptima para la germinación directa de 24°C. Una vez que los esporangios han germinado, se requiere un período de 2 a 2.5 h con temperaturas entre 15 a 25°C para que se produzca la penetración de los tubos germinativos en los tejidos de las plantas de papa (2, 34).

Los esporangios también liberan zoosporas, favorecidos por temperaturas baja entre 12 a 16°C. La temperatura determina el período de nado de las zoosporas en la película de agua que se forma sobre las hojas, registrándose de unos pocos minutos a horas.

El desarrollo del hongo en la hoja es poco afectado por la humedad ambiental. Sin embargo, los esporangios sólo se forman cuando la humedad relativa dentro del follaje es superior a 95 por ciento. Cuando la temperatura es óptima, se requieren ocho horas de alta humedad para la producción de esporangios, la liberación de zoosporas y la penetración (2).

#### **2.4 Variabilidad genética de *P. infestans***

México es considerado como el centro de diversidad del hongo, con áreas de dispersión en el valle de Toluca y en la Sierra Central mexicana (92, 106). Sin embargo, la distribución de la variabilidad genética de las poblaciones de *P. infestans* debe ser determinada en los diferentes niveles geográficos, tales como entre regiones, entre campos dentro de regiones y dentro de campos.

La diversidad genética de las poblaciones del patógeno han sido estudiadas a nivel mundial, utilizando los siguientes marcadores:

### 2.4.1 Tipos de apareamiento

La presencia de los grupos de apareamiento A1 y A2 en las poblaciones de este hongo posibilita de reproducción sexual y consecuentemente, la variabilidad genética. Romero (102), señala que este hongo posee gran capacidad de generar nuevos biotipos por hibridación.

La gran variabilidad genética encontrada en aislamientos del hongo dentro de un campo, indican que además de las esporas vegetativas, el estado sexual, específicamente las oosporas, contribuye a la propagación de las poblaciones de *P. infestans* en el campo. Los reportes de la existencia de una gran variabilidad genética han coincidido con la introducción de aislamientos del hongo con los nuevos tipos de apareamiento A1 y A2 alrededor de 1980 (32, 45,48). Por ejemplo, en los Estados Unidos, de 75 aislamientos del hongo provenientes del valle de Toluca, México, la mayoría estaba constituido por un genotipo diferente único; es por ello que la estructura poblacional de *P. infestans* presenta variaciones entre localidades (55, 83).

### 2.4.2 Ploidía

Fry y Spielman, citados por Umaerus y Umaerus (121) y Tooley y colaboradores (117), en recientes estudios de la ploidía de aislamientos de *P. infestans* provenientes de diversas localidades, encontraron que todos los aislamientos mexicanos pertenecían a una población diploide pero, aislamientos de otras localidades

presentaron altos niveles de ploidía. Reportaron que los individuos diploides tienen la capacidad de acumular un amplio arreglo de combinaciones de alelos virulentos.

### 2.4.3 Agresividad

Umaerus y Umaerus (121), reportaron que existen suficientes evidencias de que muchos aislamientos del hongo son más agresivos en ciertos cultivares resistentes; es decir, el patógeno crece más rápidamente sobre los tejidos de las plantas de papa. La agresividad es la capacidad que tiene el patógeno de incrementar rápidamente su población y por consiguiente la enfermedad.

La agresividad en el patógeno es un carácter heredado poligénicamente, por lo tanto, está ligado a la resistencia horizontal. La importancia de esta relación está basada en la presencia del estado perfecto del hongo, en el cual la gran influencia del ambiente y de la recombinación sexual contribuyen a la disminución o aumento de la agresividad del hongo. Fry (43) indica que las nuevas migraciones de *P. infestans* son más agresivas porque causan epidemias más severas de la enfermedad y en etapas más tempranas del cultivo.

### 2.4.4 Virulencia

La evaluación fenotípica de virulencia fue quizás el primer marcador utilizado en los estudios de genética de poblaciones de *P. infestans*. A pesar de los problemas con los

estudios de virulencia, éstos son de gran utilidad y se utilizaron para comparar grupos de poblaciones de *P. infestans*. Históricamente, las pruebas de virulencia fueron hechas en un esfuerzo para predecir la utilidad de genes R (107, 108, 113).

El patógeno *P. infestans* es capaz de presentar amplias variaciones patogénicas, reportándose que el organismo adquiere mayor capacidad de virulencia a medida que se le enfrenta con genes mayores -genes R- de las variedades resistentes, evidenciando así mutaciones frecuentes (58). Las mutaciones en *P. infestans* ocurren de manera espontánea, independientemente del tipo de reproducción y dado el gran número de prole producida por el hongo, es posible que muchos mutantes que difieren de sus progenitores en cuanto a virulencia aparezcan en los campos de cultivo cada campaña de producción (1).

Las razas fisiológicas de *P. infestans* son identificadas y clasificadas según su virulencia sobre una serie de plantas diferenciales. La virulencia es a menudo un carácter heredado oligogénicamente. La virulencia en el patógeno sigue el esquema de la relación del gen por gen (38) y está ligada a la resistencia vertical, por ello, un aislamiento es más virulento que otro por su capacidad de vencer más genes R (85, 95).

Henfling (58) señala que por simple segregación y recombinación somática, las poblaciones de *P. infestans* a nivel de campo pueden adquirir genes de virulencia y avirulencia. Tooley y colaboradores (117), reportaron que los aislamientos de *P. infestans* mexicanos presentaron más virulencia que los aislamientos colectados en Estados Unidos provenientes de poblaciones del patógeno propagadas asexualmente.

#### 2.4.5 Resistencia al fungicida Metalaxyl

Las variaciones en la susceptibilidad al fungicida metalaxyl han dificultado el establecimiento de programas de manejo de la enfermedad del tizón tardío de la papa en muchas localidades en el mundo. La resistencia al metalaxyl dentro de las poblaciones de *P. infestans* se reportó inicialmente en Irlanda del Norte, Europa, Israel y posteriormente en los Estados Unidos (84). A mediados de 1980 a pesar de que los fungicidas junto con la resistencia genética habían funcionado bien en diversas partes del mundo -entre éstas México- se registraron epidemias severas de tizón tardío, acompañadas por la pérdida de la efectividad de los fungicidas (84).

Las nuevas variantes del hongo, por ejemplo US-8, son más resistentes a los fungicidas que las antiguas poblaciones, donde prevalecía el US-1 (48). Estas diferencias fueron analizadas por Bruhn y Fry (8) con la ayuda de un modelo de simulación computarizado para el tizón tardío, concluyendo que el genotipo US-8

requería un 25 por ciento más de aplicaciones de fungicidas que el US-1 para controlar esta enfermedad.

La resistencia al metalaxyl incluye a todos los fungicidas de composición similar dentro del grupo de las acilalaninas, siendo detectada inicialmente en México por medio del marcador de aloenzimas (47). Shattock (106) al estudiar la genética de la resistencia al metalaxyl demostró que la herencia de la resistencia está gobernada por un simple gen con dominancia incompleta.

La virulencia y la resistencia al fungicida metalaxyl, han sido los principales marcadores biológicos relacionados con *P. infestans*. Estos ejercen una fuerte presión de selección en los sistemas de producción; por lo tanto, probablemente no son adecuados para estimar la estructura y diversidad genética en las poblaciones del patógeno. Además, con estos marcadores es imposible determinar si un alelo específico se origina independientemente en diferentes aislamientos del hongo, o si éstos se originaron de un progenitor común.

## **2.4.6 Marcadores moleculares y bioquímicos**

### **2.4.6.1 Análisis de aloenzimas**

El número de marcadores de aloenzimas polimórficas disponibles para *P. infestans*, tales como isomerasa de glucosa fosfato (*Gpi*) y peptidasa (*Pep*) son útiles para

detectar genotipos individuales dentro de las poblaciones del hongo, ya que la diversidad por estas aloenzimas es limitada por dos alelos (55). La similitud de los genotipos de aloenzimas no es necesariamente indicativo de la ausencia de variabilidad genética entre diversos aislamientos. Actualmente, por lo menos seis alelos por *Gpi* y seis por *Pep* han sido detectados. El análisis de aloenzimas puede dar una buena indicación de los patrones de distribución temporal y espacial sobre una base mundial (46).

#### **2.4.6.2 Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción de ADN (RFLP)**

Es utilizado para la producción de mapas genéticos por ligamiento del genoma de *P. infestans* en su desarrollo evolutivo. En esta prueba el ADN extraído de muestras de aislamientos del hongo pasan por un proceso de digestión con la enzima EcoR1 que reconoce secuencias específicas en el ADN cortándolo en ciertos sitios (sitios de restricción), obteniendo una serie de fragmentos de diferentes tamaños. El ADN es hibridizado con la sonda RG57 y finalmente los fragmentos unidos a las sondas pueden visualizarse en el revelado.

En la sonda RG57 los fragmentos de ADN son seleccionados al azar de un genoma de *P. infestans*, reconociendo muchos locus no relacionados que están dispersos sobre el genoma. Los fragmentos genómicos hibridizando a la sonda RG57 presentan

independientemente la herencia mendeliana y son estables a través de la reproducción asexual. La impresión del ADN con la sonda RG57 es utilizada para identificar genotipos individuales de *P. infestans* y para distinguir los progenitores de su progenie híbrida producida sexualmente o por autofecundación (55).

La sonda RG57 ha sido utilizada para estudiar la variabilidad genética de más de 200 aislamientos de *P. infestans*, colectados en todo el mundo. Aislamientos de diversas localidades en México presentaron diferentes niveles de variabilidad genética. En la zona central de México, cada aislamiento fue diferente, se identificaron 25 bandas en la impresión del ADN de la sonda RG57, confirmándose que éste es el centro de origen del hongo (46,47,49).

#### **2.4.6.3 RFLP DEL ADN mitocondrial**

El tipo de ADN mitocondrial de las poblaciones del hongo es un marcador muy útil para el seguimiento de las migraciones de *P. infestans* alrededor del mundo, con efectos en la herencia materna únicamente y para el seguimiento de medidas cuarentenarias. El polimorfismo del ADN mitocondrial también es un marcador para genes citoplasmáticos y puede ser utilizado para estudiar el fenotipo de una población del hongo cuando no presentan la clásica herencia mendeliana (13).

Goodwin (54) describió las formas variantes de acuerdo al genoma mitocondrial, siendo común la forma A que es de distribución mundial y una variante de la forma A llamada forma B, también de distribución mundial. La forma B no es frecuente en las muestras de hojas de papa cultivadas en la zona central de México pero, es más común que la forma A en las zonas noreste y noroeste de México. Carter citado por Umaerus y Umaerus (121) señalan que estas dos formas están asociadas con otros marcadores genéticos, como las isoenzimas.

La forma C del ADN mitocondrial ha sido recientemente encontrada en un aislamiento de Perú que parece ser el resultado de una inserción simple sin un ordenamiento adicional. La forma D que ha sido encontrada en aislamientos provenientes de muestras de papa de México y Perú es más compleja y parece ser la combinación de las formas A y C con dos bandas adicionales de origen desconocido que no se presentan en otros aislamientos. Goodwin (54) concluye que la estrecha asociación entre las formas del genotipo del hongo en el ADN mitocondrial e isoenzimas, indican que es probable que la reproducción sexual no ocurra dentro de estas poblaciones aunque los tipos de apareamiento, A1 y A2, estén presentes (55).

## 2.5 Tipos de resistencias

### 2.5.1 Resistencia vertical

La resistencia vertical es aquella controlada por genes mayores dominantes -también llamados genes R- de herencia mendeliana simple, que generalmente resultan fáciles de manejar en los programas de mejoramiento. Esta resistencia tiene la desventaja de no ser durable ya que actúa solamente contra las razas no compatibles del hongo y no así contra las compatibles. Turkensteen (119) señaló que este tipo de resistencia no puede ser considerada durable ya que la vida útil de un gen R, dura entre 5 a 7 años a partir de su introducción. Esta resistencia es vencida con relativa facilidad por mutación o recombinación sexual del hongo (1, 6, 82, 119).

Se le conoce también como resistencia vertical específica, racial, cualitativa, de genes mayores, monogénica u oligogénica (85, 101). En este tipo de resistencia se evidencia el postulado de "gen por gen" (38) que señala que por cada gen de resistencia del hospedante, el hongo puede tener un gen de virulencia que supera el gen de resistencia y produce compatibilidad entre el hongo y el hospedante. Esto quiere decir que los genes en el hospedante que condicionan reacción de resistencia o susceptibilidad sólo pueden ser identificados por su interacción con aislamientos específicos del hongo (82, 125) (Cuadro1).

Las razas que son capaces de infectar a genotipos resistentes son llamadas razas compatibles y aquellas que inducen a una reacción de hipersensibilidad son llamadas razas incompatibles. Robinson (101) señala que las principales características que evidencian la resistencia vertical en la planta de papa son la completa ausencia de parasitismo y la presencia de lesiones necróticas microscópicas localizadas en las hojas por la reacción de hipersensibilidad.

**Cuadro 1.** Sistema internacional de genes para resistencia a *P. infestans* en papa y los genes correspondientes para virulencia en razas del patógeno (6).\*

Hospedantes diferenciales (gen de resistencia)	Razas de <i>P. infestans</i> (genes de virulencia)												
	0	1	2	3	4	1.2	1.3	1.4	2.3	2.4	3.4	1.2.3	1.3.4
R1	-a	+a	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
R2	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
R3	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+
R4	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+
R1R2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
R1R3	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
R1R4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
R2R3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
R2R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
R3R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
R1R2R3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
R1R2R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R1R3R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
R1R2R3R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
r	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* Solamente están indicadas algunas de las posibles combinaciones de los genes R de resistencia y virulencia.

a. Infección de diferenciales de *Solanum demissum* con *Phytophthora infestans*, resultando en una interacción compatible (+) o en una reacción incompatible (-).

La hipersensibilidad es básicamente inducida después de la formación del haustorio por el hongo en las células invadidas (95). La reacción de hipersensibilidad generalmente está acompañada por la acumulación de fitoalexinas alrededor de la lesión necrótica, en donde la muerte de las células de la planta de papa precede a la muerte de las células del hongo, lo cual indica que la necrosis de las células vegetales es la causa de la resistencia.

La hipersensibilidad involucra el reconocimiento a nivel bioquímico, citológico y fisiológico; así como alteraciones morfológicas en las células adyacentes a las invadidas por el patógeno y la activación de la síntesis de componentes físicos y químicos que funcionan como barreras a la dispersión y finalmente al confinamiento efectivo del patógeno (53).

Doke, citado por López (80), encontró que la presencia de una raza incompatible de *P. infestans* induce la formación de superóxidos en los tejidos de una variedad de papa resistente. Este compuesto por sí mismo no muestra actividad antibiótica, pero es responsable de la reacción hipersensitiva y de la biosíntesis de fitoalexinas. Las fitoalexinas de la papa son compuestos de sesquiterpenos y de éstos los que son considerados de mayor importancia para la resistencia a *P. infestans* son la rishitina, lubimina y phytuberina (121). La cantidad de superóxidos producidos por el tejido de

papa es mayor en combinaciones papa - *P. infestans* incompatibles que en las combinaciones compatibles.

La resistencia vertical está estrechamente relacionada con la virulencia del hongo, que es la cuantificación de la patogenicidad caracterizada por la presencia de interacciones entre los genotipos del hongo y los genes R de la planta. El número de razas con interacción diferencial es limitado por el número de genes de resistencia (95).

En la actualidad se han identificado 11 genes R provenientes de la especie silvestre de papa *S. demissum*, originaria del valle de Toluca en la meseta central de México, los cuales han sido llamados R1-R11. Sin embargo, se han identificado más razas específicas con genes dominantes de otras especies de *Solanum*. Por esta razón, no se conoce el número exacto de genes R que frecuentemente son utilizados en mejoramiento, pero lo más acertado es que exceden de 11 (33, 41). Si se consideran dos alelos por locus todas las combinaciones teóricas posibles  $(2)^{11}$  producirán 2048 razas posibles del hongo (62).

Niederhauser (92) reporta que en México se han identificado más de 15 genes R, la mayoría provenientes de la especie silvestre *S. demissum* y unos pocos de *S. stoloniferum*; cada uno de estos genes R posee su correspondiente gen de virulencia en *P. infestans*. Este es el mayor número de razas del registrado en cualquier otro

país debido a la coexistencia a través del tiempo entre plantas de papa y las poblaciones del hongo nativas, lo cual ha creado la más compleja relación genética en el patosistema papa - *P. infestans* (62,102).

La determinación de todas las razas del patógeno se ve imposibilitada por: a) la dificultad práctica de obtener una muestra mundial adecuada de todos los biotipos silvestres y cultivados del hospedante, b) si es posible lo anterior, esta información es inadecuada después de cierto tiempo por la gran variación en las poblaciones del patógeno y su hospedante (60,85).

La introducción de genes R en los materiales de mejoramiento genético, trajo consigo el cambio de las poblaciones del hongo hacia un predominio de razas compatibles y consecuentemente la duración breve de la resistencia en las nuevas variedades liberadas (58).

Debido a la alta variabilidad de la virulencia del hongo, los fitomejoradores desde el año 1950 abandonaron el uso de los genes R, a pesar de que éstos se encuentran ampliamente distribuidos en los materiales de mejoramiento por el uso extensivo de *S. demissum* (75).

### 2.5.2 Resistencia horizontal

Es la resistencia que no implica una interacción gen por gen y se encuentra uniformemente distribuida contra todas las razas del patógeno (124). La resistencia horizontal es la que involucra diversos mecanismos de resistencia gobernada por varios genes de herencia cuantitativa (51, 95).

Es estable y no está dirigida a detener el desarrollo de nuevas razas sino a reducir el daño que las razas existentes puedan ocasionar. Su estabilidad es atribuida a la capacidad de mantener un balance entre todas las razas del hongo presentes en una localidad (101). En general, el rango de resistencia horizontal de los cultivares es independiente del genotipo del patógeno (95).

También se le conoce como resistencia de campo, durable, general, no específica, lateral, cuantitativa, resistencia de genes menores, poligénica o de genes múltiples (60, 58,91,95,119, 124). Desde 1973, el programa de mejoramiento genético para resistencia al tizón tardío de la papa del Centro Internacional de la Papa (CIP), orientó sus actividades exclusivamente a la búsqueda de resistencia general o de campo (14).

