

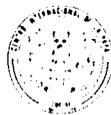
Evaluación de la Resistencia en Papa a los Nematodos del Quiste

María Mayer de Scurrah



evaluación de resistencia

Boletín de Información Técnica 10
1981



CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP)

Lima -- Perú

PN-ARD-600

Boletín de Información Técnica 10

Evaluación de la Resistencia en Papa a los Nematodos del Quiste

María Mayer de Scurrah

Centro Internacional de la Papa
Apartado 5969
Lima - Perú

Cable: CIPAPA-Lima
Telex: 25672 PE

- 150

El CIP autoriza la reproducción total o parcial de este boletín.

Evaluación de la Resistencia en Papa a los Nematodos del Quiste

Objetivos. El estudio de este boletín debe capacitarle para:

- explicar la resistencia,
- analizar las fuentes y los usos de la resistencia,
- llevar a cabo una prueba de resistencia utilizando macetas,
- describir una prueba de campo para resistencia,
- analizar el mantenimiento y uso de material resistente.

Materiales.

- Plantas de papa infestadas con nematodos del quiste.
- Inóculo, suelo, tubérculos y macetas.
- Ilustraciones de hembras y quistes en las raíces.
- Ilustraciones de los sistemas de evaluación que emplea el CIP (pruebas de macetas y de campo).
- Ilustración de una prueba de campo con los clones para evaluar y los testigos distribuidos en un diseño al azar.

Prácticas.

- Instale una prueba con macetas según la Sección 4.
- Realice la evaluación de la prueba de macetas.
- Instale una prueba de campo.
- Practique en el campo la evaluación de plantas infestadas, según la Sección 5.
- Demuestre la utilización más adecuada del material de investigación que ha entrado a un programa de evaluación.

Cuestionario.

1. ¿Cómo se estimula la emergencia del segundo estado juvenil de los nematodos del quiste de la papa?
2. ¿Qué importancia tienen los síncitos, o células de transferencia, para el desarrollo de las hembras?
3. ¿Cuáles son los dos tipos de resistencia que se conocen en papa?
4. ¿Qué ventajas tiene el tipo de resistencia que afecta el desarrollo de los síncitos?
5. ¿Qué importancia tiene para la resistencia que haya patotipos específicos?
6. ¿Cuáles son las principales fuentes de resistencia a nematodos?
7. ¿Cuáles son los modos más eficientes para explotar las fuentes actuales de resistencia?
8. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de la prueba de macetas frente a la prueba de campo para identificar material resistente?
9. ¿Cuál es el principio en que se basa la prueba de macetas?
10. ¿Por qué es necesario verificar la viabilidad de los quistes que se usarán como inóculo?
11. ¿Qué ventajas tiene agregarle arena al suelo que se usa en la prueba de macetas?
12. ¿Por qué se debe sembrar un solo tubérculo por maceta?
13. ¿Qué función tienen las plantas susceptibles en la prueba de macetas?
14. ¿Por qué se necesitan el riego periódico y la sombra adecuada?
15. ¿Por qué la prueba con plántulas es menos confiable que la prueba con tubérculos?
16. ¿Cuál es la mejor indicación del éxito de una prueba?
17. ¿En qué principio se basa una prueba de campo?
18. ¿Cómo deben ser distribuidas las variedades susceptibles (testigos) en el diseño de campo?
19. ¿Por qué se debería guardar material vegetal adicional para multiplicarlo en forma aislada de la prueba de resistencia?
20. ¿Qué ventaja tiene disponer de diversas variedades resistentes?

El CIP autoriza la reproducción total o parcial de este boletín.

Evaluación de la Resistencia en Papa a los Nematodos del Quiste

- 1 Introducción.
- 2 Naturaleza de la resistencia.
- 3 Fuentes de resistencia.
- 4 Prueba de macetas.
- 5 Prueba de campo.
- 6 Mantenimiento y uso del material resistente.
- 7 Lecturas adicionales.

