36927

EVALUACION DE LA RESISTENCIA HORIZONTAL A *Phytophthora infestans* Y CARACTERIZACION FENOTIPICA DE HIBRIDOS SOMATICOS OBTENIDOS POR LA VIA DE FUSION DE PROTOPLASTOS.

Responsables :	Nelson Estrada R.	Profesor Universidad nacional (Genética)
	Carlos E. Ñustez L.	Profesor Universidad nacional (Genética)
Colaboradores :	Marina Caro	Instituto de Biotecnología (Cultivo de Tejidos)
	Sonia Tinjacá R.	Estudiante de posgrado

OBJETIVOS

Evaluar la reacción a la raza compleja H1N de *Phytophthora infestans* de una colección de hibridos somáticos obtenidos por la via de fusión de protoplastos.

Caracterizar fenotípicamente 24 clones de la hibridación somática de S. bulbocastanum + S. phureja.

MATERIALES Y METODOS

En el segundo semestre de 1996 fueron enviados a el Dr. Nelson Estrada un grupo de 15 clones de el hibrido somático *S. bulbocastanum + S. phureja*. En febrero de 1997 llego un segundo grupo conformado por 9 clones pertenecientes a la misma fusión. todos ellos bajo condiciones in vitro, provenientes del trabajo realizado por la Dra. L. Schilde. en la Universidad de Tübingen en Alemania (Cuadro 1).

Para la multiplicación estos clones se utilizo las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales In Vitro del Instituto de Biotecnología "IBUN". La fase de adaptación de los clones a condiciones ex vitro se llevo en la Estación Experimental ICA San Jorge en Soacha Cundinamarca a 2900 m.s.n.m.

Cuadro 1 : Clones del Híbrido somático obtenido de la fusión de protoplastos entre *S. bulbocastanum + S. phureja* ingresaron al Programa de Papa en los años 1996 y 1997.

HIBRIDO SOMATICO	N. IDENTIFICACION DE LOS CLONES
S. phureja - *S. bulbocastanum*	1, 2, 3, 4, 6, 7, 9,10, 11, 13, 14, 18, 20, 21, 24 7/2, 7/3, 7/4, 7/5, 7/8, 7/10, 7/11, 7/18 y 7/28

En el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del "IBUN", se realizaron tres ciclos de multiplicación vegetativa in vitro de los clones introducidos, empleando los medios de cultivo y equipos necesarios.

Los primeros 15 clones del híbrido somático de *S. bulbocastanum* + *S. phureja*, se transplantaron bajo condiciones de invernadero, en camas a una distancia de 20 cms entre surco y 5 cms entre plantas.

La primera generación de tubérculos obtenida de los 15 clones (10 tubérculos/ clon) se llevò a un ciclo de cultivo en campo, sembrando a 1 m entre surcos y 30 cms entre plantas, aplicando el fertilizante 10-30-10 en cada sitio.

Se realizaron observaciones periódicas a todos los clones para ver si se presentaba lesiones causadas por *P. infestans*. En etapa de floración se tomaron de cada clon cinco foliolos terminales para evaluar su resistencia en condiciones in vitro en el laboratorio, se empleo la raza compleja H1N, la cual se mantiene en subcultivo en rodajas de papa susceptible a el hongo.

En la inoculación se empleo una solución de la raza a una concentración de 10.000 esporangios/ ml, las hojas se colocaron por el envés en cajas de petri creándoles una cámara húmeda y se aplico una gota de 50 µl. Las cajas se ubicaron sobre mesas sin que efecto de luz directa del sol. Se realizaron lecturas al 3, 5 y 7 dia posterior a la inoculación, tomando el diámetro mayor de la lesión. Se tuvo como testigos a Diacol-Capiro, *S. phureja* (San Pedro), Algodona y *S. goniocalix*.

A los resultados obtenidos se les realizo un análisis estadístico correspondiente a una regresión lineal simple, para conocer la tasa de crecimiento de la lesión. La prueba se repitió a los 15 días.

La fertilidad masculina se evaluó obteniendo el polen de las inflorescencias y evaluándolo por los métodos de tinción con azul de lactofenol y de germinación in vitro.