Esta resistencia está controlada por una serie de genes de carácter aditivo y herencia cuantitativa, y que interactúan frente al hongo uniformemente sin causar una interacción diferencial con los genes R de la planta (101). Cuando el hongo *P.*

*infestans* ataca a plantas de papa con resistencia horizontal, los aislamientos difieren significativamente en el grado y severidad de las lesiones causadas en las plantas. La resistencia horizontal puede no prevenir completamente la patogénesis pero si suprimir adecuadamente la enfermedad (126).

Se asume que la resistencia horizontal está controlada por una serie de genes menores o poligenes que protege a las plantas contra todos los variantes del hongo. La serie de genes menores asociados con características morfológicas y fisiológicas de la planta determinan el grado de susceptibilidad y la presencia de lesiones en el follaje (51).

La resistencia horizontal es de naturaleza hereditaria cuantitativa y es gobernada por un número grande y desconocido de genes con efectos pequeños y de carácter aditivo (7). Estos genes son independientes y por separado son ineficaces para contrarrestar los efectos del patógeno, sin embargo, en conjunto y en forma concertada ofrecen una resistencia horizontal significativa (122). La resistencia horizontal en una población segregante se reconoce por presentar una distribución continua, entre individuos susceptibles y resistentes (70, 95).

Se han descrito varios componentes de resistencia horizontal, destacando los siguientes: a) resistencia a la entrada del patógeno o infección, b) resistencia al crecimiento y desarrollo del hongo dentro de la planta, c) reducción de la

esporulación del patógeno, y d) incremento del período de latencia del hongo (17, 91, 101, 125).

A continuación se describen los mecanismos y reacciones bioquímicas de algunos componentes de resistencia horizontal al tizón tardío de la papa:

#### **2.5.2.1 Resistencia a la infección**

Se caracteriza por un menor número de lesiones causadas por una cantidad fija de inóculo, debido a la resistencia de la cutícula y de las células de la epidermis a la fuerza mecánica y/o a la acción de las enzimas secretadas por el hongo. Se reporta que el engrosamiento de la pared celular de las células del mesófilo foliar de la planta de papa comienza inmediatamente después de la formación de las hifas de infección del hongo en su superficie foliar (1, 53).

#### **2.5.2.2 Período de latencia o pre-reproductivo**

Es el tiempo que transcurre entre la infección y la producción de propágulos en el sitio infectado. Las plantas de papa adquieren resistencia al ataque de *P. infestans* incrementando el tiempo requerido para completar el período de incubación (11,132). Los genes que determinan el período de latencia son los mismos que resultan en una reducción en la frecuencia de infección y menor tamaño de lesiones y por lo tanto reduce la producción de esporas (11). Estudios realizados en Ecuador sobre

componentes de resistencia horizontal en la especie de papa diploide *S. phureja*, indicaron que sólo para esta especie el período de latencia es considerado de importancia para la evaluación de la resistencia horizontal (24).

### **2.5.2.3 Crecimiento lento de la lesión**

Los genes de resistencia reducen la tasa de desarrollo de la enfermedad por la actividad de las sustancias de las hojas que inhiben la germinación de las esporas, la penetración y el desarrollo del micelio en el tejido. La resistencia también puede ser conferida por una restricción de la cantidad de tejido que es colonizado desde un sitio único de infección (20,53).

### **2.5.2.4 Esporulación reducida**

La esporulación es reducida debido a un menor número de estomas o falta de sustancias nutritivas en la planta que son requeridas por el hongo. López N. (80) menciona que el control genético de eventos fisiológicos está involucrado en la resistencia horizontal y citando a Grainger, señala que la resistencia es mayor cuando la cantidad de carbohidratos es menor. La cantidad de carbohidratos está determinada por el balance entre la fotosíntesis por un lado y la respiración y crecimiento por el otro. También involucra el tamaño y número de los estomas.

#### **2.5.2.5 Formación de calosas o papilas**

Se ha reportado que en los estados tempranos de la penetración del hongo *P. infestans* en las células epidermales de la hoja de papa, entre la pared celular y la membrana plásmica se forman depósitos de calosa o papila (121). Al parecer las células producen estas papilas después de unos minutos de haber sido lesionadas por el hongo, las cuales se desarrollan y se saturan de sustancias fenólicas que finalmente cubren la hifa que está en elongación (122).

#### **2.5.2.6 Actividad de la peroxidasa**

En plantas de papa infectadas con el tizón tardío se ha detectado incremento en la actividad de una enzima oxidasa, la peroxidasa, correlacionándola con la resistencia horizontal. Esta enzima presente en el citoplasma celular, no solo oxida a los compuestos fenólicos, sino también acelera la velocidad de polimerización de esos compuestos en sustancias similares a la lignina, que se depositan en las paredes y papilas celulares e interfieren con el posterior crecimiento y desarrollo del hongo *P. infestans* (1,20,36,122).

#### **2.5.2.7 Actividad de la adenosinasa**

Está relacionada con la disminución de las reservas energéticas del patógeno debido posiblemente a la acción de la purina y adenina. En las plantas con resistencia horizontal, una marcada inhibición del crecimiento hifal en presencia de la adenina, la

acumulación de la purina y la adenina en hojas con tizón en el campo y la presencia de la enzima adenosinasa que cataliza la separación de adenosina a adenina y ribosa en las plantas de papa con lesiones, forman la base de un sistema para estimar los niveles de separación de la adenosina con relación a la resistencia al tizón tardío (20). A pesar que la relación entre la actividad de la adenosinasa en la planta y la resistencia a la invasión por el hongo tiende a disminuir durante y después de la fase de floración, existe una alta correlación entre este parámetro con la fase de prefloración (20).

#### **2.5.2.8 Actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL)**

Esta enzima presenta una mayor actividad o una nueva síntesis en los tejidos enfermos en respuesta a la infección por el tizón tardío. La PAL es una enzima vital en la producción de la molécula básica que se utiliza para la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos, entre éstos las fitoalexinas y la lignina; ambas relacionadas directamente con la resistencia al tizón tardío (20, 53).

Parlevliet (95) considera que la resistencia general por su naturaleza poligénica es afectada por factores ambientales locales especialmente la temperatura, humedad relativa, humedad del suelo, intensidad de luz y el fotoperiodo, con variaciones en las condiciones de la planta como el estado de desarrollo, edad del tejido afectado, altura de la planta, densidad de siembra y la nutrición de la planta. Así, Falconer (35)

considera que el estudio de la interacción genotipo ambiente es un componente de gran importancia en la cuantificación de la resistencia horizontal.

En el patosistema papa - *P. infestans* se evidencia una fuerte asociación entre la resistencia horizontal con ciclos de cultivo largos; es decir, nunca se han observado cultivares muy precoces con altos niveles de resistencia horizontal (95).

## **2.6 Interacción de resistencia vertical con resistencia horizontal en campo**

Tal como se ha mencionado, las principales fuentes de resistencia tanto para resistencia vertical como horizontal se han obtenido en gran parte de la especie *S. demissum*, es por ello que, los dos tipos de resistencia -por genes R y genes menores- están frecuentemente presentes en la mayoría de los materiales genéticos de los programas de mejoramiento para resistencia horizontal (58). Vanderplank en 1963 (124) analizó los problemas de la interacción entre la resistencia cualitativa y cuantitativa.

La resistencia horizontal puede estar presente en muchas especies de papa, incluso en las especies mexicanas pero, pueden también tener genes R. Estos genes cuando están presentes frecuentemente interfieren con el reconocimiento y selección precisa de la resistencia horizontal o de naturaleza cuantitativa (26). El efecto de un gen

mayor y la resistencia por genes menores pueden ser confundidos en algunos casos especiales cuando los genes R simulan resistencia horizontal (68).

Utilizando plantas diferenciales con un grupo de genes R e infectadas con el hongo *P. infestans*, se observó que en todos los casos no es posible distinguir la resistencia debido a genes R de la resistencia por genes menores; ésto podría ser la razón por la cual algunos clones seleccionados como resistentes en Toluca, México, donde el tizón tardío es endémico, se expresen como susceptibles en otras localidades -éstas son Costa Rica y Panamá- ya sea inicialmente o luego de su establecimiento como variedades (15).

Cuando los dos tipos de genes -mayores y menores- están presentes en el material genético, una rigurosa clasificación por resistencia tiende a seleccionar genes mayores pero, una selección menos intensa, favorece tanto a los genes mayores como menores (95). Los síntomas variables que se visualizan en las plantas de papa con genes R, es un aspecto de gran importancia que se debe considerar en el desarrollo de resistencia.

Turkensteen (119) describió algunos efectos, por los cuales la interacción de los genes R con las razas del hongo presentes en el campo pueden conducir a evaluaciones equivocadas de la resistencia cuantitativa; éstos son:

### **2.6.1 Efectos enmascarados**

Los genes R confieren una resistencia total, dando la apariencia que las plantas están completamente libres del patógeno, también conocido como inmunidad o “efecto Vertifolia” (72). Este efecto fue observado por mejoradores del programa de resistencia al tizón tardío de la papa del CIP cuando algunos cultivares mexicanos fueron usados como padres, muchas plántulas fueron inmunes debido a la presencia de genes mayores, lo cual complicó la selección para resistencia horizontal (15).

Por estos efectos no es posible la selección para resistencia horizontal, como consecuencia de la falta de presión por el hongo para expresar la resistencia horizontal en el material genético. En general, con la presencia de razas compatibles los niveles de la resistencia horizontal son bajos.

### **2.6.2 Dilución de inóculo**

Este efecto es debido a la incompatibilidad entre las plantas de papa y las poblaciones del patógeno. Es decir, el genotipo del hospedante es portador de uno o más genes R o sus combinaciones, los cuales son incompatibles para una o más razas existentes en la población del hongo al que fue expuesto. El genotipo portador de los genes R es poco afectado, al igual que el genotipo sin estos genes; por consiguiente ambos

genotipos son seleccionados, lo que trae como consecuencia la contaminación por acumulación de genes R en la población mejorada (119).

Este efecto es observado en la prueba monocíclica de selección por tamizado de plántulas en invernadero. En esta prueba la carga óptima de esporas para un genotipo del hospedante está directamente relacionada con la proporción de esporas compatibles con su genotipo. El genotipo libre de genes R es afectado por el total de la carga de esporas, mientras que el genotipo portador de genes R, sólo es afectado por la proporción compatible de la carga de esporas de la población mejorada (119).

En ensayos de campo en pruebas policíclicas, también se presentan los efectos de dilución de inóculo, lo cual reduce la incidencia de la enfermedad en poblaciones de pocas plantas con genes R, sin embargo, existe un aumento en la velocidad epidémica del hongo al aumentar el número de plantas con genes R compatibles (16,17).

### **2.6.3 Retardo de la epidemia**

Este efecto está asociado con la relativa baja frecuencia de razas compatibles del hongo y con el correspondiente genotipo de la planta con genes R, o sea, un genotipo libre de genes R es afectado por cualquier raza del patógeno y un genotipo portador de genes R sólo es afectado por una raza compatible. Esto se presenta en la prueba policíclica de tamizado, que por lo general son ensayos de campo.

La baja proporción de razas compatibles en la población del hongo con la baja proporción de sus correspondientes genotipos compatibles en el hospedante, reduce la posibilidad de que se acoplen. En estos genotipos -portadores de genes R- como en los que están libres de genes R, los síntomas de la enfermedad se presenta más tarde con un menor desarrollo. Al igual que la dilución de inóculo, el retardo de la epidemia puede contaminar y acumular genes R en la población mejorada.

#### **2.6.4 Simulación de la resistencia horizontal**

Indudablemente los genes R interfieren con el reconocimiento efectivo de la resistencia horizontal. De acuerdo a Landeo y Turkensteen (72), algunos genes R simulan la resistencia horizontal al mostrar infección restrictiva frente a razas incompatibles.

Esta simulación de resistencia horizontal se presenta con los genes R2, R4, R10 y R11 y sus combinaciones y que en presencia de razas incompatibles desarrollan síntomas en el hospedante que pueden ser confundidos con los de resistencia horizontal (86). Lo que parece ser resistencia de campo en algunos clones, solamente es el resultado de la expresión de resistencia parcial de los genes arriba mencionados (17). Por consiguiente, se crean falsas expectativas de alta resistencia horizontal en materiales genéticos en condiciones de alta presión de la enfermedad (69, 74, 119).

A pesar que algunas de las interferencias presentadas por los genes R han sido superadas utilizando razas complejas compatibles, mejorando el manejo del inóculo, métodos de inoculación y las técnicas de campo; la incompatibilidad parcial presentada por algunos genes R frente a aislamientos incompatibles, llegan a confundirse con resistencia horizontal verdadera; retrasando de esta manera el progreso en la selección para resistencia horizontal (69). De igual forma, Landeo (69), señala que el principal problema para la selección efectiva de resistencia horizontal en la mayoría de los programas de mejoramiento del mundo, es la presencia de genes mayores en los materiales genéticos obtenidos de las principales fuentes de resistencia al tizón tardío.

## **2.7 Estrategia de mejoramiento genético para resistencia horizontal**

El mejoramiento para resistencia horizontal al tizón tardío de la papa se constituye en la mejor alternativa de manejo debido a la gran variabilidad natural del hongo *P. infestans* (110, 122, 129).

Landeo (68, 70, 71) ha utilizado dos estrategias de mejoramiento utilizando fuentes de resistencia introducida en materiales mejorados. La primera, el mejoramiento para resistencia horizontal en presencia de genes R (Población A) y la segunda en ausencia de genes R (Población B). Resultados recientes incluyen la selección de

clones sobresalientes por su estabilidad y altos niveles de resistencia horizontal, adaptabilidad a diversos ambientes, precocidad, alto potencial de rendimientos y por el alto contenido de materia seca; entre otras cualidades.

## 2.8 Utilidad de la resistencia horizontal

La adopción de prácticas agronómicas y culturales ayudan a reducir la diseminación del patógeno y a disminuir los riesgos de pérdidas del cultivo, sin embargo, las opciones de los agricultores de los países en desarrollo son muy limitadas. Si el ataque del hongo se hace muy severo, más aún por la reciente migración de nuevas variantes del patógeno, incluyendo sus dos tipos de apareamiento sexual -A1 y A2- creando estructuras infectivas adicionales y que germinan en el suelo (oosporas), las opciones serán aun más limitadas. Por ello, el uso de variedades resistentes se constituye en el componente más importante en el manejo de la enfermedad dentro del concepto de un manejo integrado (121).

Con el uso de variedades de papa con resistencia horizontal se ha logrado reducir significativamente el uso de fungicidas (reducción hasta del 80 por ciento), bajo una fuerte presión del patógeno en muchas zonas productoras de papa en el mundo (4, 23,24,39,52,88). Landeo <sup>69</sup> (70) reporta que con el uso de variedades resistentes, los costos de producción pueden ser reducidos en una magnitud del 23 por ciento; aproximadamente 416 millones de dólares a nivel mundial.

El manejo integrado del tizón tardío, basado en el uso de variedades con resistencia horizontal ha sido practicado en las tierras altas tropicales de Centro América (Costa Rica y Panamá), disminuyendo el 50 por ciento de aplicaciones de fungicidas -de 26 aplicaciones normalmente usadas con variedades tradicionales susceptibles- y con ello reducción de la contaminación de los agroecosistemas en cada ciclo de producción (97). Se ha constatado que las variedades resistentes liberadas en México ocupan una superficie importante con un 40 por ciento, en Costa Rica 25 por ciento y en Panamá un 20 por ciento del área total sembrada. Además, los materiales generados y liberados se destacan por un mayor rendimiento y en algunos casos con mejor calidad industrial (76).

En Perú, recientemente se estimó que productores que utilizaron variedades con resistencia horizontal al tizón tardío liberadas por el CIP, redujeron a cuatro aplicaciones comparadas a 12 que requerían las variedades susceptibles; esto equivale a una reducción de aproximadamente 66 por ciento del total de aplicaciones de fungicidas para el control del tizón tardío (70).

El uso de variedades con resistencia horizontal reduce los costos de producción al requerir menos aplicaciones de fungicidas, permite incrementar las áreas de producción al controlar la enfermedad e incrementar los rendimientos, reduce las poblaciones de *P. infestans* y disminuye el potencial de inóculo en el tiempo,

evitando el desarrollo de variantes resistentes a fungicidas. Además, con todos estos atributos es posible el manejo integral de la enfermedad, dentro de un marco de manejo sostenible, con miras a ofrecer a las futuras generaciones un ambiente con menos contaminación y un alimento de mejor calidad (37, 71, 98).

## **2.9 Pruebas de evaluación de la resistencia horizontal y su cuantificación**

La selección por resistencia implica que ésta debe ser estimada en la planta del cultivo hospedante. Lo ideal sería medir el crecimiento y desarrollo del patógeno y la cantidad del patógeno presente en los tejidos de la planta; sin embargo, no siempre es posible y práctico hacerlo ya que en muchos casos el patógeno no es visible o no hay relación entre la cantidad del patógeno presente y la cantidad de enfermedad. Es posible evaluar los efectos del patógeno sobre la planta susceptible y la resistencia cuantitativa de una población genética debe ser medida en términos relativos comparada con un cultivar susceptible (95).

Umaerus y Umaerus (121), reconocen la necesidad del uso de técnicas para evaluar resistencia, indicando que se puede realizar en plántulas expuestas al patógeno en el invernadero y plantas adultas que pueden ser evaluadas en el campo mediante la evaluación de la cantidad de daño ocasionado por el patógeno.

A continuación se detallan las principales pruebas para la evaluación y selección de material genético para resistencia horizontal al tizón tardío de la papa:

### **2.9.1 Prueba de plántulas**

El principal objetivo de la prueba en plántulas es la eliminación rápida de los genotipos indeseables o susceptibles, llevándose a cabo en experimentos uniformes con condiciones controladas. Las plántulas de 4 a 8 semanas de edad, que posean al menos dos hojas compuestas, son inoculadas con una suspensión de esporangios a una concentración de 4000 esporangios/ml de agua (58, 66).

