



Boletín de la Alianza *Globodera*

El Uso de Marcadores Moleculares para la Identificación de Variedades de Papas Resistentes a los Nematodos del Quiste de la Papa

Walter De Jong, Universidad de Cornell

Traducido por J. B. Contina, Universidad de Idaho

En esta edición:

- Pruebas de Resistencia 1
- Marcadores Moleculares 2
- Transición del Invernadero al Campo 3
- Acerca del Proyecto GLOBAL 3
- Eventos Futuros 4
- Congreso Mundial de la Papa 5

Pruebas de Resistencia

Para probar si una variedad de papa es resistente a los nematodos del quiste de la papa (PCN, por su sigla en inglés: Potato Cyst Nematodes) no es fácil. Existen solamente dos instalaciones en los EEUU – uno en Idaho y el otro en Nueva York – donde se permiten hacer experimentos con PCN. Estas instalaciones deben mantener de manera estricta las regulaciones fitosanitarias para evitar que PCN se escapen.

Las pruebas de resistencia consumen mucho tiempo. En un ensayo típico lle-

vado en un invernadero utilizando macetas, se coloca en un suelo infestado por huevos de PCN un tubérculo o una plantita de cultivo de tejido. Las plantas deben de crecer durante 12-16 semanas o más para permitir el desarrollo de los quistes en las raíces. La próxima etapa consiste en extraer las raíces de la planta y examinar si hay presencia de quistes o inspeccionar meticulosamente el suelo para extraer los quistes – cada uno miden aproximadamente ½ mm de diámetro – y luego contarlos. Una simple observación de las raíces es suficiente para detectar la raza Ro1 del nematodo del quiste dorado, puesto que los quistes se quedan pegados a las raíces y no se sueltan fácilmente, pero este método no funciona muy bien para el nematodo de quiste pálido y tampoco para la raza Ro2 del nematodo del quiste dorado, debido a que los quistes se despagan fácilmente de las raíces y permanecen en el suelo.



Figura 1: Examinando la presencia de quistes en las raíces de la papa en un ensayo realizado en maceta de arcilla en el invernadero. (Foto: X. Wang)



Figura 2: Ensayo en el invernadero para *G. rostochiensis* usando variedades de papas y líneas de mejoramientos. (Foto: X. Wang)

Las dificultades para las pruebas de resistencia se vuelven más agudas en los programas de mejoramiento de la papa donde buscan desa-

rollar variedades resistentes a los PCN, debido a que la mayoría de las instalaciones de cuarentena no tienen espacios suficientes para crecer centenas o miles de variedades candidatas cada año, y más aun no tienen suficientes personales o recursos necesarios para procesar todas estas muestras.

Marcadores Moleculares

En principio, debería ser posible probar la resistencia examinando el ADN de una papa. Los genes de resistencia a los nematodos, como todos los genes, están codificados por secuencias cortas de ADN. En un mundo ideal, donde pudiéramos conocer todas las características de los genes resistentes a los nematodos (i.e., sus secuencias de ADN), podríamos predecir la resistencia o la susceptibilidad de una papa por medio de la secuenciación de su ADN. Desafortunadamente, no estamos viviendo en este mundo ideal – en parte porque cuesta demasiado dinero para secuenciar completamente el ADN de una papa – y en otra parte todavía no conocemos la secuencia de los genes de resistencia más comunes a los nematodos.

Sin embargo, actualmente es posible probar la presencia de marcadores moleculares ubicados en la proximidad de genes conocidos por sus resistencias. La tecnología actual permite a los genéticos moleculares de determinar la ubicación aproximativa de un gen resistente, la cual permite de reducir el rango de localización a una región de acerca un millón de pares de bases. [En este contexto, un gen de resistencia típica contiene alrededor de 10,000 pares de bases de largo, y el genoma entero de la papa contiene alrededor de mil millones de pares de bases de ADN]. Debido a la manera que el ADN se herede de una generación a la otra, las regiones del ADN que están cercanas entre sí físicamente tienen la afinidad de heredarse en conjuntas.