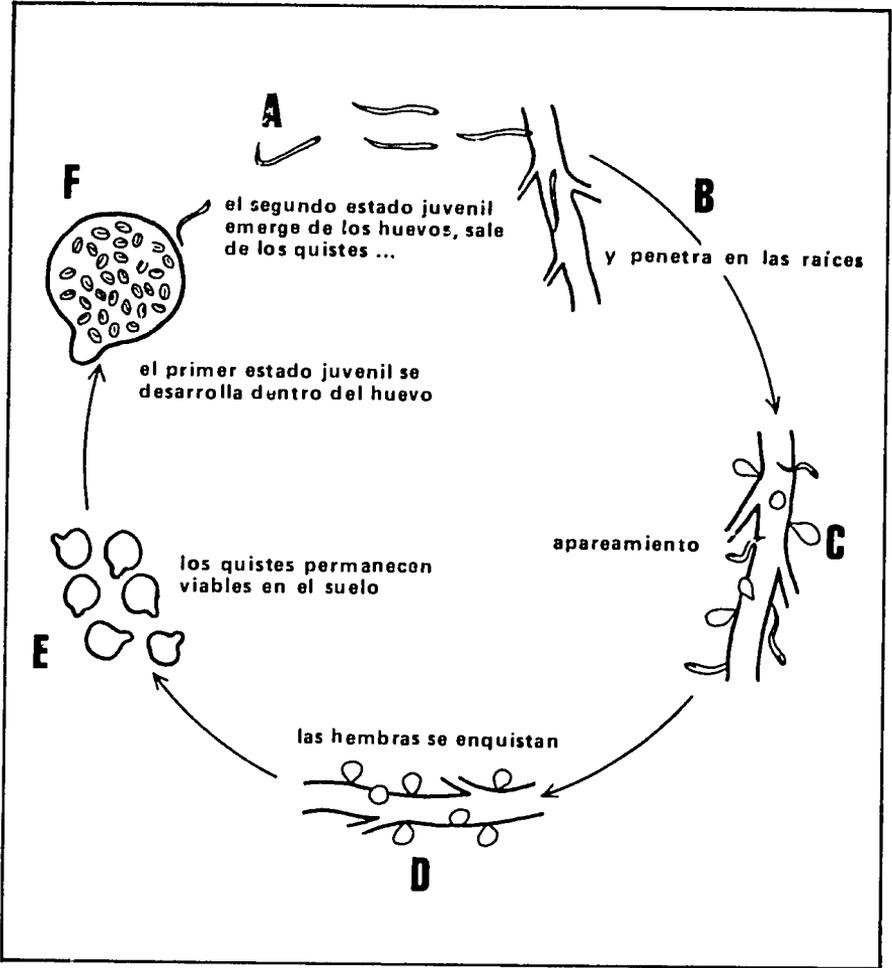
1 **Introducción.** Los nematodos del quiste, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* son animales microscópicos que parasitan la raíz. Por muchos años han coevolucionado con la papa y se encuentran distribuidos en casi todo el mundo. Cuando llegan a infestar un suelo es prácticamente imposible eliminarlos. Causan pérdidas directas al dañar las raíces y pérdidas indirectas debido a que para controlarlos se requieren largas rotaciones de cultivos. Cuando un agricultor se entera de que su terreno está infestado debe decidir si comparte su cultivo de papa con los nematodos del quiste, si cambia por completo de cultivo, o si aplica diversos métodos de manejo del cultivo y de los nematodos incluyendo el uso de variedades resistentes. (Ver Franco, 1981, para obtener información adicional sobre *Globodera*.)

2 Naturaleza de la resistencia. Bajo el estímulo de un exudado de la raíz, el segundo estado juvenil de los nematodos del quiste de la papa eclosiona, y emerge de los quistes. Durante el desarrollo siguiente, las hembras se vuelven sedentarias en las raíces. Las células radiculares que rodean la cabeza de cada hembra se agrandan y forman los síncitos o células de transferencia. Los síncitos son vitales para el desarrollo de la hembra, porque le suministran alimento, y también son un factor clave de los mecanismos de la resistencia varietal.