### **2.9.2 Cámara de inoculación**

Esta prueba es muy eficiente para estimar la variabilidad genética y cuantificar la resistencia horizontal en material segregante. Este mecanismo de selección se basa en pruebas monocíclicas tamizando plántulas colocadas en bandejas. La inoculación de esporas del hongo se realiza en forma uniforme por planta, las cuales son colocadas en canastillas de alambre forradas con plástico para darle al hongo las condiciones óptimas de crecimiento y desarrollo. La temperatura de la cámara de inoculación se debe mantener de 18 a 20°C, con una humedad relativa de 100 por ciento y exposición a la luz por 24 h (51).

Luego de cuatro días de la inoculación se realiza la evaluación del área foliar destruida por *P. infestans*. Las plántulas sobrevivientes son cosechadas y mantenidas clonalmente para la posterior evaluación de resistencia horizontal en campo.

### 2.9.3 Prueba de invernadero

La prueba de invernadero se incluye en la mayoría de los programas de mejoramiento para resistencia (9,110,116). De acuerdo a García y colaboradores (50), la evaluación de la resistencia horizontal en invernadero ofrece las siguientes ventajas:

- a. Grandes poblaciones de plantas pueden ser inoculadas simultáneamente y su resistencia puede ser comparada bajo condiciones ambientales similares.
- b. El grado relativo de esporulación como un componente de la resistencia horizontal, puede ser estimado visualmente cuando el hongo es inducido a esporular sobre hojas infectadas en condiciones controladas de alta humedad relativa y temperatura adecuada.
- c. La inoculación natural por aspersión aérea del hongo puede ser simulada.
- d. Es un método muy económico que facilita la eliminación de plantas susceptibles.

En invernadero la cuantificación de la resistencia horizontal al tizón tardío es efectiva por medio de la prueba monocíclica de tamizado de plántulas y con pruebas policíclicas de plántulas distribuidas uniformemente en camas.

En la prueba de invernadero la selección para resistencia horizontal es dificultosa, pues se considera que la susceptibilidad de las plantas a la enfermedad cambia con la edad. En el patosistema papa, *P. infestans* se verifica una etapa de susceptibilidad juvenil durante el período de crecimiento (no se expresa plenamente la resistencia horizontal del material genético), seguida de un periodo de resistencia relativa en la planta adulta temprana (se expresa claramente la resistencia horizontal) y de susceptibilidad una vez alcanzada la madurez fisiológica (1,12,44).

Caligari y colaboradores (9) confirmaron que la prueba con plántulas en invernaderos provee indicios de la verdadera resistencia horizontal de progenies en planta adulta en campo, siempre y cuando el tamizado en las plántulas se realice en la edad apropiada.

#### **2.9.4 Prueba de campo**

En campo se estima el grado de resistencia horizontal del material genético, sometiéndolo a presión natural en condiciones de suficiente inóculo inicial para que la enfermedad sea uniforme y con condiciones climatológicas favorables para el desarrollo y reproducción del patógeno (51). Muchas veces no se puede predecir la ocurrencia del patógeno, lo cual se puede mejorar mediante la introducción de plantas o surcos esparcidores de la enfermedad (95). Además, se ha contemplado la infección artificial en el campo como una forma de asegurar que todas las plantas sometidas a

evaluación estén sometidas a la misma presión inicial (50). El comportamiento del material de mejoramiento para resistencia al tizón tardío se estima visualmente.

En la prueba de campo el rendimiento de cada clon o material de mejoramiento es utilizado como un criterio de selección. Este parámetro no es recomendado en los programas de mejoramiento genético para resistencia al tizón tardío, ya que el rendimiento es determinado por muchos factores y la resistencia por un solo factor; además, la capacidad de rendimiento y la resistencia son atributos totalmente independientes (18). Utilizando este método se obtienen mejores resultados comparando el rendimiento de clones con y sin protección de fungicidas (58).

Los métodos de selección de cultivares con resistencia horizontal en campo tiene grandes limitantes, destacándose entre éstas el espacio y los recursos disponibles, toda vez que detectar resistencia mediante evaluaciones detalladas en las plantas es una labor intensa y larga (3).

#### **2.9.4.1 Modelos matemáticos de epidemiología**

Para analizar mejor la epidemia del tizón tardío de la papa, Vanderplank (124) señaló que si las condiciones ambientales en campo son favorables para el desarrollo del patógeno, éste puede tener muchos ciclos infecciosos y producir más de un inóculo durante una sola campaña, característico de una enfermedad policíclica. Sus primeros

análisis se basaron en las tasas de infección y en la relación cantidad de inóculo - cantidad de enfermedad, por lo tanto, en las enfermedades policíclicas la cantidad de enfermedad es proporcional a la cantidad de inóculo inicial y al que se produce subsecuentemente. El hongo *P. infestans* se multiplica por generaciones sucesivas en el transcurso de la epidemia.

Para los análisis de las curvas de progreso se utilizan los mismos métodos y modelos del amplio campo de las curvas de crecimiento y dinámica de poblaciones, aunque recientemente se han desarrollado métodos y modelos especialmente adaptados para el estudio de enfermedades de plantas (11).

#### **2.9.4.1.1 Modelo logístico**

Una característica del tizón tardío es que el incremento de la enfermedad se realiza diseminándose de lesión a lesión y de planta a planta, por lo que Van der Plank propone la forma linealizada del modelo logístico para resumir matemáticamente el patrón de crecimiento de *P. infestans* en el tiempo. Este modelo ampliamente difundido es muy importante para el análisis temporal del progreso de las enfermedades y se adapta a muchas epidemias (11,78,125,132).

#### 2.9.4.1.2 Estimación de la tasa de infección

Van der Plank (125) indica que en el modelo logístico se incorpora la ecuación de regresión ( $Y = a + bx$ ), donde la tasa de desarrollo de la enfermedad no es más que la tasa de infección aparente ( $b$ ) -en epidemiología es  $r$ - porque lo que realmente se observa es el tejido aparentemente enfermo o sintomático. La tasa de desarrollo está definida por el coeficiente de regresión lineal determinando la inclinación de la recta (la pendiente) de las lecturas de área foliar afectada en el tiempo desde el establecimiento del experimento (11,58,132).

El grado de infección del área foliar de un material de mejoramiento es estimado en el tiempo durante una epidemia. Los resultados de estas estimaciones son resumidas en un parámetro, la tasa de infección. Actualmente la mayoría de los programas de mejoramiento genético para resistencia al tizón tardío de la papa utilizan el parámetro tasa de infección como un criterio de selección. La técnica consiste básicamente en la transformación logarítmica del porcentaje del área foliar destruida por el tizón tardío en cada evaluación. Se procede a relacionar los datos transformados con el tiempo y el coeficiente de regresión calculado se constituye en la tasa de infección (11,58,132).

El nivel de infección con el inóculo inicial y secundario, son considerados los factores determinantes de la enfermedad causada por *P. infestans*. Se asume que al aumentar el nivel de infección por la enfermedad, aumenta la tasa de desarrollo absoluto hasta

que esta tasa llega a un máximo. Si se infectan muchas plantas y grandes cantidades de tejidos a una tasa de desarrollo absoluto constante, disminuye el tejido a ser infectado y por consiguiente la tasa absoluta también disminuye (11).

#### 2.9.4.2 Escalas

La evaluación de la enfermedad del tizón tardío, es la labor más importante y probablemente la más difícil de realizar. Es la base para los análisis estadísticos e interpretación de las posibles interacciones. La estimación de la severidad es la evaluación más difícil y probablemente la que toma más tiempo de realizar pero, es la medida más importante para estudiar el patosistema papa - *P. infestans* en los aspectos relacionados a su manejo, dinámica de poblaciones y estimación de las pérdidas que causan, para cuya determinación es necesario conocer con el mayor grado de exactitud la fracción afectada o enferma (11,40,132).

Se han descrito una gran cantidad de escalas diagramáticas para evaluar la severidad de enfermedades en hojas o plantas individuales (11,63,65,132). Para la evaluación del tizón tardío de la papa Cruickshank y colaboradores (31) elaboraron una escala diagramática con categorías de 1 a 8 por incremento en la resistencia, basada en el porcentaje de tejido foliar afectado por planta, la cual fue preparada fotografiando y luego dibujando una planta representativa de la categoría.

Para evaluar un grupo de plantas o parcelas enteras, se han utilizado métodos rápidos, donde las escalas dividen el rango posible de enfermedad en un número definido de clases o categorías. La base de estas escalas es la ley de Weber & Fechner (61), la cual establece que la precisión visual es proporcional al logaritmo del estímulo y la hipótesis que plantearon es que el ojo humano ve realmente el tejido enfermo por debajo del 50 por ciento y el tejido sano superior a este porcentaje. Hebert (11) fue el primero en rebatir este argumento y recientemente se ha demostrado que la precisión y exactitud de esta escala es afectada por la forma de las partes de las plantas evaluadas (40).

Varias escalas se han utilizado para evaluar la infección al follaje por *P. infestans*, destacándose entre éstas:

- a. La escala de evaluación del porcentaje de follaje afectado propuesta por Van der Plank (124).
- b. Escala holandesa de 1 a 9 por incremento en la resistencia (127).
- c. Escala de clases o categorías de 1 a 9 introducida por el CIP en 1976 (16).
- d. Escala de categorías de 1 a 8 por incremento en la resistencia, elaborada por Malcolmson en 1976 (115).
- e. La escala de daños con los estados fenológicos de la planta (63).

- f. La escala de Horsfall & Barrat (61).
- g. La derivada de la estimación de follaje afectado, transformado al logaritmo.
- h. La derivada de la estimación de follaje afectado, transformado en unidades "logit" (17, 119).

Además, la evaluación del material genético con resistencia horizontal al tizón tardío se ha basado en la percepción del área foliar afectada, expresado en el tamaño y número de lesiones causados por el patógeno. Sin embargo, de acuerdo a Sherwood y colaboradores citado por Campbell y Madden (11) en las llamadas ilusiones o errores en la evaluación, consideran que el ojo humano discrimina las frecuencias de lesiones más fácilmente que el tamaño.

Recientemente, el uso de las escalas logarítmicas ha sido muy cuestionado debido a la falta de evidencias que confirmen la eficiencia de la escala de Horsfall & Barrat (40). Forbes (40) realizó un estudio comparativo de escalas, concluyendo que la evaluación del área foliar infectada en porcentaje de infección es más precisa y cumple con los atributos de todo buen esquema de evaluación; que son la exactitud, precisión y la reproducibilidad.

### 2.9.4.3 Curva de progreso de la enfermedad

Campbell y Madden (11) indican que los resultados de evaluaciones de la cantidad de una enfermedad presente en una población, pueden presentarse colectivamente como una curva de progreso de la enfermedad. La definen como la medida de la intensidad de la enfermedad comparada con el tiempo como variable independiente. La curva de progreso de la enfermedad representa la interacción entre hospedante, patógeno y efectos ambientales ocurridos durante la epidemia y ofrece una oportunidad de analizar, comparar y entender las epidemias de enfermedades de plantas.

Urbano y colaboradores (121) indican que el análisis de la curva de progreso de la enfermedad derivadas del porcentaje de infección, parece ser uno de los criterios de selección más económicos en términos de tiempo y fondos.

Berger y Jones (5) derivaron un modelo combinando el proceso de infección con el crecimiento de las plantas, concluyendo que la curva de crecimiento de las plantas, afectó la tasa y forma de la curva de progreso de la enfermedad. Por su lado Shaner y Hess (105) mencionan que el periodo pre-reproductivo o de latencia, que es el tiempo que transcurre entre la infección y la producción de propágulos en el sitio infectado, tiene efecto en la curva del progreso de la enfermedad y la extensión de la infección en el tiempo. Además, algunos propágulos no son inmediatamente infectivos cuando

entran en contacto con el tejido del hospedante y requieren pasar por otros estadios previos a la penetración (11).

Las lesiones al follaje de papa causadas por *P. infestans* pueden aparecer en varios días, semanas o meses después de la inoculación dependiendo del patosistema; de igual forma, la expansión de la lesión en relación al tiempo es otra variable que tiene efecto significativo en la curva de progreso de la enfermedad.

#### 2.9.4.4 Area bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC)

El área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC), es la integración de la intensidad entre dos tiempos y se utiliza cuando los modelos de desarrollo existentes no pueden explicar satisfactoriamente algunas epidemias de enfermedades. Entre algunas de estas causas tenemos las fluctuaciones de la tasa de desarrollo absoluto, forma irregular resultante tanto de la curva de progreso de la enfermedad como del gráfico de la enfermedad comparada con el tiempo (11, 132). El valor del AUDPC puede expresarse en términos absolutos y en unidades expresadas en proporción por día (11, ~~40~~, ~~42~~).

Colon y Budding (30) al estudiar la resistencia al tizón tardío en 10 especies silvestres de papa y estimando el grado de resistencia mediante el cálculo del AUDPC,

encontraron que ésta fue menor en cultivares moderadamente resistentes a diferencia de los susceptibles.

El AUDPC se torna en una herramienta de gran utilidad para la comparación estadística de una epidemia, a través de diversos parámetros tales como el inicio y final de la enfermedad, desviación estándar del error, análisis de variancia y multivariaciones. Estos parámetros pueden ser incorporados y describen una curva del progreso de la enfermedad. Se debe considerar el tiempo y la frecuencia de las evaluaciones ya que al reducir el intervalo de las evaluaciones, el estimado de las AUDPC serán más precisas (40).

Fry (42) reporta que para medir los efectos de la resistencia horizontal es más conveniente y confiable estimar el parámetro AUDPC que la tasa aparente de infección, ya que esta última requiere de transformaciones.

La evaluación de la resistencia horizontal en el follaje es considerada más importante que la resistencia horizontal en los tubérculos de papa por cuanto determina la tasa de desarrollo de la epidemia e influye en la tasa de infección de tubérculos (95). Por otro lado, la evaluación del periodo de latencia y esporulación dependen de las condiciones ambientales.

#### 2.9.4.5 Interferencias de parcelas

Para la evaluación de cultivares con resistencia horizontal al tizón tardío, se debe considerar las interferencias entre parcelas ya que trae consigo posibles efectos de confusión y con ello reducción en la precisión o confiabilidad de los resultados esperados. En parcelas adyacentes, la resistencia horizontal no se puede estimar en forma precisa especialmente cuando se trata de patógenos diseminados por el viento como *P. infestans*. La resistencia horizontal es estimada en forma más precisa en parcelas aisladas donde cada cultivar es separado por un cultivo no hospedante para prevenir la interferencia entre parcelas (95).

En el CIP (15) el efecto de la interferencia entre bloques resistentes y susceptibles (interferencia de bloques) en el desarrollo del tizón tardío, ha sido estudiado en experimentos utilizando técnicas de sensores remotos y observaciones de campo.

#### 2.9.4.6 Asociación entre las prueba de invernadero y campo

Parlevliet (95) menciona que la evaluación de la resistencia en plántulas de diversos cultivos en invernaderos es fácil de realizar, pero no representa a la prueba de resistencia en campo. Menciona que la expresión de la resistencia horizontal puede variar con el ambiente, con variaciones en las condiciones de la planta y con variaciones en las condiciones de la prueba como la cantidad de inóculo, tiempo de evaluación y disposición del experimento.

En pruebas de selección de cultivares provenientes de *S. demissum* en el estado de plántulas en invernadero, se presentó una alta frecuencia de infección, no así con plantas adultas en la prueba de campo (93).

Muller y Haigh (89) inocularon hojas de cultivares de papa con zoosporas del hongo *P. infestans*, tanto en condiciones de invernadero como de campo y al correlacionar ambas pruebas concluyeron que las mejores selecciones procedían de invernaderos.

Knutson, citado por Gastelo (51) al observar la reacción de variedades de papa a la raza cero de *P. infestans* en invernaderos y campo, concluyó que las plantas fueron más resistentes en invernaderos y que en el campo hay más esporulación y lesiones causadas por el hongo.

Brauer, citado por Gastelo (51) reportó que al infectar material genético de papa con *P. infestans* a nivel de invernaderos no encontró resistencia, perdiendo prácticamente todas sus progenies pero, en campo encontró mucha resistencia parcial.

Lapwood (77) para determinar los métodos de evaluación del desarrollo de *P. infestans* estudió la resistencia en un grupo de cultivares en laboratorio y campo, encontrando discrepancias entre las dos pruebas; concluyendo que entre otros factores, la concentración del inóculo influyen en los resultados.

Plaisted y colaboradores<sup>84</sup> (96) evaluaron en campo (Toluca, México) y en condiciones artificiales (Ithaca, USA) la resistencia al tizón tardío de clones de la especie *S. tuberosum* ssp. *andigena* provenientes de Sur América, encontrando clones con altos niveles de resistencia en ambas pruebas.

Sin embargo, Gastelo<sup>178</sup> (51) al evaluar la resistencia horizontal al tizón tardío de la especie *S. tuberosum* ssp. *andigena* en cámara de inoculación y campo, no encontró correlación entre estas pruebas, sugiriendo que el método de campo debe ser empleado para evaluar este tipo de resistencia.

Shingh y Birhman<sup>110</sup> estimaron a nivel de laboratorio la resistencia horizontal al tizón tardío, basándose en mediciones cuantitativas de los componentes de resistencia horizontal y comparándolas con las mediciones en campo, a través del uso de ecuaciones de regresión lineal múltiple, derivadas de las estimaciones del AUDPC en laboratorio y campo. La ecuación estimada en campo varió en 82 por ciento del AUDPC estimado en campo, cuya transformación de datos e introducción de más periodos de evaluaciones no mejoró significativamente la ecuación resultante.

Caligari y colaboradores (9) realizaron una prueba para evaluar la resistencia al tizón tardío en plántulas de papa en invernadero comparando el mismo material genético con su comportamiento en campo. Concluyen que el método propuesto ofrece

estimados confiables de la resistencia de la progenie en el invernadero, el cual puede ser usado para eliminar plántulas susceptibles de una población segregante.

Stewart y colaboradores (115, 116) reportan que la prueba para resistencia al tizón tardío en invernadero es válida solo si la resistencia expresada por las plántulas de papa es reflejo de la resistencia de la plantas adultas en el campo. Concluyen que en la prueba de invernadero es importante considerar las distancias de siembra y la edad de la planta a inocular (116).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 Ubicación geográfica**

##### **3.1.1 Laboratorio**

En el laboratorio del departamento de patología del CIP, ubicado en la Molina, Lima, Perú; se realizaron las actividades de manejo del patógeno (obtención y multiplicación del inóculo del hongo *P. infestans*).

