

**RESUMEN CLASES**  
**RESISTENCIA GENETICA A AGENTES FITOPATOGENOS**

**PROFESOR RESPONSABLE:**

**Ing. Agr. María Rosa Simón (MSc., PhD.)**

**Curso: MASTER EN PROTECCION VEGETAL**  
**Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales**  
**Universidad Nacional de La Plata**

## **Contenidos**

Lunes 28 de junio

Unidad 1. Relación hospedante patógeno.

Unidad 2. Base genética y herencia de la resistencia y virulencia.

Martes 29 de junio

Unidad 3 y 4. Tolerancia, escape y otros mecanismos previos y posteriores a la resistencia. Mejoramiento de la resistencia.

## **Unidad 1:**

### **Relación hospedante patógeno**

#### **1.1. Consideraciones generales**

Un ecosistema es la interacción de todos los organismos bióticos y abióticos en un área determinada. En él, los organismos vivos pueden clasificarse en productores, consumidores y descomponedores.

Los productores son los organismos capaces de convertir la energía solar en energía bioquímica, principalmente las plantas y algas azul-verdosas, los consumidores son todos los organismos que derivan sus nutrientes directamente de organismos vivos y los descomponedores son los organismos que se alimentan de animales muertos o de materia orgánica.

En los ecosistemas naturales los consumidores parecen tener un rol insignificante, si un patógeno es importante en la dinámica poblacional de una especie, esto raras veces resulta evidente, es sólo luego de una alteración de la vegetación natural que estos procesos se hacen evidentes. En los ecosistemas naturales si bien los consumidores afectan la estructura de la población de las plantas que explotan lo que vemos es el resultado final, donde la abundancia y la posición de cada especie es determinada por los consumidores y la competencia con otras especies, en estos ecosistemas no es posible extraer gran parte de la biomasa sin producir una alteración considerable. En cambio los sistemas agrícolas son sistemas abiertos donde se introducen nutrientes para reemplazar los que salen del sistema a través de las cosechas, la composición se caracteriza por una pérdida de diversidad y la especie dominante es aquella cultivada por el hombre, es un sistema inestable, donde el hombre tiene que realizar una serie de medidas para prevenir una gran variación en la producción de biomasa. Una de las causas de la inestabilidad son los consumidores, ya que importantes áreas de la misma especie resulta atractiva para muchos de ellos. Para prevenir el daño de los consumidores en estos sistemas, el hombre utiliza una serie de medidas agronómicas, tales como el control cultural (rotaciones, fechas de siembra, fertilización, laboreo), aplicación de agroquímicos (sobre las plantas, suelo o semilla), medidas fitosanitarias (producción de semilla sana), control biológico y explota los mecanismos de defensa que los productores desarrollan en situaciones naturales

Entre los consumidores se encuentran los microorganismos denominados patógenos (desde viroides hasta hongos), a los que nos referiremos en este curso y que son microorganismos que causan enfermedades. Los patógenos pueden ser clasificados como:

- biótrofos, que viven en tejidos vivos (virus, oidios, carbonos, royas) y normalmente no pueden crecer en medios de cultivo
- necrótrofos que se alimentan de tejidos que han sido matados por el patógeno (septoria, hongos que causan manchas foliares) y pueden crecer fácilmente en medios de cultivo

- parásitos facultativos (*Botrytis* spp.) que infectan plantas débiles o partes que se han debilitado, tales como frutas maduras, flores, plántulas o plantas que están creciendo en condiciones subóptimas

Hospedante: es cualquier especie de planta en la cual al menos un individuo haya establecido una relación de parasitismo con una especie de microorganismo patógeno dada. Los hospedantes frente a sus patógenos pueden presentar diferentes mecanismos de defensa

## 1.2.Mecanismos de defensa del hospedante

Los mecanismos a través de los cuales las plantas se defienden de los patógenos pueden clasificarse en:

- Inmunidad: es la capacidad que tienen ciertas variantes del hospedante para no ser afectados por ciertas variantes de un organismo patógeno de esa especie
- Resistencia: Es la habilidad de la planta para reducir el crecimiento y/o desarrollo de los parásitos después que se ha iniciado el contacto. Los genotipos con el nivel más alto de infección son los más susceptibles o menos resistentes, el nivel de infección de los genotipos depende también de las condiciones ambientales.
- Tolerancia: Los mecanismos de tolerancia no restringen el contacto del patógeno con el hospedante ni el crecimiento del patógeno después de su establecimiento, sino que restringen el grado de daño producido (por ejemplo a igual porcentaje de lesión menor disminución de rendimiento). La tolerancia puede estar basada en la recuperación de la planta, algunos genotipos se recuperan mejor del daño sufrido que otros, también puede estar basada en mecanismos fisiológicos que disminuyen el daño causado por un patógeno. La tolerancia a la expresión de síntomas se utiliza en virus y puede ser específica a la cepa del virus
- Escape: es cualquier característica heredable que permita que una variedad complete su desarrollo y maduración bajo condiciones que no favorezcan el desarrollo del patógeno, caracteriza aquellas situaciones en que las plantas potencialmente susceptibles no se enferman debido a que no son infectadas.

### Tipos de resistencia

Resistencia del no hospedante: casi todas las especies son no hospedantes de casi todos los patógenos. Una especie es hospedante de un cierto patógeno cuando al menos un individuo de la especie puede ser explotado por al menos un individuo del parásito

Resistencia específica al patógeno

Puede dividirse en resistencia específica a la raza u horizontal y resistencia no específica o vertical

- Resistencia específica a la raza: es aquella conferida por factores genéticos altamente efectivos sobre algunas de las variantes patogénicas o razas del parásito.

Ocurre en ciertos genotipos de la especie hospedante y es efectiva sobre ciertos genotipos del patógeno. Un genotipo de la planta con uno o más genes para resistencia específica será resistente a algunos pero susceptible a otros genotipos del patógeno. Los genotipos del patógeno pueden ser clasificados de acuerdo a los cultivares que son susceptibles y los que son resistentes a ellos. Los genotipos del patógeno compartiendo una colección de cultivares frente a los que son virulentos constituyen una raza fisiológica. El término aislamiento indica una muestra recolectada y mantenida del patógeno sin connotación al patrón de virulencia. Los genes para resistencia específica son efectivos a sólo una especie del patógeno y sus nombres suelen referirse al nombre científico o en inglés del organismo causal.

- Resistencia no específica a la raza: resistencia encontrada en algunos genotipos del hospedante que es efectiva contra todos los genotipos de una especie. Es efectiva también a sólo una especie de patógeno, por ejemplo los genes de resistencia parcial a roya del tallo de trigo (*Puccinia graminis*) no son efectivos contra la roya de la hoja (*Puccinia triticina*). Causa que la reproducción del parásito se lleve a cabo con una intensidad menor que la máxima observada en un ambiente dado (Eskes, 1983). Tiene componentes que operan sobre la frecuencia de infección, el período de latencia, el tamaño de la lesión, la producción de esporas, la duración de la esporulación, etc. Es más durable que la resistencia específica a la raza.

Resistencia específica	Resistencia no específica
Específica a la raza	No específica a la raza
Vertical	Horizontal
Genes mayores	Genes menores
Monogénica u oligogénica	Poligénica
Cualitativa	Cuantitativa
Alta efectividad	Baja efectividad
Poco durable	Durable
Completa	Parcial o incompleta

### 1. 3. El patógeno

Habilidad parasítica: Frente a los mecanismos de defensa de las plantas, los patógenos y parásitos han desarrollado una habilidad parasítica, que es la capacidad para explotar una planta como origen de nutrientes, por ejemplo uno de los mecanismos de defensa de las plantas es la producción de fitoalexinas, sin embargo algunos patógenos pueden adaptarse a esto a través de:

- evitar la inducción de fitoalexinas, la mayor parte de los patógenos biotróficos siguen esta estrategia
- las fitoalexinas producidas son detoxificadas por conversión en sustancias menos dañinas
- las fitoalexinas producidas son toleradas por el patógeno

Las especies de patógenos que son exitosas en esa adaptación son patogénicas para la especie hospedante. La falta de habilidad parasítica no está necesariamente conectada con un mecanismo de defensa de las plantas, por ejemplo las royas de las gramíneas son incapaces de encontrar estomas de plantas dicotiledóneas para penetrar las hojas, pero no sería correcto considerar la estructura de la epidermis de las dicotiledóneas como un mecanismo de defensa contra estas royas

Una vez que el patógeno se pone en contacto con el tejido de la planta trata de infectarla, algunos serán más exitosos que otros. El término para indicar esta capacidad varía entre autores, alguno utilizan el término patogenicidad para indicar la habilidad para establecer infecciones en una especie, así

- Patogenicidad: es la capacidad de un microorganismo para inducir un estado patológico en una especie hospedante determinada, por ejemplo *Phytophthora infestans* es patogénico sobre *Solanum tuberosum* (papa) pero no patogénico sobre *Solanum nigrum*. La patogenicidad es una característica cualitativa, discreta, absoluta, un organismo es o no patógeno
- Virulencia: es la habilidad de un aislamiento para infectar ciertos genotipos del hospedante
- Agresividad: se utiliza para indicar diferencias cuantitativas entre aislamientos en la habilidad para crecer y reproducirse en el hospedante.

### **Variabilidad del patógeno**

En especies diploides y especies con más de un núcleo por célula es posible que los genotipos avirulentos posean el alelo recesivo para virulencia, a través de la recombinación puede originarse una raza virulenta o también razas que posean virulencia a varios genes de resistencia. Los mecanismos por los que se produce la recombinación consisten en:

- -Recombinación sexual
- -Heterocariosis
- -Ciclo parasexual
- -Mutaciones

## **Unidad 2. Base genética de la resistencia y virulencia**

### **2.1 Relación hospedante patógeno. Herencia de la resistencia y virulencia**

- **Herencia de la resistencia**

El conocimiento de la genética de la resistencia es de gran interés. En el mejoramiento de la resistencia a factores bióticos, entre ellos los patógenos, el resultado de la confrontación de una planta con el potencial consumidor depende no sólo del genotipo de la planta sino también del del consumidor. Entre todas las estrategias de defensa, la resistencia es la más común, en algunos casos monogénica y en otros oligo o poligénica. Frecuentemente se presenta como dominancia, especialmente entre los patógenos biotróficos. La resistencia recesiva ocurre menos frecuentemente

Los genes de resistencia no siempre se expresan. El estadio de crecimiento de la planta y el ambiente juegan un rol significativo. Varios de los genes de resistencia que condicionan reacciones de hipersensibilidad se expresan en estado adulto (por ejemplo los genes Sr2 de roya del tallo y Lr 12 de roya de la hoja del trigo), otros dependen de la temperatura para su expresión (Gousseau et al., 1985), como por ejemplo el gen Sr6 de roya del tallo de trigo que se expresa sólo a temperaturas inferiores a 26°C.

La herencia poligénica de la resistencia ha sido inferida de la segregación transgresiva en F2 o de análisis dialélicos. Estos estudios permiten determinar la presencia de genes aditivos aunque no el número de ellos o si todos tienen el mismo efecto. En algunos casos ambos tipos de resistencia (monogénica y poligénica) coexisten en el mismo patosistema, como por ejemplo en el caso de *Septoria tritici*.

La resistencia determinada en forma citoplásmica no es muy común. Un ejemplo es el caso del *Helminthosporium maydis* en maíz

- **Herencia de la virulencia**

La herencia de la virulencia es generalmente cromosómica, frecuentemente condicionada por genes mayores y recesivos.