Durante el desarrollo del ciclo se evaluaron algunas características fenotípicas visibles que evidenciaran el cambio de las plantas debido a la transformación.

El resto de los clones de los híbridos somáticos se transplantaron a invernadero en septiembre de 1997, bajo las mismas condiciones que los primeros.

RESULTADOS

Los primeros 15 clones transplantados del híbrido somático de *S. bulbocastanum* + *S. phureja* presentaron un buen desarrollo bajo condiciones de invernadero, de donde se logro obtener los tubérculos que se llevaron al ciclo de campo. En este ciclo no se presento ataque del patógeno en condiciones de campo.

La evaluación en condiciones in vitro evidencio una alta resistencia para todos los clones y solamente se observo hacia el final de la prueba un ligero amarillamiento de los foliolos, frene a los testigos que si presentaron algún grado de susceptibilidad al patógeno, lo cual se puede apreciar en las Figuras 1 y 2.

Para las características fenotípicas evaluadas en campo se encontró, hojas con un par de foliolos laterales y un foliolo terminal de gran tamaño, su textura de tipo coriacea, de forma lobulada, color verde oliva oscuro. Todos los clones se caracterizaron por tener un largo periodo de floración y particularmente las flores presentaron un tipo estrellado de color violeta. Se presento para algunos clones fusiones de anteras y duplicación de su número. El clon 4 fue el único que formo bayas, pero no se dio la formación de semillas.

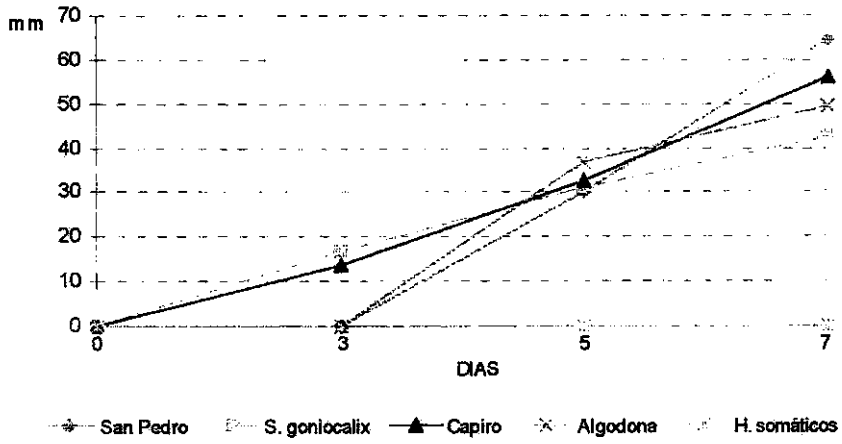

Figura 1 : Resultado de la tasa de crecimiento de la lesión causada por *P. infestans* bajo condiciones in vitro, en 15 clones del híbrido somático *S. bulbocastanum* + *S. phureja* y cuatro testigos (primera prueba).