Aparte de la tolerancia, (característica ésta que le permite a la planta producir satisfactoriamente a pesar de desarrollarse en un campo infestado de nematodos) hay dos tipos de resistencia:

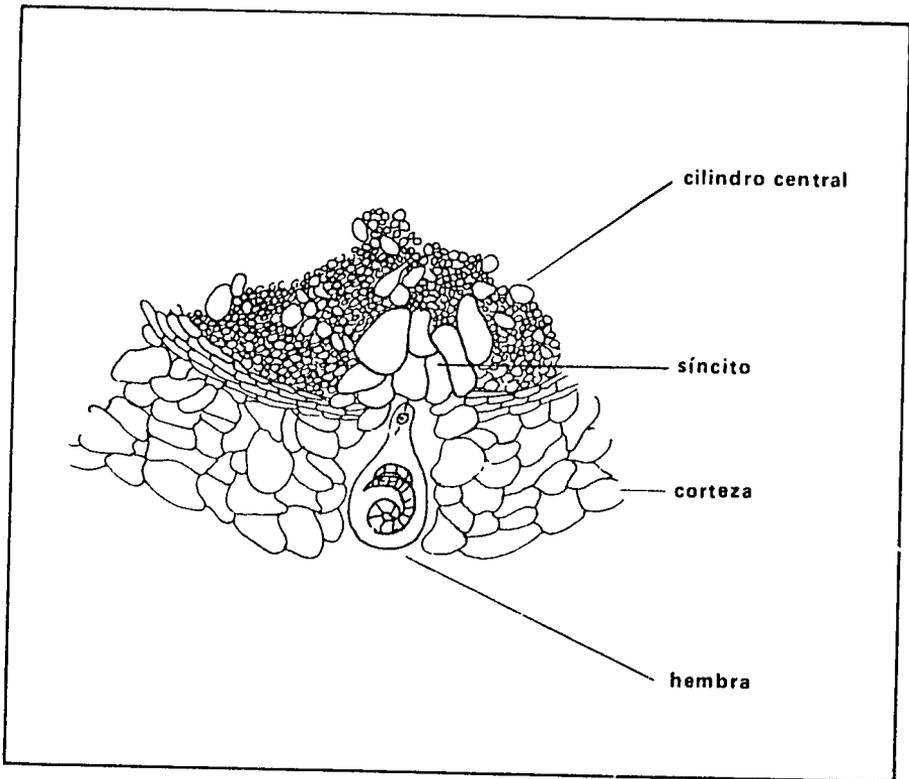
- Las raíces no exudan la sustancia que estimula la emergencia del segundo estado juvenil.
- Los síncitos no se forman o no funcionan como fuentes de alimento para la hembra del nematodo.

En el segundo caso se presenta una gran ventaja: el segundo estado juvenil emerge ante el estímulo del exudado, pero no llega a completar su ciclo de vida. La densidad de población de los nematodos se reduce drásticamente cuando se interrumpe su ciclo de vida. La reducción puede ser mayor que cuando se rota con un cultivo no hospedero o que cuando se deja la tierra en barbecho o descanso. La siembra de una variedad resistente puede ser tan efectiva como no sembrar papa durante 5 a 7 años en el mismo campo. Además, utilizar variedades resistentes es menos costoso para el agricultor que otras medidas de control, no perjudica al ambiente, ayuda a reducir el peligro de diseminación de los nematodos, y a mantener la infestación dentro de niveles tolerables de daño.



Un ciclo de vida de los nematodos del quiste de la papa es una generación y ocurre en una temporada tomando entre 6 y 10 semanas. A: El segundo estado juvenil emerge de los huevos, todavía dentro del quiste, bajo el estímulo de exudados de la raíz. B: Penetra en las raíces. C: Las hembras se instalan sedentariamente en las raíces y se alimentan de los sincitos o células de transferencia. Se desarrollan como esferas alrededor de su cabeza. Esta es la fase de desarrollo donde la resistencia afecta la formación de sincitos e interrumpe el ciclo de vida de los nematodos. Los cuerpos de las hembras rompen la superficie de la raíz y su cuerpo asoma. D: Los cuerpos de las hembras muertas se convierten en quistes. E: Los quistes se desprenden fácilmente de la raíz y permanecen viables en el suelo por más de 20 años. F: El primer estado juvenil se desarrolla dentro del huevo y dentro del quiste, con doble protección de la cáscara del huevo y la pared del quiste.