### **2.2. Relación gen a gen**

La resistencia es en muchos casos condicionada por genes mayores, siendo los alelos de resistencia frecuentemente dominantes y los genes de virulencia en el patógeno, recesivos. Flor (1956) identificó 26 genes de resistencia en lino y 26 genes de virulencia en la roya del lino (*Melampsora lini*). Concluyó que "Para cada gen condicionando resistencia en el hospedante hay un gen específico condicionando patogenicidad en el parásito", que se conoce como la teoría gen a gen. Esto significa que cualquier gen de resistencia puede actuar sólo si el locus correspondiente del patógeno lleva un alelo para avirulencia. Se ha hipotetizado que los alelos dominantes para resistencia y los alelos dominantes para avirulencia producen productos génicos que son capaces de reconocerse en cada par gen a gen (Ellingboe, 1976, Hadwiger, 1988). Esos productos pueden formar una molécula híbrida que produce la reacción de defensa en la planta. Esta reacción consiste frecuentemente en una necrosis y producción de fitoalexinas.

El primer modelo fisiológico integral para interacciones gen a gen fue elaborado por Albersheim & Anderson-Prouty a mediados de la década del 70 (citados por Gabriel & Rolfe, 1990). Este modelo consideraba que los genes de avirulencia de los patógenos modificaban la configuración de compuestos de superficie (glicoproteínas) que se comportaban como señales específicamente reconocidas por receptores en la membrana celular del hospedante. A estas señales se las llamó factores de protección, elicitores, activadores o inductores de resistencia. Los inductores eran de dos clases: exógenos (en el patógeno) o endógenos (en el hospedante) con capacidad para reconocer los propios productos de degradación de la planta como resultado de la acción del patógeno, amplificando las señales para iniciar los procesos de defensa. Los inductores exógenos activan la respuesta de incompatibilidad y la liberación de inductores endógenos. Estos últimos inducen la acumulación localizada de fitoalexinas y son transportados a través de los tejidos amplificando la respuesta.

Los receptores (moléculas que reconocen configuraciones específicas de los inductores) del hospedante eran visualizados como el resultado de la acción de genes de resistencia. En el modelo elicitor-receptor, la incompatibilidad específica se produce cuando los receptores codificados por los genes de resistencia del hospedante reconocen los inductores del patógeno e inician la respuesta con producción de fitoalexinas.

Una consecuencia del sistema gen por gen es la ocurrencia de una interacción diferencial, que es un ranking opuesto de grado de compatibilidad. Una interacción diferencial es una indicación precisa de que existe una relación gen a gen. Si la resistencia y virulencia se heredan en forma monogénica y existe interacción diferencial, se concluye que hay una relación gen a gen. En estos sistemas la resistencia es del tipo específica a la raza y las razas se distinguen sobre la base de sus patrones de virulencia, es decir el rango de cultivares en las que son virulentas. Este patrón de virulencia está determinado por el número e identidad de los alelos de virulencia. Usualmente la nomenclatura de las razas se basa en el rango de cultivares que pueden ser infectados o en los genes de resistencia que son inefectivos a la raza (porque la raza carece de los correspondientes alelos dominantes de avirulencia)

### **2.3. Quiebre de la resistencia**

De lo mencionado anteriormente se aprecia que el patógeno en muchas instancias produce un producto génico que genera un mecanismo de defensa en plantas que llevan el correspondiente gen de resistencia. Por qué el patógeno produce un factor que reduce



sus posibilidades de sobrevivir?. Una teoría supone que los productos de los genes de avirulencia tienen inicialmente una función en la fisiología del patógeno y que la reacción específica con el producto del gen de resistencia se ha desarrollado con posterioridad. Una segunda teoría (Parlevliet, 1979) dice que el patógeno posee alelos de avirulencia para prevenir la sobreexplotación del hospedante y como consecuencia la casi extinción del patógeno. Cuando un cultivar portando un nuevo gen de resistencia a campo, se cultiva en una escala importante, el gen será efectivo sobre casi toda la población del patógeno en esa región. Con sistemas gen a gen como el descrito, el patógeno poseería el alelo de avirulencia en una frecuencia de casi 1, una mutación AXa conduciría a que el patógeno tuviera virulencia sobre el nuevo cultivar.