Los materiales utilizados fueron: microscopio de luz, cámara aséptica, tanque con nitrógeno líquido para criopreservar el inóculo, tubérculos sanos de papa de la variedad susceptible Huayro, filtros con mallas de 10 y 30  $\mu\text{m}$ , envases plásticos (cámara húmeda), mallas metálicas, cuchillos, alcohol, mecheros, pipetas Pasteur, pinzas, bisturí, agua destilada y estufa eléctrica. Otro equipo utilizado fue la cámara de contaje Levy con rayado Neubauer y la cámara de incubación.

##### **3.1.2. Invernadero**

Las actividades se llevaron a cabo en invernaderos estructuras de ambiente controlado del CIP en La Molina, Lima, Perú.

### 3.1.3 Campo

Las pruebas de campo se establecieron en dos localidades de la sierra central de Perú, endémicas para la enfermedad del tizón tardío de la papa (Cuadro 2). La primera prueba en la localidad de Mayobamba, departamento de Huánuco y la segunda en la localidad de Comas, departamento de Junín.

### 3.2 Infraestructura utilizada

Los invernaderos que se utilizaron para la prueba eran de forma semicircular, sostenido por tuberías de PVC dobladas. Para proteger las plantas de insectos las paredes y techo estaban completamente cubiertas con mallas de 32 x 32 mesh.

Cada invernadero fue equipado con:

- Dos camas de 2 x 13 m, cuyo substrato era a base de arena, musgo y tierra en la proporción de 1:2:1.
- Equipo hidroneumático para brindar todas las condiciones favorables de humedad para el desarrollo del hongo *P. infestans*. El equipo completo estaba conformado por:
  - Tanque vertical de 80 gl de agua/150 PSI
  - Electrobomba centrífuga horizontal, monofásica, tipo inyector de 1 HP, 230 voltios

- Cargador de aire
- Manómetro para el control de presión (0 a 100 PSI)
- Mangueras de distribución de agua con 40 mm de diámetro
- 24 nebulizadores (microaspersores) para humedad, distribuídos uniformemente dentro del invernadero.

Además, se utilizó un compresor eléctrico de presión al vacío con 0.33 HP.

**Cuadro 2.** Características agroecológicas de las localidades donde se establecieron los experimentos.\*

Localidad	Latitud	Altitud (msnm)	Temperatura (°C/mes)	Precipitación (mm/mes)	Evapotranspiración (mm)
La Molina	12° 15' S	240	15.30	0.04	580.00
Mayobamba	10° 59' S	2760	15.60	422.50	1109.60
Comas	12° 07' S	2600	13.50	668.31	668.31

\* Fuente: CIP.

### 3.3 Materiales genéticos

Se utilizaron 35 familias segregantes del cruzamiento entre 35 clones parentales con resistencia horizontal libre de genes R de la población B3 del CIP (fuente más avanzada agrónomicamente) y la variedad nativa Huagalina (*S. tuberosum* ssp. *andigena*), como probador susceptible (Cuadro 3).

En el cuadro 4 se presenta la genealogía del parental hembra con resistencia horizontal libre de genes R.

**Cuadro 3.** Listado del material genético libre de genes R para resistencia a *P. infestans*, utilizado para el estudio de correlación entre las pruebas de invernadero y campo.

Hembra*	Macho**
387143.22	Huagalina
387164.4	Huagalina
387205.5	Huagalina
381400.22	Huagalina
387326.2	Huagalina
387231.7	Huagalina
387334.5	Huagalina
387169.2	Huagalina
387015.13	Huagalina
387415.49	Huagalina
386209.10	Huagalina
387136.14	Huagalina
387341.1	Huagalina
387315.27	Huagalina
387015.3	Huagalina
387132.2	Huagalina
387303.71	Huagalina
387170.6	Huagalina
387411.41	Huagalina
387411.40	Huagalina
387004.4	Huagalina
387410.7	Huagalina
387003.12	Huagalina
387002.11	Huagalina
386209.1	Huagalina
387205.8	Huagalina
382178.14	Huagalina
387170.16	Huagalina
386209.15	Huagalina
387415.32	Huagalina
387004.13	Huagalina
387015.12	Huagalina
387348.20	Huagalina
Progenie de Atzimba (testigo resistente)	
Progenie de Yungay (testigo susceptible)	

\* Libre de genes R.

\*\* Variedad susceptible, sin interferencia en la expresión de la resistencia horizontal.

**Cuadro 4.** Genealogía del progenitor hembra de las progenies segregantes de papa estudiadas.

Clon	Genealogía	
	Progenitor femenino	Progenitor masculino
387143.22	381133.7	575049
387164.4	382171.10	575049
387205.5	381397.16	I- 1039
381400.22	377986.787	Bulk Mex.
387326.2	382140.8	C-83911
387231.7	382133.7	I-1039
387338.3	382160.30	C-83119
387170.9	382182.10	575049
387334.5	382155.2	C-83119
387169.2	382181.27	575049
387015.13	382171.26	7 xy-1
387415.49	380496.6	AVRDC 1287.19
386209.10	380479.15	Bulk precoz/84
387136.14	382121.25	575049
387341.1	382169.21	C-83119
387315.27	382121.25	C-83119
387015.3	382171.26	7 xy-1
387132.2	382119.6	575049
387303.71	381403.1	C-83119
387170.6	382182.10	575049
387411.41	I-1039	AVRDC 1287.19
387411.40	I-1039	AVRDC 1287.19
387004.4	381381.20	7 xy- 1
387410.7	I-931	AVRDC 1287.19
387003.12	381381.9	7 xy-1
387002.11	381378.22	7 xy-1
386209.1	380479.15	Bulk precoz/84
387205.8	381397.16	I-1039
82178.14	380112.3	Bulk Mex.
87170.16	382182.10	575049
86209.15	380479.15	Bulk precoz/84
87415.32	380496.6	AVRDC 1287.19
87004.13	381381.20	7 XY-1
87015.12	382171.26	7 xy-1
87348.20	382181.27	C-83119

### 3.4 Manejo del patógeno

#### 3.4.1 Obtención de inóculo de *P. infestans*

El inóculo utilizado fue la raza cero (previamente identificada por el método de plantas diferenciales) obtenida del laboratorio. Este se encontraba almacenado en nitrógeno líquido, en “vial” (microtubos plásticos) como una suspensión densa de esporangios a -190°C (criopreservación).

La raza cero (avirulenta) se utilizó en los invernaderos únicamente para confirmar que las familias segregantes estaban libres de genes R para resistencia a *P. infestans*.

#### 3.4.2 Multiplicación de inóculo

- Se seleccionaron tubérculos de papa de la variedad susceptible (Huayro) de tamaños medianos, sanos y que no estuviesen verdes. Los tubérculos se lavaron completamente y se dejaron secar.
- La superficie de los tubérculos fueron esterilizados sumergiéndolos en alcohol al 70 por ciento por unos pocos segundos y luego flameados.
- Con un cuchillo esterilizado (con alcohol y flameado) se procedió a cortar discos de tubérculos de papa de 1 cm de grosor. Cada disco puede tener dos superficies cortadas y la parte anterior y posterior de los tubérculos fueron descartados.
- Dentro de envases plásticos conteniendo una pequeña cantidad de agua se colocaron los discos de papa sobre soportes de metal (cámara húmeda).

- Dos gotas de suspensión de esporangios provenientes de criopreservación, fueron colocadas en los discos de papa y los envases plásticos fueron cerrados herméticamente e incubados de 15 a 18°C por una semana.

### 3.4.3 Colecta de esporangios

- Los esporangios fueron lavados de la parte superior del disco de papa esporulante con agua destilada y pasados a través de un filtro de 30  $\mu\text{m}$ , eliminando de esta forma el micelio y otras partículas (Figura 2).
- El filtrado fue pasado nuevamente a través de un filtro de 10  $\mu\text{m}$  que atrapa los esporangios, los cuales se lavaron con abundante agua limpia. Posteriormente se colectaron los esporangios de este filtro con una pequeña cantidad de agua destilada o esterilizada (Figura 3).
- Finalmente, la concentración de 3000 esporangios/ml de agua requerida para la inoculación de la raza cero de *P. infestans* a las plantas de papa en los invernaderos fue estimada utilizando la Cámara de contaje Levy con rayado Neubauer.

## 3.5 Manejo del material genético

### 3.5.1 Invernadero

Las plántulas por familia segregante provenientes de semilla sexual fueron germinadas y crecidas individualmente en pequeñas macetas prefabricadas (Jiffis stip), cuyo substrato contiene todos los elementos químicos requeridos para el

crecimiento de las plántulas de papa. Transcurridos 40 días, éstas se trasplantaron a camas de 2 x 13 m (dos por invernadero); las cuales contenían como substrato arena, musgo y tierra en la proporción de 1:2:1.

Para la prueba se utilizaron cuatro invernaderos y las distancias de siembra entre hileras y plantas fueron de 0.25 x 0.20 m. Las labores culturales y el manejo de plagas se realizaron de acuerdo a las recomendaciones del CIP.

Dentro de los invernaderos se dieron todas las condiciones favorables para el desarrollo de *P. infestans* tales como riego con microaspersores después del trasplante de acuerdo a las necesidades fisiológicas. Después de la inoculación de las estructuras propagativas del patógeno éstos son los esporangios el riego fue a diario, 30 min por la mañana y 30 min durante la tarde (Figura 4).

La inoculación de esporangios con la raza cero del hongo a las familias segregantes, se realizó durante la octava semana después del trasplante. Esta se realizó con un compresor eléctrico cuya presión al vacío fue de 3 lb/plg<sup>2</sup>, dirigida al envés de todos los foliolos por planta (Figura 5).

La prueba de invernadero se realizó en el periodo noviembre de 1995 a febrero de 1996.



**Figura 2.** Disco de papa de la variedad susceptible Huayro con micelio esporulante del hongo *P. infestans*.



**Figura 3.** Colecta de esporangios utilizando filtros de 30  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$ .



**Figura 4.** Riego con microaspersores a las plántulas de papa para brindar las condiciones óptimas para el desarrollo de *P. infestans*.



**Figura 5.** Inoculación de esporangios con la raza cero de *P. infestans* realizada con un compresor eléctrico a 3 lb/plg<sup>2</sup>, dirigida al envés de todos los folíolos por planta.

### 3.5.2 Campo

Los experimentos de campo se condujeron bajo infección natural y se utilizó la variedad susceptible Yungay como dispersor de inóculo de *P. infestans*. Por cada tres surcos de las familias segregantes se sembró un surco con la variedad Yungay, al igual que en todo el contorno y entre los bloques (Figura 6).

El diseño para la evaluación de plantas por familia segregante con resistencia horizontal al tizón tardío en campo, fue el siguiente (58,68):

```

+++++
OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO++OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO
OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO++OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO
OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO++OOOOOOOOOOOOOOOOOOOO
+++++

```

+ : dispersor de inóculo (variedad susceptible)

O : plantas de familias segregantes

Las plantas por familia fueron producidas por la técnica de multiplicación rápida conocida como esquejes de tallo juvenil, los cuales crecieron en macetas individuales conteniendo como substrato arena musgo y tierra en la proporción de 1:2:1. Los esquejes fueron producidos en invernaderos ubicados en la estación experimental del CIP en Santa Ana, Huancayo, departamento de Junín. Al transcurrir 50 días fueron trasplantadas al campo (Figura 7).

Las distancias de siembra entre surcos y plantas fueron de 1.0 x 0.50 m. Cada surco con 17.5 m de largo y 35 plantas. Las labores culturales y el manejo de plagas del cultivo se realizaron según recomendaciones del CIP.

La prueba de campo en la localidad de Mayobamba, Huánuco se realizó en el período octubre de 1996 a marzo de 1997 y en la localidad de Comas en Junín fue de marzo de 1997 a julio de 1997.



**Figura 6.** Contorno del experimento de campo con la variedad de papa susceptible, Yungay, como dispersor de *P. infestans*.



**Figura 7.** Establecimiento de la prueba de campo donde las progenies segregantes fueron distribuidas de acuerdo al diseño estadístico BCA.

### 3.6 Evaluación de la resistencia horizontal a *P. infestans*

#### 3.6.1 Escala de evaluación

Para la evaluación de la infección al follaje causado por el hongo *P. infestans* se utilizó una escala arbitraria en porcentaje, donde 0 es igual a la planta sana y 100 corresponde a la planta muerta (40).

#### 3.6.2 Invernadero

Se estimó el porcentaje del área foliar infectado por semana a partir de los siete días después de la inoculación. Se realizaron tres evaluaciones por planta en la repetición I y dos evaluaciones en la repetición II. Se utilizó la segunda evaluación en ambas repeticiones como la lectura crítica de infección arbitrariamente definida (LB2). Luego se calculó los promedios por familia en base a las lecturas individuales para los análisis respectivos. Asimismo, el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) fue calculado (Figura 8).

Los promedios de infección de las progenies fueron agrupados en seis categorías de infección foliar para asociarlas luego con el comportamiento del mismo grupo en el campo a través del AUDPC (116).

A continuación se describen las categorías de infección al tizón tardío de las familias con base al promedio de su infección en porcentajes:

Categoría	Area foliar infectada (%)
1	50-55
2	56-60
3	61-65
4	66-70
5	71-75
6	76-80

La categoría 1 representaba el promedio de las familias con menor infección foliar y la categoría 6 a las familias con infección foliar más severa.



**Figura 8.** Plántula de papa con tizón en el follaje y en el tallo causado por el hongo *P. infestans*.

### 3.6.3 Campo

En los experimentos de campo, durante el desarrollo vegetativo las plantas se protegieron desde la emergencia con tres aplicaciones del fungicida de contacto Mancozeb hasta los 40 días; luego se hicieron las evaluaciones semanales a partir de la octava semana, registrándose el porcentaje de área foliar afectada. En cada localidad se realizaron siete evaluaciones por planta, calculándose luego el AUDPC promedio por familia, como parámetro de resistencia y se utilizó para las pruebas de correlación.

Para el cálculo del AUDPC se utilizó la siguiente fórmula (11,40,42,68):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left( \frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} \right) (X_{i+1} - X_i)$$

Donde:

$Y_i$  = porcentaje del área foliar afectada por *P. infestans* en el día  $i$  después de la siembra.

$Y_{i+1}$  = porcentaje del área foliar afectada por *P. infestans* en el día  $i+1$  después de la siembra.

$X_{i+1} - X_i$  = número de días transcurridos de la primera evaluación del área foliar afectada a la segunda evaluación.

$n$  = número total de evaluaciones.

### 3.7 Cosecha

La cosecha se hizo al completar cada progenie segregante su ciclo biológico.

### 3.8 Análisis estadísticos

#### 3.8.1 Diseño experimental

El diseño experimental utilizado tanto en los experimentos de invernadero como los de campo fue el de Bloque Completo al Azar (BCA), con dos repeticiones.

#### 3.8.2 Modelo aditivo lineal

El modelo aditivo lineal para el diseño BCA es:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_j + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = es la observación del tratamiento i, en el bloque j.

$\mu$  = la media general

$\tau_i$  = efecto del tratamiento i

$\beta_j$  = efecto del bloque j

$\varepsilon_{ij}$  = error residual del tratamiento i y del bloque j.

El modelo aditivo lineal para el diseño BCA combinado es el siguiente:

$$Y_{m(ij)} = \mu + \tau_i + \beta_j + \tau\beta_{ij} + \varepsilon_{m(ij)}$$

Donde:

$Y_{m(ij)}$  = es la observación m en la localidad j del tratamiento i.

$\mu$  = la media general

$\tau_i$  = efecto del tratamiento i

$\beta_j$  = efecto de la localidad j

$\tau\beta_{ij}$  = error experimental del tratamiento i y la localidad j.

$\varepsilon_{m(ij)}$  = error del combinado de la observación m en la localidad j y el tratamiento i.

### 3.8.3 Análisis de variancia

#### 3.8.3.1 Invernadero y campo

Para el análisis de variancia de invernadero se utilizaron los valores promedios por familia de la segunda lectura del porcentaje de infección foliar (LB2), también se utilizó el AUDPC. Para el campo, el análisis de variancia se hizo en base al AUDPC promedio por familia.

**Cuadro 5.** Análisis de variancia para el diseño BCA para la prueba de invernadero y campo. Modelo al azar.

Fuentes de variación	GL	CME (E)
Repetición	r-1 = 1.	$\delta_e^2 + f\delta_r^2$
Familia	f-1 = 34	$\delta_e^2 + r\delta_f^2$
Error experimental	(r-1) (f-1) = 34	$\delta_e^2$
Total	rf-1 = 69	

Donde:

$\delta_r^2$  = variancia debida a las repeticiones

$\delta_f^2$  = variancia debida a las familias

$\delta_\varepsilon^2$  = variancia común del error

**Cuadro 6.** Análisis de variancia para el diseño BCA, para el combinado de campo. Modelo al azar.

Fuentes de variación	GL	CME (E)
Repetición por localidad	1 (r-1) = 2	
Localidad	1-1 = 1	
Familia	f-1 = 34	$\delta_\varepsilon^2 + r\delta_{fl}^2 + rl\delta_f^2$
Familia x localidad	(f-1) (1-1) = 34	$\delta_\varepsilon^2 + r\delta_{fl}^2$
Error experimental	1 (f-1) (r-1) = 68	$\delta_\varepsilon^2$
Total	rf1 = 139	

Donde:

$\delta_r^2$  = variancia debida a las repeticiones

$\delta_l^2$  = variancia debida a las localidades

$\delta_f^2$  = variancia debida a las familias

$\delta_{fl}^2$  = variancia debida a la interacción familia x localidad

$\delta_\varepsilon^2$  = variancia común del error

Los testigos no se incluyeron en el análisis ya que en invernadero se utilizaron para verificar la viabilidad del inóculo y en campo el testigo susceptible fue utilizado como dispersor del inóculo natural.