Los síncitos no se forman cuando se presenta una interacción controlada genéticamente entre los nematodos y la planta de papa. A este fenómeno se le conoce como incompatibilidad. Esa interacción es específica para cada patotipo. La eficiencia de la resistencia depende de los patotipos de nematodo existentes en un área y debe ser evaluada mediante experimentación. La siembra repetida de una variedad con resistencia específica, en suelos de niveles altos de infestación, puede ocasionar una selección de patotipos compatibles con la planta, hasta el grado en que la resistencia deje de ser efectiva.



En el caso de compatibilidad genética entre los nematodos y la planta de papa, la actividad de las hembras al alimentarse hace que en la raíz se formen grupos de células agrandadas llamadas síncitos. En las variedades resistentes puede ocurrir que no se formen los síncitos o que no funcionen como fuente de alimentos para la hembra del nematodo.

3 Fuentes de resistencia. Posiblemente las civilizaciones preincas seleccionaron conciente o inconcientemente papa resistente y así contribuyeron al desarrollo de la especie cultivada de *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*, la cual es una fuente básica de resistencia a nematodos. Adicionalmente, algunas especies silvestres de *Solanum* pueden aportar genes de resistencia útiles en mejoramiento.

Los programas de mejoramiento tienen como tarea la transferencia y combinación de genes de resistencia. La técnica de cruzamiento para producir nuevas combinaciones no es difícil. Sin embargo, se necesitan, generalmente, más de diez años para seleccionar de entre miles de plántulas aquellas que tienen buena resistencia, rendimiento alto y características cualitativas deseadas. Solamente programas de mejoramiento bien establecidos pueden desarrollar estos procedimientos tan largos y costosos. Además, no existe la certeza de que las nuevas variedades resistentes lo sean en todos los lugares donde las siembren.

Una forma más eficiente de trabajo es aprovechar las fuentes de resistencia que ya se conocen. Estas pueden ser variedades resistentes ya disponibles, o materiales avanzados provenientes de otros programas de mejoramiento como el del CIP. La evaluación de estos materiales por parte de los programas nacionales ayuda a identificar aquellos que muestren resistencia en las diversas condiciones ambientales de un país. Un programa de evaluación puede emplear la prueba de macetas, que requiere materiales e instalaciones especiales para el trabajo nematológico, o, si ello no es posible, puede utilizar un método menos complejo y menos exacto, que es la prueba de campo. (Ver secciones 4 y 5.)

4 Prueba de macetas. En esta prueba las plantas (provenientes de tubérculos o de semilla botánica) sembradas en macetas, y bajo condiciones controladas, se someten a una cantidad estandarizada de inóculo. Esta prueba es más confiable que la de campo, requiere pocas plantas, y permite evaluar mayor número de variedades. Sin embargo, para hacerla se necesita cierto entrenamiento, instalaciones, y materiales tales como inóculo, macetas, tubérculos o plántulas y suelo.

Inóculo. El inóculo consiste en quistes viables. Estos se obtienen de campos infestados naturalmente, o de macetas infestadas artificialmente, en las cuales se haya sembrado plantas de papa susceptibles. La infestación del suelo tanto en campos como en macetas se estima observando la presencia de hembras maduras sobre las raíces de variedades reconocidas como susceptibles.

Para separar los quistes del suelo, primero se deja secar éste, luego se pone en un recipiente con agua y se agita. El suelo se sedimenta y los quistes flotan junto con algunos materiales orgánicos del suelo. La parte que flota se debe recolectar y luego filtrar en muselina o papel de filtro y cuando haya secado se coloca encima de una hoja de papel. Los quistes, como son esféricos, se pueden retirar por rodamiento de la hoja de papel, se guardan en vasos especiales o en platos de petri y se colocan en un lugar fresco.

Luego se verifica la viabilidad de los quistes. Para ello, con una navaja de disección, se abren unos 25 quistes tomados al azar y se observa si contienen huevos y estados juveniles. Esta prueba de viabilidad total se realiza más eficientemente con un triturador de quistes, tomando las precauciones necesarias para no triturar los huevos o los estados juveniles. La masa que resulta de la trituración se suspende en agua. Se toma una muestra proporcional al volumen de la suspensión y se cuentan huevos y estados juveniles con ayuda de un microscopio. Un quiste viable debe contener entre 50 y 400 huevos y estados juveniles en conjunto.