Al conocer que un gen de resistencia se encuentra adentro de una región de un millón de pares de bases, se hace posible rastrearlo de manera indirecta – por medio de rastreo de cualquier segmento de ADN que se encuentra en la región – debido que este segmento y el gen de resistencia tienen la afinidad de estar presente, o ausente, en una determinada papa. Para que un segmento rastreado funciona, tiene que ser único lo cual significa que no tiene que estar presente en papas susceptibles. Puesto que la mayoría de los genes resistentes a los nematodos originaron en las especies silvestres, las cuales fueron cruzadas en papas recientemente, el ADN alrededor de los genes resistentes proviene también de las especies silvestres. En consecuencia, en la práctica, muchos segmentos cercanos a genes resistentes son únicos, y fácilmente pueden ser diferenciados del ADN de la papa cultivada.

El gen de resistencia a los nematodos que se usa considerablemente es el gen *H1*, originado en *Solanum tuberosum*

subespecies *andigena*, un pariente cercano a la papa moderna (*S. tuberosum* subespecies *tuberosum*). *H1* confiere una alta nivel de resistencia contra la raza Ro1 del nematodo dorado, pero es inefectivo contra el nematodo del quiste pálido o la raza Ro2. Dos marcadores que rastrean segmentos de ADN en la cercanía de *H1* son ampliamente utilizados. Uno de estos marcadores, TG689, fue desarrollado en los EEUU, mientras que el otro 57R fue desarrollado en Europa. Las pruebas recientes conducidas por el programa de mejoramiento de la papa en Nueva York demostraron que 57R fue, en promedio, ligeramente más preciso

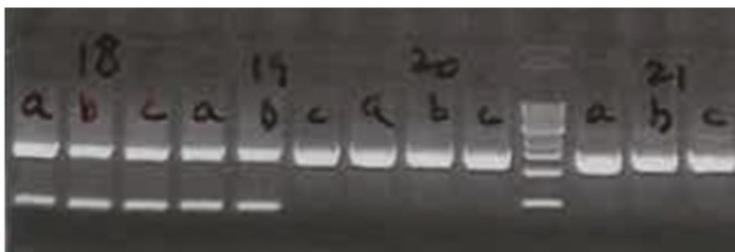


Figura 3: El marcador 57R en acción. La flecha en la izquierda muestra un segmento de ADN presente en la mayoría de las papas con el gen de resistencia *H1*. Esta imagen muestra cinco muestras de ADN procedentes de las variedades que tienen el *H1*, y siete muestras de ADN procedentes de variedades que faltan el *H1*. Un ADN de tamaño estándar, en la cuarta columna de la derecha, esta también presente. (Foto: W. DeJong)

que TG689, debido que la presencia de 57R predijo correctamente en un 99.7% la resistencia en los individuos probados, mientras que la presencia de TG689 predijo la resistencia solo en un 98.3% en los individuos analizados. Ninguno de los dos marcadores logró predecir la susceptibilidad de manera satisfactoria (47% para el 57R contra 41% para el TG689), debido a otros genes de resistencia que no son ligados al 57R o TG689 que se encontraron en algunas papas que fueron probadas. Aun así, puesto que la resistencia es la característica que interesa a los fitomejoradores, cualquiera de estos marcadores es suficientemente bueno para actividad rutinaria de fitomejoramiento. Cualquiera de las opciones de marcadores cuesta solamente algunos dólares por muestra y solo se necesita de algunas horas para tener un resultado. Es una reducción considerable en el costo comparado en la inoculación con nematodos vivos, y también es más rápido.

Transición del Invernadero al Campo

La práctica actual en el programa de mejoramiento de la papa en Nueva York consiste en evaluar todos los clones que han sobrevivido dos años de evaluación por rendimiento agronómico en el campo con el 57R, para identificar los que son potencialmente resistentes. Se toma en consideración el uso de marcador de resistencia cada vez se toman decisiones sobre que clones hay que guardar para el tercer ciclo de cultivo. Después de muchos años, para cualquier clon a punto de ser liberado como cultivo, la resistencia o susceptibilidad se confirma por medio de inoculaciones con nematodos vivos. En Nueva York, donde las variedades resistentes juegan un papel importante en el control del nematodo dorado, es importante de estar 100% (ni siquiera 98.3% o 99.7%) seguro que la nueva variedad es realmente resistente. Para este nivel de certeza, solo un ensayo se requiere.