### 3.8.3.2 Homogeneidad de variancias para el análisis combinado de campo

La prueba de homogeneidad de variancias de los experimentos de campo se realizó para decidir si procedía efectuar el análisis combinado de las dos localidades usando para esto la mayor parte de los resultados de los análisis individuales.

Para ello se realizó la prueba de homogeneidad de errores de Snedecor y Stevens, por medio de las siguientes fórmulas (10,111,114):

$$\text{Variancia calculada} = \frac{\sum E_i^2 - \frac{(\sum E_i)^2}{n}}{n-1}$$

$$\text{Variancia teorica} = 2G \left[ \frac{\sum E_i}{nG} \right]^2$$

$$\chi^2 = (n-1) \left[ \frac{\text{Variancia calculada}}{\text{Variancia teorica}} \right]$$

Donde:

G= grados de libertad del error (es igual para cada experimento)

$E_i$ = suma de cuadrados del error de cada experimento

n= es el número de experimentos

Nótese que la distribución de  $\chi^2$  utiliza (n-1) de grados de libertad.

Si el valor calculado de  $\chi^2$  supera al valor tabular (P=0.05) indica que hay diferencias significativas; si es menor, que hay suficiente homogeneidad como para permitir hacer el análisis combinado.

#### 3.8.4 Correlaciones

Las correlaciones se hicieron utilizando los valores promedios de LB2 y AUDPC por familia, obtenidos en invernadero y con los valores promedios del AUDPC por familia en cada localidad (Mayobamba, Comas) y con el combinado de campo, agrupados de acuerdo a las categorías establecidas en base a la infección foliar. Se utilizó el orden jerárquico de los promedios de las familias, tanto en invernadero como en campo. Estas asignaciones jerárquicas se asociaron siguiendo el método no paramétrico de Spearman (59, 111, 114).

Los coeficientes de correlación de rangos de Spearman resultantes indican el grado de estrechez o asociación entre los resultados promedios obtenidos en invernadero con los de campo. Este coeficiente siempre estará entre -1 y +1, en el cual valores

positivos indican una tendencia de aumento de ambas variables (invernadero y campo). Cuando los coeficientes son negativos, grandes valores de una variable (invernadero) están asociados con valores pequeños de la otra variable (campo) (59, 111, 114).

Todos los análisis y comparaciones estadísticas programadas fueron realizados utilizando el programa estadístico Statistic Analysis System (SAS) (103). Finalmente se confeccionaron diagramas de la asociación resultante entre los valores promedios de las variables estimadas en invernadero con los de campo para visualizar su dispersión.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Prueba de invernadero

En los cuadros 7 y 8, se muestran los análisis de variancia del porcentaje de área foliar afectada por *P. infestans* por progenie segregante en el invernadero de la segunda lectura de infección foliar después de la inoculación (LB2) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) calculada, respectivamente. Los coeficientes de variación resultantes para LB2 y AUDPC fueron 22.54 y 28.51 por ciento, respectivamente.

En invernadero todas las progenes segregantes evidenciaron síntomas de tizón en el follaje como expresión de la resistencia horizontal, confirmándose la utilidad de la metodología de inoculación con la raza cero de *P. infestans* propuesta por Landeo (68), para discriminar entre genotipo portador de genes R de los que poseen resistencia horizontal libre de genes R. En invernadero los parámetros LB2 y el AUDPC para la fuente de variación familia no presentaron diferencias estadísticas entre sí.

**Cuadro 7.** Análisis de variancia del porcentaje de infección foliar (LB2) de las progenies segregantes en invernadero. La Molina, Lima, Perú.

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Prob > F
Repetición	1	8624.70	8624.70	0.001
Familia	34	5292.77	155.67	0.879
Error	34	7947.80	233.76	
Total	69	21865.27	38299.399	

C.V. (%) = 22.54

**Cuadro 8.** Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes en invernadero. La Molina, Lima, Perú.

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Prob > F
Repetición	1	2238952.943	2238952.943	0.0001
Familia	34	817154.943	34033.969	0.9103
Error	34	1302179.557	38299.399	
Total	69	4358287.443	38299.399	

C.V. (%) = 28.51

La evaluación de la resistencia horizontal de los promedios por familia en base a la lectura 2 (LB2), evidenció un amplio rango de variación para resistencia en las familias, registrándose promedios desde 54 por ciento en las progenies de los clones parentales hembras 381400.22, 386209.10 y 387205.5, hasta 92.5 por ciento en las progenies del clon 387411.40. La progenie del testigo Atzimba, registró síntomas de infección al follaje de 20 por ciento y en la progenie del testigo Yungay 96 por ciento (Cuadro 9).

Los valores promedios de AUDPC obtenidos por familia en invernadero, como parámetro de resistencia, mostraron un rango continuo de variación, desde los obtenidos por la progenie del clon parental hembra 387170.9 con valor promedio del AUDPC de 492, hasta un valor del AUDPC de 959 obtenido por la progenie del clon 387411.40. El valor resultante del AUDPC en la progenie del testigo Atzimba fue de 251; comparado con el valor promedio del AUDPC de 1308 registrado en la progenie del testigo Yungay (Cuadro 10). Es importante señalar que a mayores valores del AUDPC resultantes, las progenies son más susceptibles al ataque de *P. infestans*.

**Cuadro 9.** Promedio del porcentaje de infección foliar causado por *P. infestans* por familia segregante en invernadero (LB2). La Molina, Lima, Perú.

Familia	LB2 (%)
381400.22	54
386209.10	54
387205.5	54
387164.4	57.5
387004.13	59.5
387015.13	59.5
387170.9	60
387170.16	60.5
386209.1	61
387143.22	61
387136.14	62
387348.20	63
387170.6	63.5
387415.32	63.5
387002.11	64
387326.2	64.5
387132.2	66
387004.4	67.5
387411.41	68.5
386209.15	69.5
387341.1	70.5
387015.3	71
387169.2	71
387231.7	72
387315.27	72.5
387338.3	73
387303.71	73.5
387205.8	74
387003.12	76
382178.14	77
387334.5	77.5
387015.12	78.5
387410.7	80.5
387415.49	82
387411.40	92.5
Atzimba	20
Yungay	96

**Cuadro 10.** Valores promedios del AUDPC por familia segregante en invernadero.  
La Molina, Lima, Perú.

Familia	AUDPC
381400.22	529
386209.10	522
387205.5	545.5
387164.4	519.5
387004.13	626.5
387015.13	576.5
387170.9	492
387170.16	574.5
386209.1	630
387143.22	590
387136.14	636.5
387348.20	639
387170.6	662
387415.32	607
387002.11	651
387326.2	636.5
387132.2	733
387004.4	684.5
387411.41	684
386209.15	736
387341.1	749
387015.3	718
387169.2	706.5
387231.7	690
387315.27	829.5
387338.3	737
387303.71	739
387205.8	772.5
387003.12	800.5
382178.14	808.5
387334.5	761
387015.12	791.5
387410.7	808
387415.49	882.5
387411.40	959
Atzimba	251
Yungay	1308

Estos resultados indican que en los 35 clones parentales de la población B3 del CIP evaluados en invernadero para resistencia horizontal muestran diversos niveles de resistencia, fluctuando entre bajos y altos, coincidiendo con resultados obtenidos anteriormente (Landeo 1996; Landeo y Gastelo 1997).

En el cuadro 11 se presenta la agrupación del promedio de familias por categorías de infección foliar en invernadero. Las categorías 1, 2, 3, 4 y 5 están representadas por 3, 4, 9, 4 y 8 progenies, respectivamente y la categoría 6 (con severa infección) agrupó cinco progenies segregantes.

**Cuadro 11.** Progenies segregantes por categoría de infección foliar en la prueba de invernadero y el número de plantas por progenie en el combinado de campo.

Categoría	Progenie segregante	Número de plantas
1	381400.22	104
	386209.10	108
	387205.5	80
2	387164.4	90
	387004.13	100
	387015.13	104
3	387170.9	92
	387170.16	102
	386209.1	72
	387143.22	102
	387136.14	94
	387348.20	104
	387170.6	88
	387415.32	94
387002.11	86	
4	387326.2	96
	387132.2	100
	387004.4	94
	387411.41	94
5	386209.15	98
	387341.1	90
	387015.3	94
	387169.2	68
	387231.7	106
	387315.27	108
	387338.3	106
387303.71	112	
6	387205.8	110
	387003.12	76
	382178.14	70
	387334.5	98
	387015.12	92
	387410.7	78

Los altos porcentajes de infección foliar por familia (LB2) observados en la prueba de invernadero, coinciden con otros reportes sobre la mayor susceptibilidad de las plántulas de origen sexual y que no permite que la resistencia horizontal se exprese completamente en este estado. (12,44). Estos resultados también coinciden con los estudios de Brauer (51) que al inocular material genético en invernadero, perdió prácticamente todas las progenies.

Ninguna de las progenies evaluadas registró mayor susceptibilidad al tizón tardío que el testigo susceptible Yungay, por lo tanto, cualquier reducción en el nivel de infección indica resistencia, tal como lo menciona Parlevliet (95).

#### **4.2 Prueba de campo**

Los análisis de variancia basados en los valores del AUDPC por familia en las localidades de Mayobamba y Comas se presentan en los cuadros 12 y 13. Tanto en la localidad de Mayobamba (C.V. = 32.68%) como en Comas (C.V. = 21.60%), se encontraron diferencias significativas en las repeticiones ( $P < 0.05$ ), lo cual es reflejo que la distribución de los bloques en el campo fue adecuada. También se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en los valores promedios del AUDPC para la fuente de variación familias.

Al encontrar diferencias estadísticas en la variable AUDPC en las dos localidades donde el tizón tardío es endémico, se evidencia el carácter cuantitativo, de distribución normal -característico de la resistencia horizontal- en la progenie segregante de la población B3. Estos resultados coinciden con reportes de Landeo (73,74), producto de sus estudios del mejoramiento con fuentes genéticas avanzadas libres de genes R para resistencia horizontal al tizón tardío de la papa.

**Cuadro 12.** Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes. Mayobamba, Huánuco, Perú.

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Prob > F
Repetición	1	582950.63	582950.63	0.016
Familia	34	8300636.08	244136.36	0.002
Error	34	3101566.37	91222.54	
Total	69	11985153.08		

C.V. (%) = 32.68

**Cuadro 13.** Análisis de variancia del AUDPC de las familias segregantes. Comas, Junín, Perú.

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Prob > F
Repetición	1	1059522.06	1059522.06	0.015
Familia	34	11795530.80	346927.38	0.015
Error	34	5539241.94	162918.88	
Total	69	18394294.80	38299.399	

C.V. (%) = 21.60

En el cuadro 14 se presentan los valores promedios del AUDPC -como parámetro de resistencia- por progenie segregante obtenidos en la localidad de Mayobamba. La distribución continua de la variación para resistencia de las progenes segregantes, mostró un rango desde valores promedios del AUDPC de 832 registrado en la progenie del parental hembra 387164.4 hasta valores promedios del AUDPC de 2733.5 por la progenie de clon parental 387411.41.

En cuanto a los valores promedios del AUDPC por familia calculados en la localidad de Comas, se muestran en el cuadro 15. Las progenes también presentaron un continuo rango de variación para resistencia, expresado en valores promedios del AUDPC de 345 registrado en la progenie del parental 387015.3 hasta el valor promedio del AUDPC de 1659.5 en la progenie del clon 387003.12.

**Cuadro 14.** Valores promedios del AUDPC por progenie segregante en Mayobamba, Huánuco, Perú.

Familia	AUDPC
381400.22	1268.5
386209.10	1530.5
387205.5	1608.5
387164.4	832
387004.13	2028
387015.13	1940.5
387170.9	1621.5
387170.16	2127
386209.1	1976
387143.22	2351.5
387136.14	1424.5
387348.20	1388.5
387170.6	1859
387415.32	1758.5
387002.11	1701.5
387326.2	1637
387132.2	2155
387004.4	2212
387411.41	2733.5
386209.15	2027
387341.1	1388.5
387015.3	2205.5
387169.2	1540
387231.7	2276
387315.27	1393.5
387338.3	2297
387303.71	1701.5
387205.8	2302
387003.12	2029.5
382178.14	2585.5
387334.5	1665
387015.12	1654
387410.7	2574.5
387415.49	1653
387411.40	1959

**Cuadro 15.** Valores promedios del AUDPC por progenie segregante en Comas, Junín, Perú.

Familia	AUDPC
381400.22	842.5
386209.10	1158.5
387205.5	1433
387164.4	789.5
387004.13	808.5
387015.13	1508.5
387170.9	1106
387170.16	426.5
386209.1	1607.5
387143.22	1180
387136.14	766.5
387348.20	499.5
387170.6	628
387415.32	1105
387002.11	790
387326.2	1089.5
387132.2	754.5
387004.4	1014.5
387411.41	1145
386209.15	581.5
387341.1	1173.5
387015.3	345
387169.2	1009
387231.7	950.5
387315.27	1147
387338.3	875
387303.71	439.5
387205.8	863
387003.12	1659.5
382178.14	1490
387334.5	818
387015.12	611
387410.7	613.5
387415.49	420
387411.40	695

En las dos localidades, las plantas del testigo susceptible Yungay, utilizado como dispersor de inóculo en condiciones de infección natural, en la tercera lectura de evaluación del porcentaje de infección foliar, estaban completamente destruídas por el tizón tardío. Esto indica que las zonas escogidas para el establecimiento de las pruebas experimentales reunían las condiciones ambientales favorables para el desarrollo óptimo del patógeno.

En la prueba de campo al igual que en la prueba de invernadero todas las plantas de las progenies segregantes, presentaron lesiones de infección, por lo que se considera que los progenitores hembras evaluados no poseen genes R y que la resistencia horizontal al tizón tardío es debida a genes de carácter cuantitativo (genes menores).

#### 4.2.1 Prueba de homogeneidad de variancias

Los resultados de la prueba de homogeneidad de variancias (conocida también como prueba de homogeneidad de errores) de Snedecor y Stevens (10,111) se presentan a continuación:

$$\text{Variancia calculada} = \frac{5539241.94^2 + 3101566.37^2 - \frac{(5539241.94 + 3101566.37)^2}{2}}{2 - 1}$$

$$\text{Variancia calculada} = 2.97 \times 10^{12}$$

$$\text{Variancia teórica} = 2(34) \left[ \frac{5539241.94 + 3101566.37}{2(34)} \right]^2$$

$$\text{Variancia teórica} = 1.10 \times 10^{12}$$

$$\chi^2 = (2-1) \left[ \frac{2.97 \times 10^{12}}{1.10 \times 10^{12}} \right]$$

$$\chi^2 = 2.7059. \text{ El valor tabular de } \chi^2_{(0.05)} = 3.8414$$

El valor tabular de  $\chi^2_{0.05}$  (3.8814) es mayor que el valor calculado (2.7059), por consiguiente las variancias de los experimentos realizados en Mayobamba y Comas son homogéneas. Se justifica realizar el análisis de variancia combinado de los experimentos de campo para el parámetro de resistencia utilizado, el AUDPC (cuadro 16).

Al existir homogeneidad de variancia en los experimentos de Mayobamba y Comas, se deduce que el comportamiento de las familias segregantes en la cuantificación de la resistencia horizontal muestran una variancia similar, lo que permite analizar mejor en un combinado los promedios del AUDPC de las dos localidades.

El análisis de variancia combinado de campo (C.V. = 25.39%) señaló diferencias significativas en las fuentes de variación de familias y localidades ( $P < 0.05$ ). Para la fuente de variación familia por localidad, también hubo diferencias estadísticas

significativas ( $P < 0.05$ ). Estos resultados indican que las familias varían significativamente entre sí en su comportamiento para resistencia horizontal al tizón tardío, y que existe interacción entre familias por localidad, indicando que las familias se comportan diferencialmente en su intensidad de resistencia horizontal en las dos localidades.

**Cuadro 16.** Análisis de variancia del AUDPC de las progenies para el combinado de campo. Mayobamba y Comas, Perú.

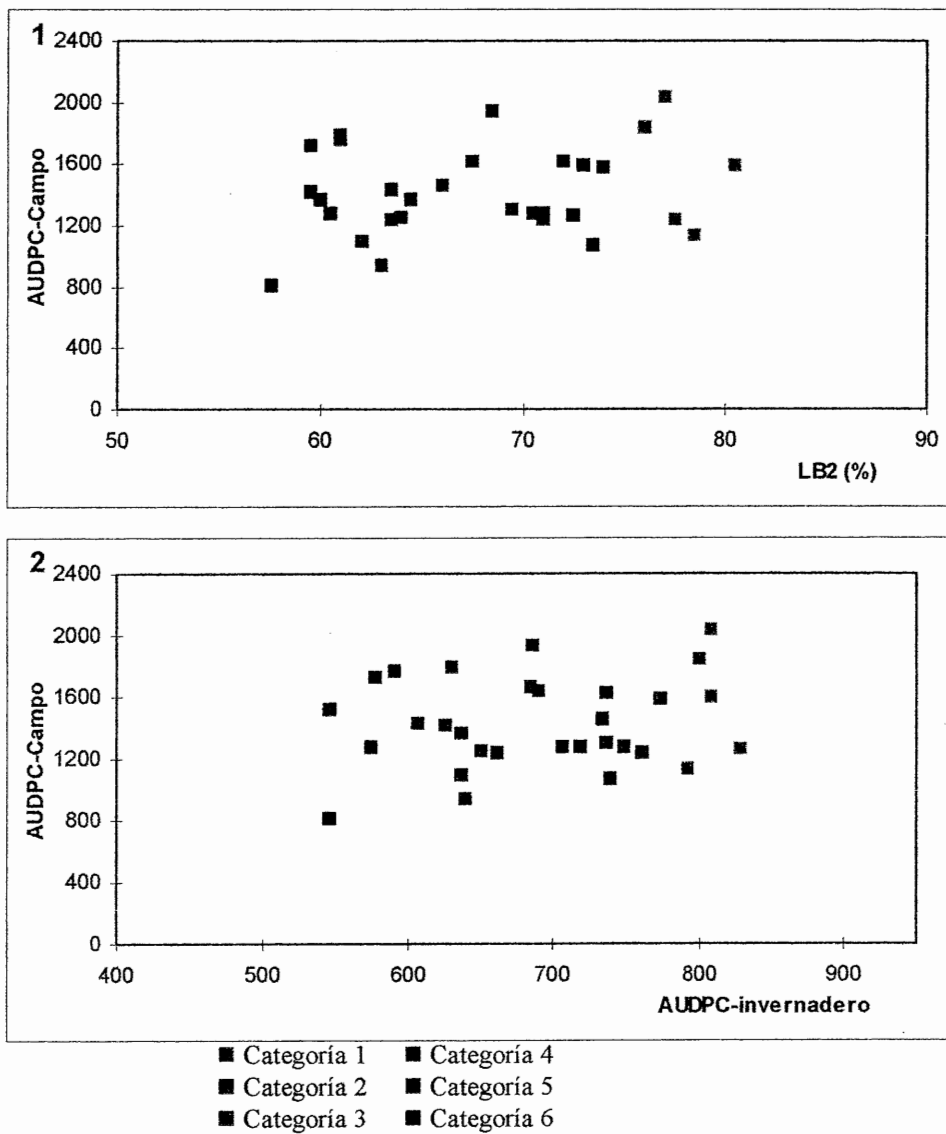
Fuentes de variación	GL	SC	CM	Prob > F
Localidad	1	1647892.86	823946.43	0.0025
Familia	34	11010222.47	323830.07	0.0005
Repetición dentro de localidad	2	31229420.60	1229420.60	0.0001
Familia x localidad	34	9165592.90	269576.26	0.0038
Error	68	8554119.14	125795.87	
Total	139	61607247.97		

C.V. (%) = 25.39

Se coincide con Parlevliet (95) quien concluye que la expresión de los genes menores para resistencia horizontal puede variar por las condiciones naturales existentes en campo; tales como: factores climáticos (principalmente la temperatura, humedad relativa, precipitación y fotoperíodo), variaciones en las condiciones de las plantas (la edad, estado de desarrollo, precocidad y altura de planta) y por las variaciones en las condiciones del experimento (tiempo y frecuencias de evaluación, disposición del experimento).