Qué puede causar la diferencia en durabilidad entre genes de resistencia específica en los patosistemas?

- El nuevo mutante debe competir con la raza original, el evento mutagénico puede tener algunos efectos colaterales que reducen la viabilidad de la nueva raza, la sobrevivencia depende de la ventaja que obtenga el nuevo mutante sobre la raza madre, que será baja si el cultivar resistente ocupa una proporción reducida de la superficie cultivada o si la resistencia es incompleta
- El producto del gen A puede tener una función esencial en la fisiología del patógeno y su desaparición puede ser peligrosa para el patógeno
- Algunos tipos de resistencia están basados en mecanismos que no están basados en una relación gen a gen y que el patógeno no puede superar fácilmente.
- Algunos patógenos están distribuidos en distancias muy grandes, otros están restringidos a ciertas áreas. En los últimos el desarrollo de mutantes virulentos puede no tener consecuencias para el cultivar resistente en otras zonas
- La resistencia en cultivos intensivos tiende a quebrarse más difícilmente que en los extensivos ya que los mecanismos mencionados en 1 y 4 probablemente son más importantes.

#### **2.4. Resistencia parcial o incompleta**

Se aplica a los casos en que el hospedante es menos afectado por el patógeno que el control susceptible, pero sin producir una detención completa del desarrollo y reproducción del patógeno. No es posible hacer una clasificación cualitativa en compatible e incompatible, sino que el grado de compatibilidad es cuantitativa.

Puede deberse a genes mayores que no se expresan completamente de manera que hay algún grado de reproducción del patógeno y que depende usualmente de factores ambientales. Un segundo tipo es la llamada resistencia parcial en que la expresión de los síntomas del patógeno es muy similar al genotipo susceptible pero se reduce la tasa de infección. Algunos autores utilizan el término "slow rusting" "slow mildewing" La importancia es su mayor durabilidad y que es bastante independiente del aislamiento del patógeno (no específica a la raza)

Varios componentes de la resistencia contribuyen a este efecto retardante en el progreso de la enfermedad. (Parlevliet, 1979, Simón et al., 1997, 1998) determinaron y evaluaron varios de ellos para distintos patosistemas. Parlevliet, 1979 determinó para el patosistema *Puccinia hordei*-cebada que un período de latencia prolongado (tiempo

entre inoculación y aparición de pústulas de la roya de la hoja) es el componente de la resistencia de mayor influencia epidemiológica. Los otros componentes son: la frecuencia de infección (cantidad de pústulas.  $\text{cm}^{-2}$ ), producción de esporas (número de esporas producidas por pústula por día) y duración de la esporulación (número de días de producción de esporas). En un patógeno policíclico, las diferencias entre cultivares se incrementan para cada ciclo reproductivo del patógeno, lo que conduce a diferencias importantes entre cultivares

### Unidad 3

**Tolerancia-Epidemiología y resistencia**  
Tolerancia: Se utiliza este término para expresar que la planta tiene poco daño o poco síntoma por cantidad de patógeno. La tolerancia a la expresión de síntomas se utiliza en virus y puede ser específica a la cepa del virus. En cuanto a la tolerancia al daño implica que frente a similar magnitud de síntomas la pérdida de rendimiento es menor, el hospedante sufre menos, es improbable que dependa el genotipo del patógeno.

### Epidemiología y resistencia

#### 3.1. Características de las epifitias

Una epifitia es un incremento importante y efímero de una infección en una población de plantas causada por un patógeno. Considerando que las epidemias se desarrollan en un tiempo determinado ( $t$ ) puede decirse que  $x = f(t)$ , siendo  $x$  la proporción de plantas o tejidos afectados. La resistencia, aunque no el único, es un factor importante en esta función. El progreso y declinación de las epifitias depende de cómo y en qué extensión se reproduce el patógeno (Zadoks & Schein, 1979).