La viabilidad también se puede verificar inoculando una variedad susceptible, sembrada en una maceta, con 10 quistes tomados al azar (ver descripción más adelante). Si los quistes son viables, al cabo de ocho semanas se desarrollan nuevas hembras, visibles sobre la raíz.

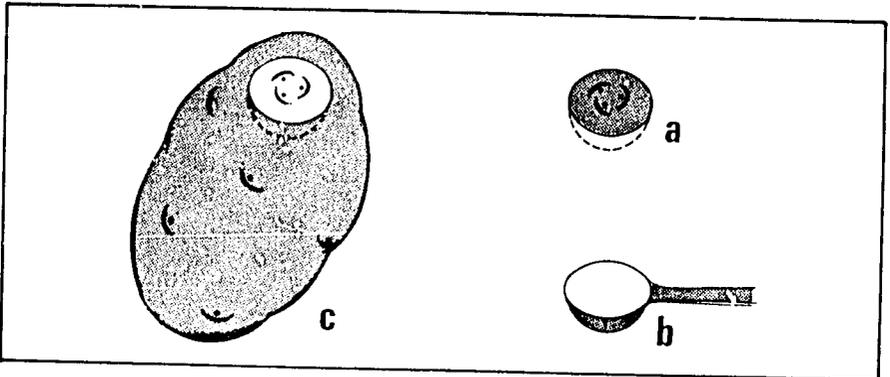
Macetas. Las macetas deben ser pequeñas para que se pueda evaluar el mayor número posible de plantas. El número de macetas está determinado por el número de tubérculos (replicaciones por clon) para evaluar:

$$\# \text{ macetas} = \# \text{ clones} \times \# \text{ replications}$$

En macetas de 7 a 10 cm de diámetro, cerca de 90% de las raíces se enrolla alrededor de la masa de tierra moldeada por la maceta. Así se puede evaluar fácilmente la infestación de nematodos. Las macetas pueden ser de barro o de plástico.

Tubérculos. Los tubérculos por evaluar deben estar bien brotados para que las plantas emerjan rápido. De lo contrario, la prueba fallará. Para realizar una prueba se necesitan 2 a 5 tubérculos por variedad o clon. La evaluación es más segura cuando se usan cinco tubérculos que cuando se usan dos.

Los tubérculos grandes se parten sin dejar de tomar las precauciones necesarias para controlar la descomposición de los mismos. También se puede usar ojos de tubérculo; para ello se cortan los ojos, con un cuchillo especial, cuatro días antes de sembrarlos. Una vez hechos los cortes se dejan en su posición en el tubérculo para que suberice el corte y se retiran luego. De este modo un tubérculo grande sirve para tres o cuatro replicaciones.

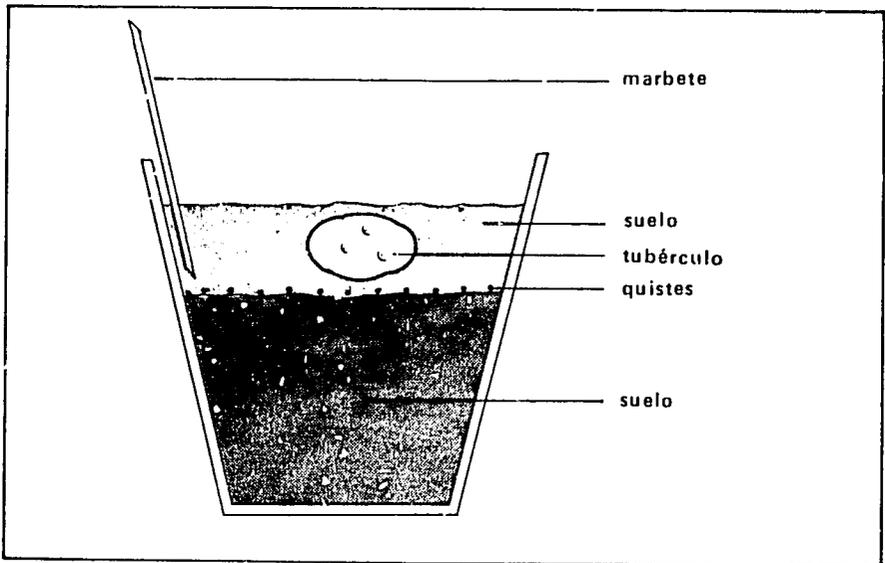


En lugar de usar tubérculos enteros, se puede cortar ojos (a) con un cuchillo especial (b) cuatro días antes de sembrarlos. Una vez cortados se dejan en su posición en el tubérculo (c), para que suberice el corte, hasta el momento de sembrarlos.