### **4.3 Correlaciones**

Se procedió a graficar la dispersión de los promedios de las familias, tanto para LB2 y AUDPC en el invernadero con el objeto de visualizar la distribución de los grupos formados de acuerdo a las categorías establecidas (Gráfico 1). Se observó en general una tendencia de asociación lineal positiva que se reflejaría con mayor resolución al usar los promedios de las categorías en el Gráfico 1.



**Gráfico 1.** Dispersión de valores promedio del AUDPC-Campo con valores promedio de LB2 (1) y de valores promedio del AUDPC-Campo con AUDPC-Invernadero (2), agrupados en categorías de infección.

### 4.3.1 Correlaciones por categorías de infección foliar

En el cuadro 17, se muestran los valores promedios de infección foliar agrupados en categorías tanto para invernadero como para el combinado de campo en base a LB2 y AUDPC, respectivamente. El Gráfico 2 muestra la dispersión de los promedios de infección foliar, tanto por LB2 y AUDPC entre las pruebas de invernadero y campo, observándose que los puntos trazados están cercanos a la tendencia lineal.

**Cuadro 17.** Distribución de promedios y ordenamiento numérico de infección foliar (LB2) por familia en invernadero dentro de categorías y su correspondiente valor del AUDPC en el campo.

Invernadero (LB2 %)				Campo (AUDPC)		
Orden numérico	Categoría	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Orden numérico
1	50-55	54	54	1056-1521	1307	1
2	56-60	58-60	59	811-1725	1329	2
3	61-65	61-65	63	944-1792	1351	3
4	66-70	66-70	68	1304-1939	1578	6
5	71-75	71-74	72	1071-1613	1369	4
6	76-80	76-80	78	1133-2038	1570	5

Correlación de orden numérico entre invernadero y campo:  $r = 0.83$

La distribución de promedios de infección foliar refleja que la categoría 1 en la segunda lectura en invernadero (LB2), registró un promedio de 54 por ciento, producto del rango de infección foliar de 54 por ciento registrado por cada familia agrupada en esta categoría. Como valor extremo, en la categoría 6 de mayor severidad por tizón tardío, el promedio obtenido por las familias que integraban esta

categoría fue de 78 por ciento, cuyo rango de infección foliar registrado fue de 76 a 80 por ciento.

En campo, se evidenció un incremento de los promedios del AUDPC en las familias que representaban el mismo grupo a través del AUDPC. El menor orden numérico correspondió a un valor promedio del AUDPC de 1307 con un rango desde 1056 a 1521 registrado por las familias agrupadas en esta categoría y en el orden jerárquico 6 el promedio del AUDPC obtenido fue de 1578, cuyo rango fue de 1304 a 1939. Estos resultados sugieren que la prueba de invernadero puede ser utilizada para diferenciar los progenitores resistentes al tizón tardío de los susceptibles.

La correlación obtenida de acuerdo al orden numérico de las categorías de infección foliar, tomando según la segunda lectura en invernadero con el orden numérico del AUDPC del combinado de campo de las mismas progenies que conformaban cada categoría, resultó en un valor de  $r = 0.83$ ; indicando el alto grado de asociación de las pruebas de invernadero con las de campo.

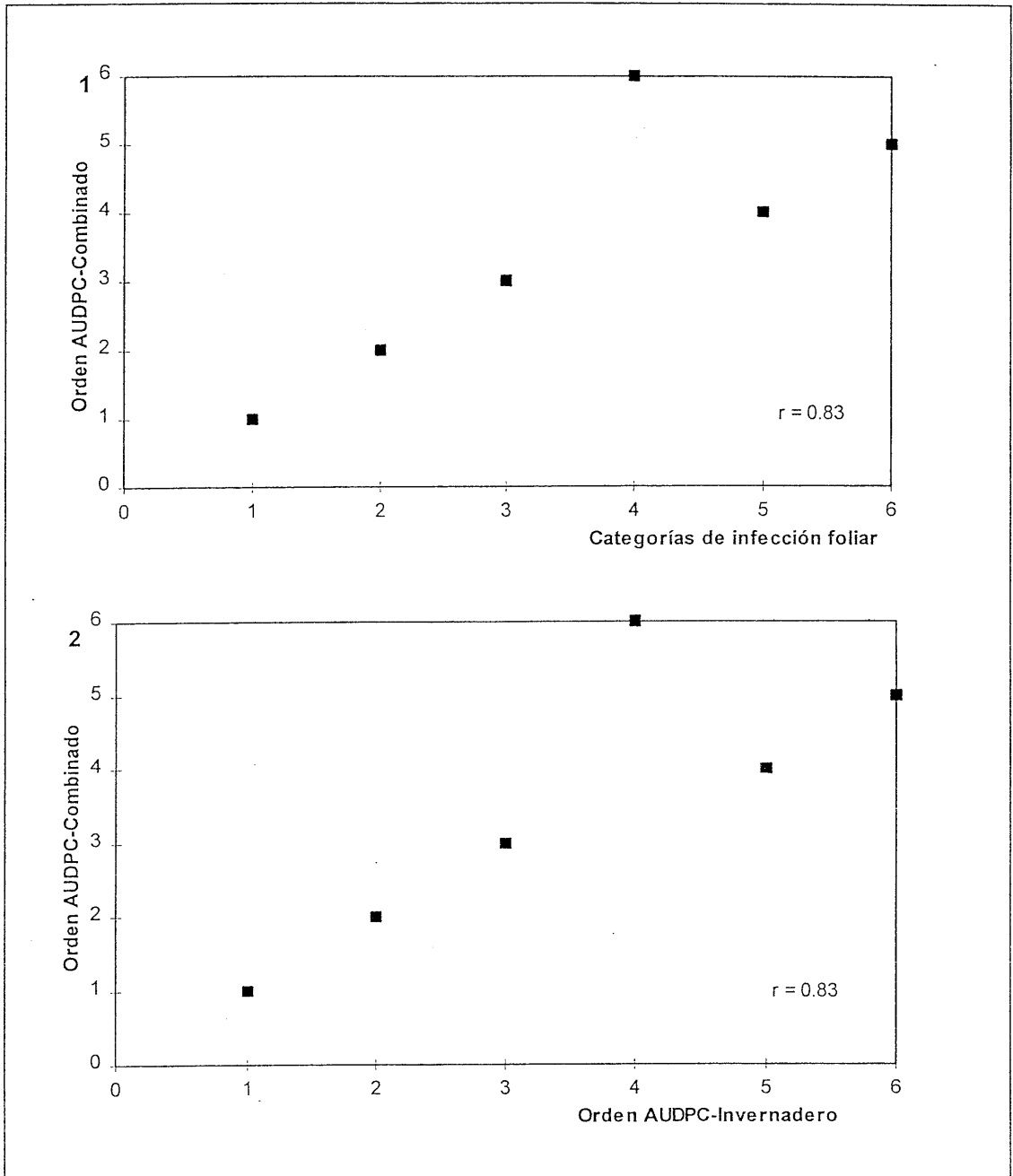
En el cuadro 18 se presentan los valores promedios de infección foliar agrupados en categorías tanto para invernadero como para el combinado de campo en base al AUDPC.

**Cuadro 18.** Distribución de promedios y ordenamiento numérico del AUDPC por familia en invernadero dentro de categorías y su correspondiente valor del AUDPC en el campo.

Invernadero (AUDPC)				Campo (AUDPC)		
Orden numérico	Categoría	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Orden numérico
1	50-55	522-546	532	1056-1521	1307	1
2	56-60	492-626	554	811-1725	1329	2
3	61-65	574-662	625	944-1792	1351	3
4	66-70	684-736	709	1304-1939	1578	6
5	71-75	690-830	743	1071-1613	1369	4
6	76-80	761-808	794	1133-2038	1570	5

Correlación de orden numérico entre invernadero y campo:  $r = 0.83$

Al distribuir las familias en categorías de infección foliar tanto en invernadero y campo, a través del parámetro de resistencia AUDPC, en el primer orden de mérito se obtiene un promedio de 532, cuyo rango promedio comprende desde 522 a 546 registrados en las familias agrupadas en esta categoría. Como valor extremo, el promedio del AUDPC obtenido en invernadero fue de 794 (rango de 761 a 808), correspondiente al orden numérico 6.



**Gráfico 2.** Dispersión entre el orden numérico del promedio del AUDPC en campo con categorías de infección foliar en invernadero (LB2) por progenie (1) y del orden numérico del AUDPC en invernadero con el del AUDPC de campo (2).

Al correlacionar el valor jerárquico del promedio del AUDPC por categorías en invernadero con el valor jerárquico del promedio del AUDPC del combinado de campo correspondientes al mismo grupo, se obtuvo un valor de  $r = 0.83$ , el cual explica la gran estrechez de la asociación entre las pruebas de invernadero y campo (similar al estimado entre el parámetro LB2 en invernadero con el AUDPC de campo).

Esto significa que la prueba de progenies de invernadero para la selección de clones parentales con buena habilidad para transmitir resistencia horizontal a sus progenies, puede ser utilizada en lugar de pruebas directas en el campo. Asimismo, ello facilita las pruebas y se ahorrará mucho tiempo en la selección de progenitores con resistencia.

El coeficiente de correlación estimado  $r = 0.83$  que refleja un valor alto de asociación entre las dos pruebas, invernadero y campo, permiten hacer una buena predicción del comportamiento de las progenies con pruebas de invernadero, coincidiendo con resultados anteriores (9, 116).

Considerando el comportamiento típico de la expresión de la resistencia horizontal y con base en estos resultados preliminares, se puede notar la importancia de establecer

categorías o rangos de infección foliar que permita determinar la posible asociación entre las pruebas de invernadero y campo.

#### **4.3.2 Correlaciones sin considerar categorías de infección foliar**

En el cuadro 19 se presenta el promedio del porcentaje de la segunda lectura de infección al follaje (LB2) y el valor promedio del AUDPC y sus respectivos ordenamientos jerárquicos por familia en la prueba de invernadero, de acuerdo al procedimiento no paramétrico de Spearman. Los gráficos 3, 4 y 5 muestran la dispersión de los promedios de infección foliar LB2 y AUDPC sin considerar categorías entre invernadero y campo. No se observa ningún tipo de tendencia o relación lineal entre las dos pruebas, debido a los bajos coeficientes resultantes.

En los cuadros 20 y 21 se muestran los valores promedios del AUDPC por familia y su orden numérico resultantes en las localidades de Mayobamba y Comas. En relación al combinado de campo, en el cuadro 22 se presentan los promedios resultantes de la variable AUDPC por familia y su ordenamiento numérico.

**Cuadro 19.** Porcentajes promedios de LB2, promedios del AUDPC y el orden numérico correspondiente por familia en la prueba de invernadero. La Molina, Lima, Perú.

Familia	LB2 (%)	Orden	AUDPC	Orden
381400.22	54	2	529	4
386209.10	54	2	522	3
387205.5	54	2	545.5	5
387164.4	57.5	4	519.5	2
387004.13	59.5	5.5	626.5	10
387015.13	59.5	5.5	576.5	7
387170.9	60	7	492	1
387170.16	60.5	8	574.5	6
386209.1	61	9.5	630	11
387143.22	61	9.5	590	8
387136.14	62	11	636.5	12.5
387348.20	63	12	639	14
387170.6	63.5	13.5	662	16
387415.32	63.5	13.5	607	9
387002.11	64	15	651	15
387326.2	64.5	16	636.5	12.5
387132.2	66	17	733	22
387004.4	67.5	18	684.5	18
387411.41	68.5	19	684	17
386209.15	69.5	20	736	23
387341.1	70.5	21	749	26
387015.3	71	22.5	718	21
387169.2	71	22.5	706.5	20
387231.7	72	24	690	19
387315.27	72.5	25	829.5	33
387338.3	73	26	737	24
387303.71	73.5	27	739	25
387205.8	74	28	772.5	28
387003.12	76	29	800.5	30
382178.14	77	30	808.5	32
387334.5	77.5	31	761	27
387015.12	78.5	32	791.5	29
387410.7	80.5	33	808	31
387415.49	82	34	882.5	34
387411.40	92.5	35	959	35

**Cuadro 20.** Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en Mayobamba, Huánuco, Perú.

Familia	AUDPC	Orden
381400.22	842.5	17
386209.10	1158.5	28
387205.5	1433	31
387164.4	789.5	13
387004.13	808.5	15
387015.13	1508.5	33
387170.9	1106	25
387170.16	426.5	3
386209.1	1607.5	34
387143.22	1180	30
387136.14	766.5	12
387348.20	499.5	5
387170.6	628	9
387415.32	1105	24
387002.11	790	14
387326.2	1089.5	23
387132.2	754.5	11
387004.4	1014.5	22
387411.41	1145	26
386209.15	581.5	6
387341.1	1173.5	29
387015.3	345	1
387169.2	1009	21
387231.7	950.5	20
387315.27	1147	27
387338.3	875	19
387303.71	439.5	4
387205.8	863	18
387003.12	1659.5	35
382178.14	1490	32
387334.5	818	16
387015.12	611	7
387410.7	613.5	8
387415.49	420	2
387411.40	695	10

**Cuadro 21.** Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en Comas, Junín, Perú.

Familia	AUDPC	Orden
381400.22	1268.5	2
386209.10	1530.5	7
387205.5	1608.5	9
387164.4	832	1
387004.13	2028	23
387015.13	1940.5	19
387170.9	1621.5	10
387170.16	2127	25
386209.1	1976	21
387143.22	2351.5	32
387136.14	1424.5	6
387348.20	1388.5	3.5
387170.6	1859	18
387415.32	1758.5	17
387002.11	1701.5	15.5
387326.2	1637	11
387132.2	2155	26
387004.4	2212	28
387411.41	2733.5	35
386209.15	2027	22
387341.1	1388.5	3.5
387015.3	2205.5	27
387169.2	1540	8
387231.7	2276	29
387315.27	1393.5	5
387338.3	2297	30
387303.71	1701.5	15.5
387205.8	2302	31
387003.12	2029.5	24
382178.14	2585.5	34
387334.5	1665	14
387015.12	1654	13
387410.7	2574.5	33
387415.49	1653	12
387411.40	1959	20

**Cuadro 22.** Valores promedios del AUDPC y su orden numérico por progenie en el combinado de campo.

Familia	AUDPC	Orden
381400.22	1055.5	4
386209.10	1344.5	18
387205.5	1520.8	24
387164.4	810.8	1
387004.13	1418.3	21
387015.13	1724.5	30
387170.9	1363.8	20
387170.16	1276.8	14
386209.1	1791.8	32
387143.22	1765.8	31
387136.14	1095.5	6
387348.20	944	2
387170.6	1243.5	9
387415.32	1431.8	22
387002.11	1245.8	10
387326.2	1363.3	19
387132.2	1454.8	23
387004.4	1613.3	28.5
387411.41	1939.3	34
386209.15	1304.3	16
387341.1	1281	15
387015.3	1275.3	13
387169.2	1274.5	12
387231.7	1613.3	28.5
387315.27	1270.3	11
387338.3	1586	26
387303.71	1070.5	5
387205.8	1582.5	25
387003.12	1844.5	33
382178.14	2037.8	35
387334.5	1241.5	8
387015.12	1132.5	7
387410.7	1594	27
387415.49	1036.5	3
387411.40	1327	17

Los coeficientes de correlación calculados del orden numérico del promedio de porcentaje de infección foliar en LB2 en invernadero con el orden numérico del valor promedio del AUDPC por progenie en Mayobamba, Comas y el combinado, fueron:  $r = -0.26$ ,  $r = 0.35$  y  $r = -0.04$ , respectivamente (Cuadro 23).