Acerca del Proyecto GLOBAL



GLOBAL significa “Alianza Globodera”, un grupo internacional de investigadores, extensionistas, y profesionales de la educación trabajando para la erradicación de *Globodera* spp. de las fincas de papas de los EEUU.

Los miembros del Proyecto GLOBAL incluyen a científicos de la Universidad de Idaho, la Universidad Estatal de Oregon, la Universidad de Cornell, el Departamento de Agricultura de los EEUU, el Ministerio de Agricultura y Agro-Alimentación de Canadá, el Instituto James Hutton, y el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Francia.

Para más informaciones actualizadas sobre nuestro trabajo, visita: www.globodera.org

O contacte Louise-Marie Dandurand: imd@uidaho.edu

Financiado por el Instituto Nacional de Agricultura y de Alimentación del Departamento de Agricultura de los EEUU (USDA-NIFA) número de subvención 2015-69004-23634.

Desafortunadamente, no existe un simple gen de resistencia comparable al *HI* que confiere resistencia completa contra los patotipos del nematodo del quiste pálido en Idaho. Sin embargo, se conoce la ubicación de muchos genes con efectos menores y un marcador (HC) contra uno de ellos ha sido desarrollado en Europa. Los marcadores son especialmente útiles en situaciones donde la resistencia requiere muchos genes, puesto que en parte las inoculaciones con nematodos no siempre pueden detectar la presencia de genes con efectos menores y en otra parte cuando un bajo nivel de resistencia es detectada, no pueden identificar el gen o los genes menores presentes. Los fitomejoradores necesitan de herramientas para rastrear cada gen de forma independiente, para que ellos puedan trabajar en el ensamblaje de estos genes en una sola papa. El marcador HC es un buen inicio, pero se necesitan de marcadores adicionales para que los fitomejoradores puedan desarrollar papas con altos niveles de resistencia. A lo largo de este emprendimiento, los investigadores de Nueva York han desarrollado recientemente un marcador ligado a un gen procedente de *S. vernei* que confiere niveles de resistencia moderada para el nematodo dorado y el nematodo del quiste pálido. Los investigadores de Idaho están involucrados en esfuerzos similares para desarrollar marcadores para otros tipos de genes resistentes al PCN.

Próximos Eventos:

La Conferencia de la Asociación de Papa de América Del 22 al 26 de Julio de 2018 – Boise, Idaho

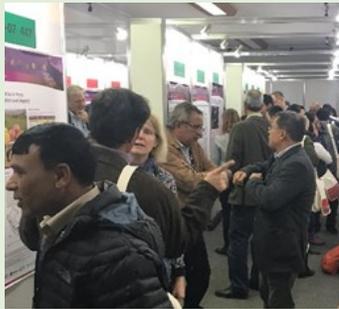
En esta conferencia, el Proyecto GLOBAL presentará un simposio sobre el Impacto de las Especies en Cuarentena sobre la Industria de la Papa. Más informaciones están disponibles en:

www.uidaho.edu/paa2018

Conferencia de la Organización de los Nematólogos de la Región Tropical de América Del 19 al 23 de Agosto de 2018 – Arequipa, Perú

En esta conferencia, el Proyecto GLOBAL presentará un simposio sobre los Nematodos del Quiste de la Papa con una perspectiva global sobre la propagación de PCN. Más informaciones están disponibles en:

www.ontaweb.org/



Los Investigadores del Proyecto GLOBAL presentes en el Congreso Mundial de la Papa

El décimo Congreso Mundial de la Papa fue inaugurado en Cuzco, Perú, el centro de la diversidad de la papa. Aproximadamente 900 participantes a través del mundo se reunieron para compartir ideas sobre varios aspectos de la papa. El congreso se inició con unos discursos del Presidente de Perú, Martin Vizcarra, el Vice-Presidente, Mercedes Aráoz, el Gobernador de la región Cuzco, el Alcalde de Cuzco, y el Ministro de Agricultura y de Irrigación. Todos se unieron para cantar el himno nacional. El alto nivel de dignatarios presentes en este congreso reflejó la profunda influencia que la papa tiene sobre Perú desde centenarios. Romain Cools, Presidente del Congreso Mundial de la Papa y Barbara Wells, Directora del Centro Internacional de la Papa dieron la palabra de bienvenida a los participantes. Además de las charlas y los intercambios científicos, una gira de campo tuvo lugar en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) y en el Parque de la Papa. La Estación Experimental se especializa en especies nativas de papas, exponiendo el amplio rango de diversidad genética de miles de variedades de papas. El Parque de la Papa es un Área de Patrimonio Biocultural que sirve a la protección y el mejoramiento del cultivo y su biodiversidad en la región Andina.