Suelo. Se usa cualquier suelo orgánico que proporcione buen crecimiento a la planta en la maceta. Se agrega 25 a 30% de arena para facilitar el movimiento de los nematodos. El suelo no debe contener otros nematodos pues los resultados serían ambiguos o confusos.

Procedimiento. Las macetas deben estar llenas hasta el 75% de su capacidad. Sobre la superficie del suelo en cada una se distribuye uniformemente una cantidad de quistes viables suficiente para tener 4 000 huevos (25 a 30 quistes). Se emplean porciones de quistes previamente contadas o se utiliza un recipiente que contenga la cantidad indicada de quistes.

Se siembra un tubérculo por maceta y se cubre con suelo. En un marbete previamente preparado se identifica en cada maceta la variedad de papa y la fecha de siembra. Para determinar si el resultado es exitoso, se siembra, como testigo, dos macetas con plantas susceptibles por cada 50 a 100 macetas de evaluación.

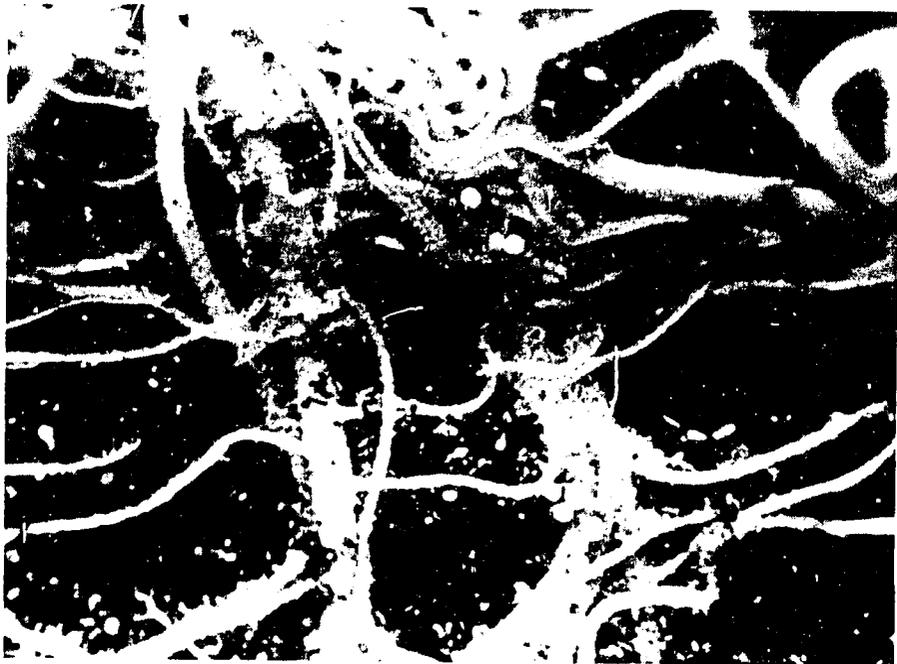


El suelo ocupa tres cuartas partes de la maceta. Los quistes se distribuyen sobre la superficie del suelo. Se siembra un tubérculo por maceta y se cubre con suelo.

Es necesario proporcionar riego y sombra. Sin ellos, el suelo de las pequeñas macetas se seca rápidamente y el estado juvenil de los nematodos puede morir antes de invadir las raíces, o éstas no se desarrollan bien. Las macetas pueden ser enterradas en musgo, arena, o aserrín, para reducir la evaporación y mantener humedad constante.

Después de 8 a 10 semanas con temperaturas entre 10 y 25° C, las hembras rompen la corteza de la raíz y quedan visibles para evaluación. Para saber si la prueba ha sido exitosa y si ya es tiempo de evaluar la resistencia, se observan las plantas susceptibles (testigos) así:

- hembras abundantes indican éxito,
- pocas hembras o ninguna indican fracaso.