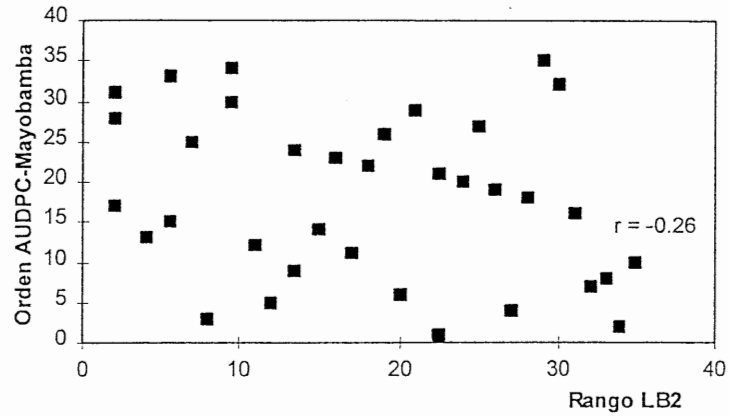
Estos coeficientes sugieren que no existe asociación entre la prueba de invernadero con la prueba de campo; es decir, la prueba de invernadero no permite predecir el valor del AUDPC en la prueba de campo. Se coincide con Parlevliet (95) quien señaló que la prueba de invernadero no representa a la prueba de resistencia en campo. Además, Zapata y Fernández-Northcote (133) reportan que las correlaciones de las resistencias para *P. infestans* obtenidas bajo condiciones de invernadero, tinglado y campos fueron muy bajas y en ocasiones negativas.

**Cuadro 23.** Matriz de correlación de rangos de Spearman resultantes del orden numérico de los promedios de LB2 y del AUDPC en invernadero con los del AUDPC por progenie en campo.

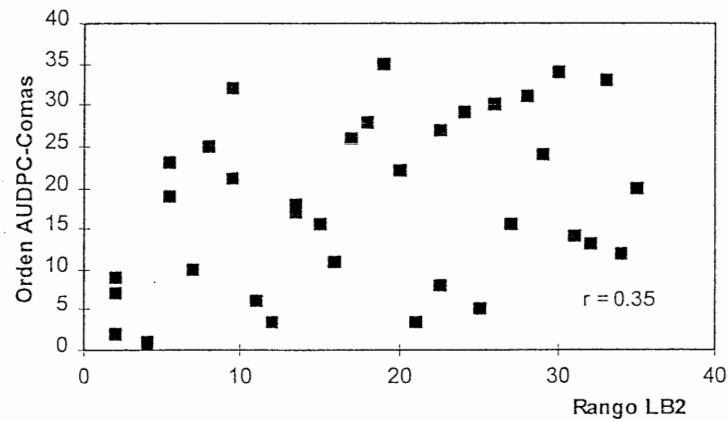
Invernadero	AUDPC		
	Mayobamba	Comas	Combinado
LB2	-0.26	0.35	0.04
AUDPC	-0.22	0.30	0.03

Asimismo, al correlacionar el orden numérico del promedio del AUDPC en invernadero con el valor numérico del AUDPC en Mayobamba, Comas y en combinado de campo, los valores respectivos fueron de;  $r = -0.22$ ,  $r = 0.30$  y  $r = 0.03$  (Cuadro 23). Estos bajos coeficientes también indican ausencia de asociación entre las dos pruebas, lo cual no permite explicar biológicamente las ventajas de la prueba de invernadero en el estado de plántula para seleccionar por resistencia horizontal al tizón tardío.

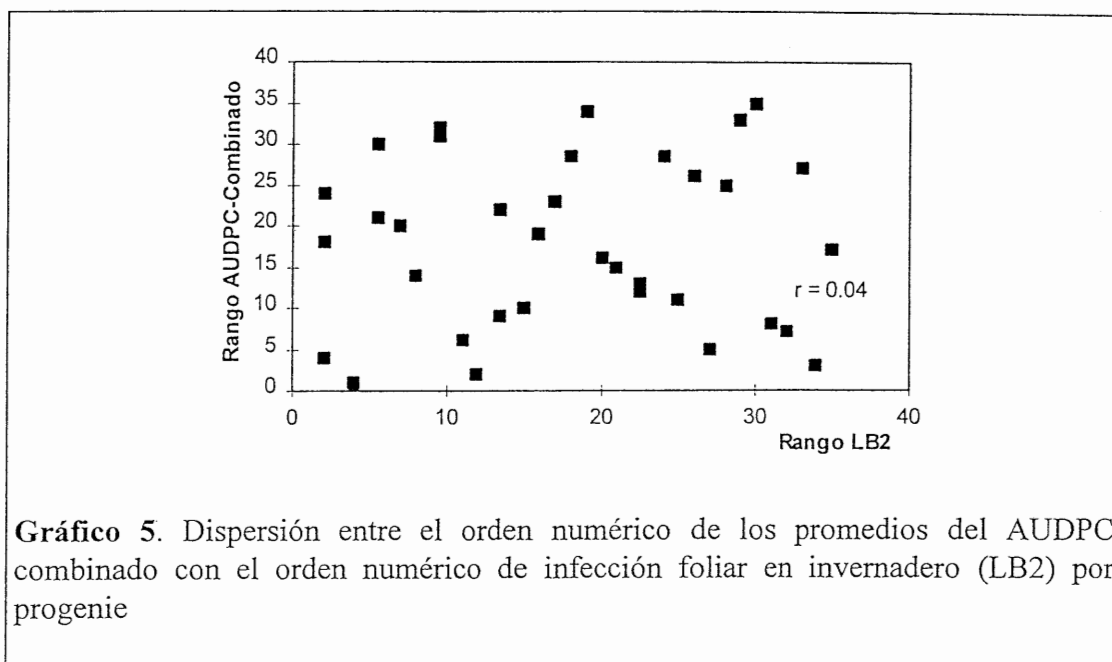
En resumen se puede decir que al hacer correlaciones sin categorizar la resistencia en invernadero se obtienen coeficientes bajos, lo cual indica que los resultados de las evaluaciones en invernadero no reflejan el comportamiento de este material genético en el campo, coincidiendo con algunos científicos que estudiaron el comportamiento de otras poblaciones genéticas de papa (52, 77, 91).



**Gráfico 3.** Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC en Mayobamba con el orden numérico de infección foliar en invernadero (LB2) por progenie



**Gráfico 4.** Dispersión entre el orden numérico de los promedios del AUDPC en Comas con el orden numérico de infección foliar en invernadero (LB2) por progenie



## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Existe correlación positiva y significativa ( $r = 0.83$ ) entre los promedios de invernadero y campo para infección foliar cuando los valores promedio de infección de las progenies son agrupadas en categorías relativas a la resistencia. Esto sugiere que la prueba de invernadero podría ser usado con cierta eficiencia para identificar progenitores que den lugar a progenies con alta resistencia horizontal a *P. infestans*. Estas progenies podrían posteriormente ser sembradas directamente en el campo para ser tamizado para resistencia horizontal en condiciones de infección natural.
- Cuando los valores promedio de infección foliar de las progenies, tanto en invernadero como en campo son utilizados sin agrupar en categoría, y utilizando el orden de mérito de ellos, la correlación es muy baja entre invernadero y campo ( $r = 0.04$ ). Esto sugiere que la prueba de invernadero no sería adecuada para predecir el valor de AUDPC de la planta en campo.
- Todas las progenies segregantes provenientes de madres con resistencia horizontal al ser evaluadas contra el *P. infestans*, tanto en invernadero como en campo bajo

condiciones de infección natural muy severas, presentaron diversos niveles de resistencia horizontal al tizón tardío en el follaje, variando entre muy susceptibles hasta muy resistentes.

- La segunda lectura de evaluación de la infección foliar al tizón tardío en invernadero (LB2), registró un nivel de infección foliar discriminatorio que permitió su elección para los análisis respectivos.
- En invernadero, todas las progenies provenientes de la población B3 del CIP al ser inoculadas con la raza “o” mostraron infección foliar de intensidad variada, indicando la ausencia de genes mayores (R) y niveles de resistencia superiores al testigo Yungay.
- La prueba de campo es de extrema importancia para la evaluación y selección de resistencia horizontal en progenies segregantes de papa.
- Se recomienda estimar el grado de asociación entre las pruebas de invernadero y campo para evaluar progenitores con resistencia horizontal, por categorías o rangos de infección foliar por familia, en cada población genética a estudiar para determinar la eficiencia de la prueba de invernadero en predecir el comportamiento de materiales genéticos en campo.
- Para el desarrollo de este tipo de estudio se debe considerar un mayor control en la uniformidad de la enfermedad, tanto en invernadero como en campo, asegurando condiciones favorables para el desarrollo y reproducción del patógeno; asimismo que todas las plantas a evaluar estén sometidas a la misma presión inicial. Con

ello, se tiende a controlar el error experimental eficientemente y por consiguiente, se obtiene mayor aplicabilidad a las inferencias estadísticas de los componentes de resistencia contemplados.

## VI. RESUMEN

El presente trabajo se ejecutó con el objeto de establecer la correlación entre las pruebas de invernadero y campo para la evaluación de resistencia horizontal a *P. infestans* en progenies segregantes de papa, procedentes de la población de mejoramiento B3 del CIP y determinar el método (invernadero o campo) más apropiado y práctico que permita la selección de genotipos con resistencia horizontal. Las pruebas de invernadero se hicieron en la Molina (CIP) y las de campo en dos localidades de la sierra central del Perú donde el tizón tardío es endémico (Mayobamba, Departamento de Huánuco y Comas, Departamento de Junín); durante el periodo de noviembre de 1995 a junio de 1997.

En invernadero se estimó el porcentaje del área foliar infectado en plántulas de ocho semanas de edad, luego de ser inoculadas con la raza "o" de *P. infestans*. Se realizaron tres evaluaciones por planta en la repetición I y dos evaluaciones en la repetición II, utilizándose la segunda evaluación como la lectura crítica de infección (LB2), luego se calculó los promedios por familia en base a las lecturas individuales. Asimismo, se utilizó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) calculado para los análisis respectivos. Luego, los promedios de infección foliar de

las progenies fueron agrupados en seis categorías de infección , tanto para invernadero como para campo, asegurándose que las progenies sean las mismas en ambos grupos.

En el campo, se realizaron siete evaluaciones por planta por localidad, calculándose el AUDPC promedio por familia como parámetro de resistencia, para luego ser utilizadas en pruebas de correlación.

Se utilizó el método no paramétrico de Spearman para calcular las correlaciones. La correlación del comportamiento de las progenies por categoría de infección foliar, considerando el valor promedio de LB2 y el AUDPC en invernadero y campo, resultó en un valor alto ( $r = 0.83$ ). Esto significa que la prueba de progenies en invernadero para la selección de clones parentales con buena habilidad para transmitir resistencia horizontal a sus progenies, puede ser utilizada eficazmente en lugar de pruebas directas en el campo y cuando éstas son categorizadas en rangos de resistencia.

Sin embargo, sin considerar categorías de infección foliar, los coeficientes de correlación calculados fueron muy bajos. Esto indicaría que no existe asociación entre ambas pruebas, por lo tanto no podría utilizarse la prueba de invernadero para la evaluación directa y selección de genotipos individuales con resistencia horizontal.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G. N. 1995. Fitopatología. 3<sup>ra</sup> Edición. Editorial Limusa, grupo Noriega Editores. México. 838 pp.
2. ALEXOPOULOS, C. J. y C. W. MIMS. 1985. Introducción a la micología. 3<sup>ra</sup> Edición. New York. USA. Pp: 148-168.
3. ARNOLD, B., L. NELSON, R. VACCARO, C. MORAN, T. SCHOFIELD y T. ARROYO. 1993. Curso de Estadística Experimental Avanzada Lima, Centro Internacional de la Papa. Pp: 227-235.
4. ATENCIO, F., R. MORALES, J. LARA y R. RODRÍGUEZ, R. 1992. IDIAP 92; nueva variedad de papa con resistencia al *Phytophthora infestans*. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Folleto técnico. 5 pp.
5. BERGER, R. C. and J. W. JONES. 1985. A general model for disease progress with functions for available latency and lesion expansion on growing host plants. *Phytopathology* 75 (7): 792-795.
6. BLACK, W. 1953. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2 (3): 173-240.
7. BLACK, W. 1970. The nature of inheritance of field resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in potatoes. *American Potato Journal* 47: 279-288.

8. BRUHN, J. A. and W. E. FRY. 1981. Analysis of potato late blight epidemiology via simulation modeling. *Phytopathology* 71: 612-616.
9. CALIGARI, P. D. S., G. R. MACKAY, H. E. STEWART, and R. L. WASTIE. 1984. A seedling progeny test for resistance to potato blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). *Potato Research* 27: 43-50.
10. CALZADA, J. B. 1970. Métodos estadísticos para la investigación. 3<sup>ra</sup> edición. Lima, Perú. Pp: 489-512.
11. CAMPBELL, C. L. and L. V. MADDEN. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and Sons Inc. USA. 532 pp.
12. CARNEGIE, S. F. and J. COLHOUN. 1982. Susceptibility of potato leaves to *Phytophthora infestans* in relation to plant age and leaf position. *Phytopathology Z* 104: 157-167.
13. CARTER, D. A., S. A. ARCHER, K. W. BUCK, D. S. SHAW, and R. C. SHATTOCK. 1989. DNA polymorphisms in *Phytophthora infestans*: the UK experience. pp: 272-294. In Lucas J. A., R. C. Shattock, D. S. Shaw y L. R. Cooke Eds. *Phytophthora*. Symposium of the British Mycological Society, the British Society for Plant Pathology and the Society of Irish Plant Pathologists held at Trinity, Dublin, september. Published for the British Mycological Society by Cambridge University Press, Cambridge.
14. CIP. 1975. Informe anual CIP, Lima, Perú. Pp. 40-43.
14. CIP. 1976. Informe Anual CIP, Lima, Perú. Pp. 25-29.

15. CIP. 1977. Informe anual CIP, Lima, Perú. Pp: 33-40.
16. CIP. 1984. Informe anual CIP 1983. Lima, Perú. Pp: 52-54.
17. CIP. 1986. Annual Report CIP 1985. Lima, Perú. Pp: 53-55.
18. CIP. 1989. Fungal Diseases of the Potato. Report of the planning conference on fungal of the potato held al CIP. Lima, september 21-25, 1987. 216 pp.
19. CIP. 1989. Informe Anual del CIP, 1989. Lima, Perú. Pp: 51-53.
20. CIP. 1990. Annual Report CIP, 1990. Lima, Perú. Pp: 42-43.
21. CIP. 1991. Annual Report CIP, 1991. Lima, Perú. Pp: 32-38.
22. CIP. 1993. CIP en 1992: Program Report. Lima, Perú. Pp: 44-47.
23. CIP. 1994. El CIP en 1993. Informe anual del CIP. Lima, Perú. Pp: 8-13.
24. CIP. 1995. Program Report: 1993-1994. Lima, Perú. Pp: 63-65.
25. CIP. 1997. El CIP en 1996. Informe Anual del Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. Pp: 18-21.
26. CIP y FAO. 1995. La papa en la década de 1990. Situación y perspectivas de la economía de la papa a nivel mundial. 50 pp.

27. COFFEY, M. D. and U. E. WILSON. 1983. Histology and cytology of infection and disease caused by *Phytophthora*. Pp: 289-301. In Erwin, D. C., S. Bartnicki-García y P. H. Tsao. Eds. *Phytophthora*, its biology, taxonomy, ecology and pathology. American Phythopathological Society. St. Paul, Minnesota.
28. COLON, L. T. and D. J. BUDDING. 1988. Resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in ten wild Solanum species. Euphytica 5: 77-86.
29. CRUICKHANK, G., H. E. STEWART, and R. L. WASTIE. 1982. An illustrated assessment key for foliage blight of potatoes. Potato Reseach 25: 213-214.
30. DRENTH, A. 1994. Molecular genetic evidence for a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in Europe. Thesis Wageningen. 150 p.
31. DRENTH, A., L. J. TURKENSTEEN, and F. GOVERS. 1994. The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands; significance and consequences. Pp: 7-27. En Drenth, A. Ed. Molecular genetic evidence for a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in Europe. Thesis Wageningen, the Netherlands.
32. ERWIN, D. C. and O. K. RIBEIRO. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. APS PRESS. St. Paul, Minnesota. 562 pp.

for citation  
(34)

33. FALCONER, D. S. 1989. Introduction of quantitative genetics, 3<sup>rd</sup> ed. Longman Scientific and Technical, Harlow. 130 pp.
34. FERHMAN, H. and A. E. DIMOND. 1967. Peroxidase activity and *Phytophthora infestans* in different organs of the potato plant. *Phytopathology* 57: 69-72.
35. FERNANDEZ-NORTHCOTE, E. N. y O. NAVIA. 1995. Manejo integrado del tizón (MIP-Tizón) Manejo integrado de plagas de papa. Memorias de II Curso internacional de manejo integrado de plagas de papa. Cochabamba, Bolivia. Pp: 130-136.
36. FLOR, H. H. 1955. Host parasite interaction in flax rust-its genetic and other implications. *Phytopathology* 45: 680-685.
37. FLORES, F. y T. V. M. PARGA. 1993. Norteña, nueva variedad de papa para el Norte y centro de México. XVI Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Santo Domingo, República Dominicana. Compendios Pp: 36.
38. FORBES, GREG. 1993. Evaluation of quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in the field: a question of errors. Pp: 117-131. In Ezeta, F. y F. Vilaró. Eds. Control Integrado de las principales enfermedades fungosas de la papa. Bellavista, Uruguay.
39. FORBES, G. A. and M. C. JARVIS. 1994. Host resistance for management of potato late blight. Pp: 439-457. In Zehnder, G. W., M. L. Powelson, R. K. Jansson y K. V. Raman. Eds. Advances in Potato Pest: Biology and

- management. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
40. FRY, W. E. 1978. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology* 68: 1650-1655.
  41. FRY, W. E. 1993. Implications of recent migrations of *Phytophthora infestans*. Pp:83-84. *En Ezeta, F. y F. Vilaró. Eds. Control Integrado de las principales enfermedades fungosas de la papa. Bellavista, Uruguay.*
  42. FRY, W. E. and A. E. APPLE. 1986. Disease management implications of age-related changes in susceptibility of potato foliage to *Phytophthora infestans*. USA. *American Potato Journal*. 63 (1): 47-56.
  43. FRY, W. E. and S. B. GOODWIN. 1997. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. *Plant Disease* 81 (12): 1349-1357.
  44. FRY, W. E. S. B. GOODWIN, J. M. MATUSZAK, L. J. SPIELMAN, M. G. MILGROOM, and A. DRENTH. 1992. Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology* 30: 107-129.
  45. FRY, W. E., A. DRENTH, L. J. SPIELMAN, B. C. MANTEL, L. C. DAVIDSE, and S. B. GOODWIN. 1991. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Phytopathology* 81: 1330-1336.