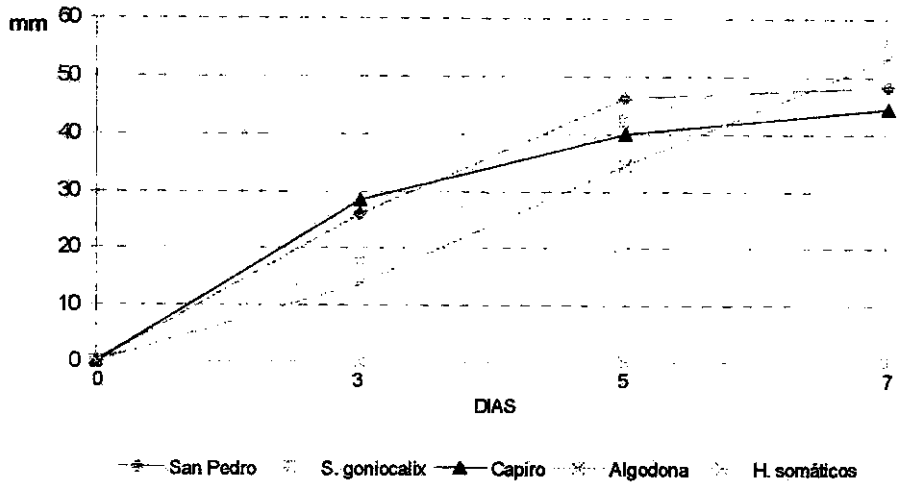

Figura 2 : Resultado de la tasa de crecimiento de la lesión causada por *P. infestans* bajo condiciones in vitro en 15 clones del híbrido somático *S. bulbocastanum* + *S. phureja* y cuatro testigos (segunda prueba).

En cuanto a las evaluaciones del polen se encontró una alta esterilidad en todos los clones, esto asociado con las características señaladas en el desarrollo de la flor. Se espera que mejore el polen en la próxima generación.

Los demás clones de este híbrido somático señalados en el Cuadro 1, se encuentran en crecimiento en el invernadero, tomándose algunas anotaciones previas de su comportamiento bajo este ambiente.

CONCLUSIONES

En general los 15 clones que se evaluaron por P. infestans presentaron una alta resistencia, la cual será de potencial uso en el Programa de mejoramiento de papa.

Los 15 clones presentaron un largo periodo de floración, pero a si mismo una muy baja fertilidad masculina.

EVALUACION DE LA RESISTENCIA HORIZONTAL A *Phytophthora infestans* Y CARACTERIZACION FENOTIPICA DE HIBRIDOS SOMATICOS OBTENIDOS POR LA VIA DE FUSION DE PROTOPLASTOS.

Responsables : Nelson Estrada R. I.A. Ph.D., Carlos E. Ñustez L. I.A. M.Sc.

Colaboradores : Marina Caro I.A. (Instituto de Biotecnología U.N.), Lic. Sonia Tinjacá R.

RESUMEN

24 clones de la hibridación somática *S. bulbocastanum* + *S. phureja*, obtenidos mediante fusión de protoplastos por la Dra L. Schilde, en la Universidad de Tübingen (Alemania), fueron recibidos *in vitro* para ser evaluados por su resistencia a *P. infestans* y ser caracterizados fenotípicamente.

En su primera fase, los genotipos fueron multiplicados *in vitro* en el laboratorio de cultivo de tejidos del Instituto de Biotecnología-U.N (IBUN). Los primeros 15 clones se transplantaron a camas en casa malla en la Estación Experimental ICA San Jorge a 2900 m.s.n.m. y los tubérculos obtenidos de cada clon se llevaron a un ciclo en campo donde se hizo caracterización fenotípica. Los restantes genotipos se encuentran en crecimiento en casa malla.

Para la evaluación por resistencia a la "gota" bajo condiciones del laboratorio de fitopatología de la U.N., se tomaron 5 foliolos de cada clon, se inoculo con una concentración de 10.000 esporangios/ml de la raza compleja H1N, aplicando 50 µl en cada uno. Se hizo lectura del avance de la enfermedad a los 3, 5 y 7 días. Con la información obtenida se realizó un análisis de regresión para conocer la tasa de crecimiento de la enfermedad en los genotipos evaluados. La prueba se repitió a los 15 días. Además, se evaluó la fertilidad masculina mediante el método de tinción y de germinación in vitro.

Como resultado de la evaluación por resistencia a la "gota", se encontró, que los 15 clones presentaron una resistencia a la enfermedad que se puede considerar como extraordinaria, en comparación con los testigos, ya que durante el tiempo de la prueba y en las dos repeticiones realizadas, la infección fue nula en ellos, mientras que en los testigos se presentó la enfermedad.

Los clones se caraterizaron por presentar hojas con tres foliolos, con textura coriácea, no común en las papas cultivadas, el foliolo terminal de gran tamaño, un periodo de floración largo, con alto número de flores por inflorescencia, y una marcada estrella en la corola. La fertilidad del polen en todos ellos mostró una alta esterilidad. El vigor de las plantas fue intermedio y su periodo vegetativo relativamente largo.