Cerca de 8 a 10 semanas después de sembrar, es posible observar hembras en el exterior de la masa de suelo y raíces moldeada por la maceta.

Evaluación. Se cuenta el número de hembras en la superficie de la masa de raíces y suelo moldeada por la maceta. Cuando hay más de 15 hembras se hace una estimación de la cantidad. El CIP utiliza la siguiente escala:

Número de hembras	Evaluación
0 a 15	número exacto
16 a 50	+
51 a 100	+ +
más de 100	+ + +

La evaluación se puede anotar en el marcete que tiene cada maceta. Las plantas pueden ser descartadas, o devueltas a la maceta para hacer una segunda evaluación. Pero, en general, una sola evaluación es suficiente.

La prueba tiene éxito cuando las plantas susceptibles (testigo) están fuertemente infestadas (+++). Falla cuando las plantas susceptibles (testigo) presentan pocas hembras o no presentan una sola. El nivel de resistencia se puede definir arbitrariamente y de acuerdo con las necesidades locales, por ejemplo puede ser definido como cinco hembras por maceta. Este valor quiere decir que plantas con hasta cinco hembras por maceta se consideran resistentes y plantas con seis o más hembras por maceta se descartan.

Aunque esta evaluación tiene una alta correlación con el número total de hembras en todo el sistema radicular de la planta, puede ser importante hacer una investigación más precisa.

Prueba de la plántula. Con plántulas se puede hacer una prueba semejante a la que se hace con tubérculos. Un mes después de que las plántulas han brotado se trasplantan a macetas que contienen suelo inoculado con quistes. La prueba no es muy confiable debido al poco vigor radicular de las plántulas. Por eso, se deben tomar sólo las plantas con las evaluaciones más bajas (cero a tres hembras) para trasplantarlas a macetas más grandes con el fin de producir tubérculos para una reevaluación.

5 Prueba de campo. El nivel de resistencia se puede conocer mediante una prueba sencilla de campo cuando no se dispone de los materiales y de las instalaciones necesarios. Esta prueba de campo puede ser utilizada para evaluar la resistencia de los clones de papa y estimar la densidad de población de nematodos.

El principio central de la prueba de campo es comparar la infestación en las raíces de unas variedades con otras. Aparte de necesitar un campo infestado no se requieren instalaciones especiales.

Debido a que la infestación del campo está distribuida desuniformemente es preferible sembrar en forma dispersa los clones bajo evaluación. Esto se logra muy bien mediante un diseño al azar de por lo menos dos replicaciones por clon con 10 plantas por replicación. Para determinar la uniformidad y severidad de la infestación del campo se alternan en el diseño una variedad de papa susceptible con las variedades en evaluación.

Al momento de la floración (unas 8 a 12 semanas después de la siembra) se arrancan las plantas con gran cuidado. Con un poco de experiencia es fácil observar sobre las raíces los pequeños cuerpos esféricos (hembras) de color blanco, amarillo, o marrón, que tienen entre 0,5 y 1 mm de diámetro.

Para la evaluación se usa el siguiente índice:

- 0 = ausencia de hembras
- 1 = pocas hembras, difíciles de encontrar
- 2 = pocas hembras fáciles de ver
- 3 = muchas hembras en casi cada raíz.

Si la variedad susceptible utilizada como testigo tiene una evaluación de 3, entonces una variedad evaluada con 0 ó con 1 puede ser considerada como resistente. Aunque la prueba de campo es confiable, puede ocurrir que la discontinuidad de la infestación del campo no sea corregida mediante la distribución al azar de las variedades en evaluación, por lo cual sería deseable evaluar otra vez los clones que hayan sido considerados como resistentes. La prueba tiene ventajas en los casos cuando sólo hay necesidad de comparar unos pocos clones y cuando se dispone de suficientes tubérculos-semillas y campos de siembra.

Variedad susceptible	Variedad susceptible
Variedad 7	Variedad 1
Variedad susceptible	Variedad susceptible
Variedad 5	Variedad 2
Variedad susceptible	Variedad susceptible
Variedad 4	Variedad 3
Variedad susceptible	Variedad susceptible
Variedad 2	Variedad 4
Variedad susceptible	etc.
etc.	

Las variedades en evaluación se deben sembrar en un diseño al azar, alternando con una variedad susceptible que sirve de testigo.