Los investigadores del proyecto GLOBAL Dr. Jonathan Whitworth and Dr. Rich Novy de USDA-ARS y el Dr. Joseph C. Kuhl de la Universidad de Idaho presentaron en esta

conferencia. Dr. Kuhl expuso un resumen general del Proyecto GLOBAL, lo cual enfoca en “La evaluación de riesgos y la erradicación de las especies de *Globodera* en la producción de papa Estadounidense.” Dr. Whitworth presentó, “En la búsqueda de papas resistentes a las tres especies de *Globodera*”. Dr. Novy presentó, “El mejoramiento y el desarrollo de variedades de papas resistentes a las especies de *Globodera* con largo tubérculo y textura de Russet para la producción en el Oeste de los EEUU”.

Los posters presentados en este congreso por los investigadores del Proyecto GLOBAL están disponibles en: <https://www.globodera.org/science-posters>



Investigadores de GLOBAL

- Louise-Marie Dandurand, PhD, Univ. de Idaho, Directora de GLOBAL
- Inga Zasada, PhD, USDA ARS, Co-Directora de GLOBAL
- Vivian Blok, PhD, Instituto James Hutton, Escocia
- Glenn Bryan, PhD, Instituto James Hutton, Escocia
- Walter De Jong, PhD, Universidad de Cornell
- Dee Denver, PhD, Universidad Estatal de Oregon
- Eric Grenier, PhD, INRA, Francia
- Pam Hutchinson, PhD, Universidad de Idaho
- John Jones, PhD, Instituto James Hutton, Escocia
- Joe Kuhl, PhD, Universidad de Idaho
- Chris McIntosh, PhD, Universidad de Idaho
- Benjamin Mimee, PhD, Agricultura y Agro-Alimentación de Canadá
- Rich Novy, PhD, USDA ARS
- Mike Thornton, PhD, Universidad de Idaho
- Xiaohong Wang, PhD., USDA ARS Universidad de Cornell
- Jonathan Whitworth, PhD, USDA



Los Investigadores del Proyecto GLOBAL, la Junta de Asesores, y el personal de apoyo participaron en una gira en las instalaciones de fitomejoramiento de la Universidad de Cornell, una institución afiliada al Proyecto GLOBAL.

Consejo de Asesor de GLOBAL

- Bill Brewer, Comisión de la Papa de Oregon
- David Chitwood, PhD, USDA ARS
- Lorin Clinger, Cultivador de Papa
- Tina Gresham, PhD, USDA APHIS PPQ
- Russell Ingham, PhD., Universidad Estatal de Oregon
- Andrew Jensen, PhD, Consorcio de Investigación de la Papa para la Región Noroeste
- Jonathan M. Jones, USDA-APHIS
- Daniel Kepich, USDA-APHIS
- Patrick Kole, JD, Comisión de la Papa de Idaho
- James LaMondia, PhD, Estación Experimental de Agricultura de Connecticut
- Brian Marschman, USDA APHIS PPQ
- Jon Pickup, PhD, Ciencia y Asesoría para la Agricultura Escocesa (SASA)
- Bryan Searle, Cultivador de Papa
- Andrea Skantar, PhD, USDA ARS
- Alan Westra, Asociación de Mejoramiento de Cultivo de Idaho
- Melanie Wickham, Empire State Potato Growers, Inc.
- Ryan Krabill, Consejo de la Papa de los Estados Unidos

El Consejo de Asesor de GLOBAL está compuesto por los representantes de la industria de la papa, los reguladores federales y estatales, y de los personales académicos que han ofrecido su tiempo y esfuerzos para este Proyecto. Les damos las gracias!

Contáctenos:

Para más informaciones, comentarios o sugerencias, por favor póngase en contacto con Louise-Marie Dandurand, Imd@uidaho.edu o Inga Zasada, inga.zasada@usda.ars.gov