46. FRY, W. E., P. W. TOOLEY, and L. J. SPIELMAN. 1989. The importance of the perfect stage of *Phytophthora infestans* from the stand point of epidemiology and adaptation. Fungal disease of the potato. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. Pp: 17-30.
47. FRY, W. E., S. B. GOODWIN, A. T. DYER, J. M. MATUSZAK, A. DRENTH, L. S. SUJKOWSKI, Y. J. KOH, B. A. COHEN, L. J. SPIELMAN, K. L. DEAHL, D. A. INGLIS, and K. P. SANDLAN. 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: cronology, pathways and implications. Plant Diseases 77 (7): 653-661.
48. GARCIA, V. S., H. D. THURSTON, and A. T. TSCHANZ. 1977. A greenhouse method for large scale testing of potatoes for general resistance to *Phytophthora infestans*. USA. Plant Dis. Repr. 61 (10): 820-822.
49. GASTELO, M. 1989. Cuantificación de la resistencia horizontal al tizón tardío *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary en papa *Solanum tuberosum* ssp *andigena*. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 77 pp.
50. GASTELO, M., J. LANDEO, and L. CALUA. 1995. Effect of fungicide sprays in potato cultivars with horizontal resistance to late blight (*Phytophthora infestans*). VIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. XIV Congreso Venezolano de Fitopatología. I Congreso Venezolano de Micología. Mérida (Venezuela). Pp: 34-35.

51. GOODMAN, R. N., Z. KIRALY, and K. R. WOOD. 1986. The biochemistry and physiology of plant disease. University of Missouri Press. Columbia. 433 pp.
52. GOODWIN, S. B. and DRENTH A. 1997. Origin of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* outside Mexico. *Phytopathology* 87(10): 992-999.
53. GOODWIN, S. B., L. J. SPIELMAN, J. M. MATUSZAK, S. N. BERGERON, and W. E. FRY. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation among *Phytophthora infestans* populations in Northern Mexico. *Phytopathology* 82: 955-972.
54. GREGORY, P. H. 1983. Some mayor epidemics caused by *Phytophthora*. Pp: 271-278. *In* Erwin D.C., S. Bartnicki-García y P. H. Tsao. Eds. *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology and pathology*. American Phythopathological Society. St. Paul, Minnesota.
55. HAWKSWORTH, D., P. KIRK, B. SUTTON, and D. PEGLER. 1995. *Dyctionary of fungy*. Ainsworth & Bisby's. Eighth Edition. CABI 616 pp.
56. HENFLING, J. W. 1982. Breeding and screening for late blight resistance. Inter-regional course on germplasm management. January 11- february. Lima, Centro Internacional de la Papa. 33 pp.
57. HETTMANSPERGER, T. P. 1984. *Statistical inference based on rank*. John Wiley and Sons, Inc. USA. Pp: 178-220.

58. HOOKER, W. J. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Versión española por Teresa Ames de Icochea. Michigan State Fundation. Publicado por el Centro Internacional de la Papa. Pp: 56-62.
59. HORSFALL, J. G. and R. W. BARRAT. 1945. An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology (Abstract)* 35: 655.
60. INGRAM, D. S. and P. H. WILLIAMS. 1991. *Phytophthora infestans*, the cause of late blight of potato. Academic press. New York.
61. JAMES, W. C. 1974. Assessment of plant diseases and losses. *Annual Review Phytopathology* 12: 27-48.
62. KO, W. H. 1994. An alternative possible origin of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* outside Mexico. *Phytopathology* 84: 1224-1227.
63. KRANZ, J. 1988. Measuring plant disease. Pp: 35-50. In Kranz, J. y J. Rotem. Eds. *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Springer-Verlag, Berlin.
64. KROLL, R. E. and C. J. EIDE. 1981. Effect of inoculum concentration of *Phytophthora infestans* on potato late blight. USA: *Am. Potato J.* 58 (3): 153-161.
65. LAMBERT, D. H. and A. I. CURRIER. 1997. Diferences in tuber rot development for North American clones of *Phytophthora infestans*. *Am. Potato J.* 74: 39-43

66. LANDEO, J. A. 1989. Late blight breeding strategy at CIP. Pp: 57-74. *In* CIP Ed. Fungal diseases of the potato. Report of the planning conference on fungal diseases of the potato held at CIP, september 21-25, 1987. Lima, Peru.
67. LANDEO, J. A. 1993. Interference of R genes free clones from contaminated gene pools. Pp: 143-48. *In* Wang, J. y B. Song. Eds. Potato late blight control in China: Proceedings of a workshop. International Potato Center Region VIII.
68. LANDEO, J. A. 1996. Breeding for horizontal resistance to late blight in population B and its utilization. Seminar at CIP, March 21. Lima, Peru. 11 pp.
69. LANDEO, J. A. 1997. Breeding for horizontal resistance to late blight in potato free of R genes. Late blight project and research assistant, International Potato Center (CIP). Lima, Peru. 17 pp.
70. LANDEO, J. A. and L. TURKENSTEEN. 1989. Assessment of partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) of major genes in potato. *Am. Potato J.* (Abstract) 66: 530.
71. LANDEO, J. A., M. GASTELO and H. PINEDO. 1995. Breeding for horizontal resistance to late blight in potato free of R genes. *Am. Potato J.* (Abstract) 72: 636.
72. LANDEO, J. A., M. GASTELO., H. PINEDO, and F. FLORES. 1995. Breeding for horizontal resistance to late blight in potato free of R genes. Pp: 268-274. *In* Dowley, L. J., E. Bannon., L.R. Cooke., T. Keane y E. Sullivan.

- Eds. *Phytophthora infestans* 150: Proceedings. Boole Press, Dublin, Ireland. EAPR; Teagasc.
73. LANDEO, J. A., M. GASTELO, G. FORBES, J. L. ZAPATA, and F. X. FLORES. 1997. Program Report 1995-1996. Program 3 Disease Management. The International Potato Center. Lima, Peru. Pp: 122-126.
74. LANDEO, J. A. y M. HUARTE. 1996. Evaluación del proyecto R.2; Mejoramiento genético. Pp: 14-22. En PRECODEPA. Ed. Informes de la misión evaluadora de los proyectos del PRECODEPA, Fase 1994-1997, octubre de 1996. Impreso en Cerro Punta, Chiriquí, Panamá.
75. LAPWOOD, D. H. 1967. Laboratory assessments of the susceptibility of potato tuber tissue to late blight (*Phytophthora infestans*). Europa potato journal 4: 215-229.
76. LEON-VELARDE, C. y R. QUIROZ. 1994. Análisis de sistemas agropecuarios; Uso de métodos bio-matemáticos. CIRNMA. La Paz, Bolivia. 236 pp.
77. LITTLE, T. M y F. J. HILLS. 1989. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Editorial Trillas, México. Pp: 193-214.
78. LOPEZ, L. N. Z. 1995. Resistencia de campo al tizón tardío (*Phytophthora infestans* (Mont de Bary) y a los virus PVX y PVY en cruzamientos de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis Doctor en Ciencias. Colegio de Post graduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias

- Agrícolas. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Programa de genética, Montecillos, México. 138 pp.
79. LUCAS, G. B., C. L. CAMPBELL, and L. T. LUCAS. 1985. Introduction to plant diseases. Identification and management. Connecticut, USA, Avis. 313 pp.
80. MALCOLMSON, J. F. and W. BLACK. 1966. New R genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica* 15: 199-213.
81. MATUSZAK, J. M., J. FERNANDEZ-ELQUEZABAL, W. K. GU, M. VILLARREAL GONZALEZ, and W. E. FRY. 1994. Sensitivity of *Phytophthora infestans* populations to metalaxyl in Mexico: distribution and dynamics. *Plant Disease* 78: 911-916.
82. MATUSZAK, J. M., S. B. GOODWIN, W. E. FRY, and M. J. VILLARREAL GONZALEZ. 1990. Changes in the genetic diversity of *Phytophthora infestans* during epidemic in Central Mexico as determined by DNA fingerprints. *Phytopathology* (Abstract) 80: 965.
83. MONT KOC, R. M. 1993. Principios del control de enfermedades de las plantas. Impreso en Lima, Perú. Pp: 75-102.
84. MOOI, J. C. 1977. Host infection in incompatible interactions between R10 genotypes of potato and races of *Phytophthora infestans*. *Potato Research* (Abstract) 20 (3): 272.

85. MORA, W. P. y P. J. KEANE. 1996. El género *Phytophthora* II. *P. cinnamomi*, *P. infestans* y *P. palmivora*, tres especies contrastantes. Manejo Integrado de Plagas (MIP), Costa Rica. Pp: 40-63.
86. MORALES, R. 1995. Dosis y frecuencias de aplicación de fungicidas para el control del *Phytophthora infestans* en una variedad de papa susceptible y una resistente. XVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Mérida, Venezuela Compendios. Pp: 70.
87. MULLER K. and J. HAIGH. 1953. Nature of field resistance of the potato late blight nature. 781 pp.
88. MYSABYIMANA, T. 1988. General aspects on potato late blight. Generalités sur le mildeou de la pomme de terre. Gisenyi (Rwanda). Pp: 43-48.
89. NIEDERHAUSER, J. S. 1989. El tizón tardío de la papa. México, el lugar de origen y la selección. 80 pp. *En* Memorias del III Congreso Nacional de Papa. Conferencia Magistral. Toluca, México.
90. NIEDERHAUSER, J. S. 1989. *Phytophthora infestans*: the Mexican connection. Pp: 25-45. *In* Lucas J. A., R. C. Shattock, D. S. Shaw y L. R. Cooke. Eds. *Phytophthora*. Symposium of the British Mycological Society, the British Society for Plant Pathology and the Society of Irish Plant Pathologists held at Trinity, Dublin, september. Published for the British Mycological Society by Cambridge University Press, Cambridge.

91. NIEDERHAUSER, J. S. and W. R. MILLS. 1953. Resistance of *Solanum* spp. to *Phytophthora infestans* in Mexico. *Phytopathology* 43: 456-457.
92. PANDEY, H. M., T. C. MENON, and M.V. RAO. 1989. A simple formula for calculating area under disease progress curve. *Rachis* 8: 38-39.
93. PARLEVLIET, J. E. 1997. Identificación y evaluación de la resistencia cuantitativa. Pp:201-237. En Danial, D. L. Ed. Primer taller de Preduza en resistencia duradera en cultivos altos en la zona andina, 22-24 de septiembre. Quito, Ecuador.
94. PLAISTED R., H. THURSTON, and M. TINGEY. 1975. Five cycles of selection within a population of *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Amer. Potato Jour.* 30: 65-70.
95. PRECODEPA. 1993. Proyecto R.1 Tizón Tardío de la Papa. Pp: 2-12. *En* Rodríguez, R. Ed. Informe de Autoevaluación Regional Fase 1989-1994. Cerro Punta, Chiriquí, Panamá.
96. PRECODEPA. 1997. Proyecto R.1 Manejo integrado de plagas, Panamá (Líder). Pp: 2-30. *En* Rodríguez, R. Ed. Memoria de la XXI Reunión de evaluación y planificación del PRECODEPA. Antigua, Guatemala 17 al 21 de febrero de 1997. Impreso en Cerro Punta, Chiriquí, Panamá.
97. RIBEIRO, O. K. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora*. Pp: 55-70. *In* Erwin, D. C., S. Bartnicki-García y

- P. H. Tsao. Eds. *Phytophthora*, its biology, taxonomy, ecology and pathology. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
98. ROBERTSON, N. F. 1991. The challenge the *Phytophthora infestans*. The cause of the late blight of potato. *Plant Pathology*. Pp: 1-30.
  99. ROBINSON, R. A. 1996. Return to resistance: Breeding crops to reduce pesticide dependence. AgAccess, Davis, California. Printed in the United States of America. 480 pp.
  100. ROMERO, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 347 pp.
  101. SAS Institute Inc. 1988. SAS/STAT: N.C USA users guide, release 6.03 edition. SAS Institute Inc. Pp: 519-548.
  102. SCHAMALZ, H. 1980. Pflanzenzuchtung, Deutscher Landwirtschaftsverlag. Tercera edición, Berlín, Alemania. 352 pp.
  103. SHANER, G. and F. D. HESS. 1978. Equations for integrating components of slow leaf-rusting resistance in wheat. *Phytopathology* 68: 1464-1466.
  104. SHATTOCK, R. C. 1988. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*. 37: 4-11.
  105. SHATTTOCK, R. C., D. S. SHAW, A. M. FYFE, J. R. DUNN, K. H. LONEY, and J. A. SHATTTOCK. 1990. Phenotypes of *Phytophthora infestans*

- collected in England and Wales from 1985 to 1988. Mating type, response to matalaxyl and isoenzyme analysis. *Plant Pathology* 39: 242-248.
106. SHAW, D. S. 1987. The breeding system of *Phytophthora infestans*: the role of the A2 mating type. Pp: 161-174. *In* Day, P. R. y G. J. Eds. Genetics and plant pathogenesis. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
107. SHEN H., L. A. BOWER, D. C. ERWIN, and P. H. TSAO. 1983. Formation of sex organs in the A1 mating type of *Phytophthora infestans* induced chemically by A2 isolates of other species of *Phytophthora*. *Can. J. Bot.* 61: 1462-1466.
108. SHINGH, B. P. and R. K. BIRHMAN. 1994. Laboratory estimation of field resistance of potato to late blight. *Journal of Phytopathology (Germany)* 140: 71-76.
109. SNEDECOR, G. W. and W. G. COCHRAN. 1980. Statistical methods. The Iowa State University Press, Ames, IA, USA. 703 pp.
110. SPIELMAN, L. J. 1991. Isozymes and population genetics of *Phytophthora infestans*. Pp: 231-241. *In* Lucas, J. A., R. C. Shattock, D. S. Shaw y L. R. Cooke. Eds. *Phytophthora*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
111. SPIELMAN, L. J., A. DRENTH, L. C. DAVIDSE, L. J. SUJKOWSKY, W. K. GU, P. W. TOOLEY, and FRY, W. E. 1991. A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*?. *Plant Pathology* 40:422-430.

112. STEEL, R. G. D. and J. H. TORRIE. 1980. Principles and procedures of statistic. A biometrical approach, Second editions, printed USA. McGraw-Hill Book Company. 625 pp.
113. STEWART, H. E., K. TAYLOR, and R. L. WASTIE. 1983. Resistance to late blight in foliage (*Phytophthora infestans*) of potatoes assessed as true seedlings and as adult plants in the glasshouse. *Potato Research*. 26: 363-366.
114. STEWART, H. E., P. H. FLAVELLE, D. C. McCALMONT, and R. L. WASTIE. 1983. Correlation between glasshouse and field tests for resistance to foliage blight caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Research*. 26: 41-48.
115. TOOLEY, P. W. J. A. SWEIGARD, and W. E. FRY. 1986. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology* 76: 1209-1212.
116. TOOLEY, P. W., C. D. THERRIEN, and D. L. RITCH. 1989. Mating type, race composition, nuclear DNA content and isozyme analysis of Peruvian isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 79: 478-481.
117. TURKENSTEEN, L. J. 1989. Interaction of R-genes in breeding for resistance of potatoes against *Phytophthora infestans*. Pp: 85-96. In CIP Eds. Fungal diseases of the potato. Report of the planning conference on fungal diseases of the potato held at CIP, September 21-25, 1987. Lima, Peru.

118. UMAERUS, V. 1959. The relationship between peroxidase activity in potato leaves and resistance to *Phytophthora infestans*. Am. Potato Journal. 36: 124-131.
119. UMAERUS, V. and M. UMAERUS. 1995. Inheritance of resistance to late blight. Pp: 365-401. In Bradshaw, J.E. y G.R. Mackay. Eds. Potato Genetics. International Potato Center, Lima, Peru.
120. UMAERUS, V., M. UMAERUS, L. ERJEFALT, and B. A. NILSSON. 1983. Control of *Phytophthora infestans* by host resistance: Problem and progress. Pp: 315-326. In Erwin, D. C., S. Bartinicki-Garcia y P. H. Tsao. Eds. *Phytophthora*, its biology, taxonomy, ecology and pathology. American Phytopathology Society, St. Paul, Minnesota.
121. URBANO, E., G. FORBES y E. E. ORDOÑEZ. 1994. Efecto del tamaño de parcela en la eficiencia de selección para resistencia a *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum*). Fitopatología 29: 137-140.
122. VANDERPLANK, J. E. 1963. Plant diseases: Epidemics and Control. Academic New York. 344 pp.
123. VANDERPLANK, J. E. 1975. Principles of plant infection. Academic Press. New York. 216 pp.
124. VANDERPLANK, J. E. 1984. Disease resistance in plants. Academic New York. 206 pp.

125. VAN DER ZAAG, D. E. 1959. Some observations on breeding for resistance to *Phytophthora infestans*. European Potato Journal 2 (4): 278-286.
126. WALKER, J. C. 1968. Plant pathology. Second edition. New York. McGraw Hill.
127. WASTIE, R. E. 1991. Breeding for resistance. Advances in Plant Pathology. Academic Press Ltd. 7:193-224.
128. WASTIE, R. L. 1991. Breeding for resistance. Pp: 193-224. In Ingram, D. S. y P. H. Williams. Eds. *Phytophthora infestans*, the cause of late blight of potato. Academic Press, London UK.
129. WISSAR, R. y R. ORTIZ. 1988. Mejoramiento de papa en el CIP por adaptación a climas cálidos tropicales. Centro Internacional de la Papa. Guía de investigación 22. 51 pp.
130. ZADOKS, J. C., P. K. ANDERSON, and S. SAVARY. 1994. An eco-regional perspective of crop protection problems. Pp: 437-452. In Bouma, J., A. Kuyvenhoven, B. A. M. Bouman, C. Luyten, y H. Zandstra. Eds. Eco-regional approaches for sustainable land use and food production. Printed in the Netherlands.
131. ZAPATA, J.L. y E. FERNANDEZ-NORTHCOTE. 1997. Combinación de inmunidad de los virus X e Y de la papa y resistencia a *P. infestans* en clones de papa. Pp. 23-34. En P. Malagamba (Ed.). Revista Latinoamericana de la Papa. Lima, Perú.