6 Mantenimiento y uso del material resistente. Una planta resistente de una variedad o de un clon, es de poco valor si no tiene rendimiento alto. Por ello, se debe conservar tubérculos suficientes de material resistente para hacer evaluaciones de rendimiento y calidad. Si se llega a necesitar más tubérculos, se puede multiplicar los existentes (bajo las condiciones recomendadas para producir semilla de papa, con el fin de evitar la infección virósica).

Al tener tubérculos suficientes de un material resistente cuyos rendimientos sean altos y su calidad buena, ese material se puede entregar a los agricultores.

En el campo del agricultor se deben efectuar pruebas en forma continua para evaluar la resistencia de esa nueva variedad, al igual que la dinámica de la población de los nematodos (patotipos).

Para evitar que ocurra la selección de patotipos agresivos (compatibles con la planta) conviene entregar más de una variedad de modo que el agricultor tenga alternativas. El uso continuo de la misma variedad resistente a nematodos puede conducir a un incremento natural de patotipos que venzan la resistencia. Por ello el agricultor debe disponer de un número de variedades, con fuentes distintas de resistencia.

NOTA: Cuando recibamos sus respuestas a las preguntas formuladas en el otro lado de esta hoja, le enviaremos la lista más reciente de Boletines de Información Técnica del CIP.

Por favor doble esta hoja dos veces de modo que tanto la dirección del CIP como la suya queden visibles. Pegue y despache por correo aéreo.

Mayo, 1982.

Centro Internacional de la Papa (CIP)
Apartado 5969
Lima – Perú

Cable: CIPAPA—Lima
Télex: 25672 PE

— primer dobléz —————

Aéreo
Air Mail
Par Avion

Porte

Centro Internacional de la Papa (CIP)
Departamento de Adiestramiento y Comunicaciones
Apartado 5969
Lima, Perú

— segundo dobléz —————

Remite:

Nombre:
Entidad:
Calle y número:
(o Apartado):
Ciudad:
País:

cinta adhesiva



Evaluación: Boletines de Información Técnica

Los Boletines de Información Técnica del CIP contienen información importante para investigación y producción de papa. Aunque están escritos para niveles profesionales intermedios, la mayor parte de la información es fácilmente adaptable al nivel de agricultores. Puede ser usados en:

- a) estudio individualizado,
- b) producción de papa,
- c) experimentación,
- d) adiestramiento,
- e) producción de mensajes para los agricultores.

Sus respuestas a las preguntas siguientes son importantes para la revisión periódica de los Boletines, de modo que éstos satisfagan más adecuadamente las necesidades que usted tenga.

1. Título del Boletín: _____
2. ¿Dónde lo obtuvo? _____
3. Su cargo o empleo: _____
4. Sus actividades son de: administración, investigación, enseñanza,
 estudio, extensión, producción de papa. otra (explicar) . . .

5. La presentación es: muy académica, muy elemental, adecuada.
6. ¿Cree que el boletín debe llevar más información? ¿Cuál? _____
7. ¿Cómo ha utilizado la información? (Marque su respuesta entre a y e, al comienzo de esta hoja)
8. ¿Qué otros Boletines de Información Técnica tiene usted? _____
9. ¿Cuáles le han sido más útiles? _____
10. El precio de US\$ 1 por boletín ¿le impide solicitar más?
11. ¿Qué temas nuevos sugeriría usted?
12. Otros comentarios.

Muchas gracias

Por favor lea al reverso.

7 Lecturas adicionales.

Franco, J. 1981. Nematodos del quiste de la papa; *Globodera* spp. Boletín de Información Técnica 9. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 21 pp.

International Potato Center. 1978. Developments in the control of nematode pests of potato. Report of the 2nd nematode planning conference. International Potato Center. 193 pp.

Jatala, P. 1981. Nematodos parásitos de la papa. Boletín de Información Técnica 8. Centro internacional de la Papa, Lima, Perú. 17 pp.

Jones, F.G.W. 1970. The control of potato cyst nematode. Journal of the Royal Society of Arts. 118: 179-199.

Huijsman, C.A. 1960. The influence of resistant potato varieties on soil populations of *Heterodera rostochiensis*. Nematologica 6: 177-180.