- **Reproducción**

Diversos patógenos tienen sólo un ciclo de multiplicación para cada cultivo y estación, como puede ser *Fusarium oxysporium*, carbones, etc. Por ejemplo los diferentes carbones de los cereales forman esporas sólo una vez al año, se denominan epidemias monocíclicas. Otros patógenos tienen muchos ciclos para cada estación. La mayor parte de los patógenos de este grupo producen enfermedades que se caracterizan por la formación de muchas lesiones en hojas o tallos, cada una representando una infección individual (*Puccinia* spp., *Erysiphe* spp., *Septoria* spp., *Drechslera* spp., *Helminthosporium* spp.). La mayor parte de los patógenos de este grupo viven en partes aéreas, especialmente hojas y el control químico es usualmente más difícil que con los patógenos monocíclicos.

- **Diseminación**

Suelo (pietín, *Fusarium* spp.): pueden controlarse a través de las rotaciones, laboreo del suelo

Partes de plantas, tejidos muertos o vivos, semillas: Pueden llevarse a grandes distancias. Cuarentenas y desinfección de semillas pueden utilizarse como medidas de control

Viento o lluvia: se dispersan fácilmente en distancias cortas y largas, es común en enfermedades policíclicas, por ejemplo las royas

Las epifitias se caracterizan por una fase de desarrollo, un punto máximo y una fase de declinación, las medidas de control deben tender a disminuir y retrasar el punto máximo. Este punto máximo no debe pasar el umbral de daño, que es el nivel de infección por encima del cual se justifica el control químico.

### **3.2.Desarrollo de las epifitias**

- **Crecimiento lineal**

El desarrollo de la enfermedad puede ser estudiado dentro del período de crecimiento o a través de los años. El incremento dentro de una estación puede seguir un desarrollo lineal como son las enfermedades que producen marchitamientos vasculares característico de patógenos monocíclicos y la población del patógeno puede incrementarse a través de los años o un patrón logístico como las enfermedades foliares transmitidas por el viento y la gota de lluvia como royas, manchas foliares, oidios de muchos cultivos, característico de patógenos policíclicos. La población del patógeno cae a un nivel muy bajo cada año después que el cultivo ha sido cosechado y las epifitias son menos dependientes del nivel de la población del patógeno en el año precedente.

La fórmula describiendo el curso de epifitias de patógenos monocíclicos es:  $x_t = x_0(1+rt)$  en el que  $x_0$  y  $x_t$  son la proporción del tejido afectado en el tiempo 0 y t respectivamente y t la cantidad de tiempo entre observaciones, r es la tasa de infección lineal. Las epifitias progresan linealmente y los patógenos que las causan son usualmente de suelo y los restos de esporas son el origen inicial del inóculo. Durante la estación de crecimiento el volumen de raíces de la planta hospedante se incrementa y más plantas se ponen en contacto con el inóculo, lo que lleva a un incremento aproximadamente lineal de la proporción de plantas afectadas. Al final de la estación, el parásito produce la próxima generación de esporas y la infección puede ser mayor el siguiente año. Resulta evidente que el control debe estar basado en la disminución del inóculo al inicio de la estación.

- **Crecimiento logarítmico**

Con los patógenos policíclicos el incremento de la población no es lineal, sino exponencial la fórmula es  $x_t = x_0 r^t$ . Cuando una espora cae en una planta y produce una infección, después de un período de tiempo (período de latencia) se desarrolla una colonia esporulante, suponiendo que esta colonia produce 100 esporas, después de otro

período de latencia aparecerán 100 nuevas colonias, de manera que el incremento de la población es exponencial.

- **Crecimiento logístico**

El crecimiento logarítmico se aplica a casos de abundancia de tejidos sanos, sin embargo si una porción considerable de tejidos ya se ha colonizado, una porción de las esporas cae sobre tejido enfermo y se necesita una corrección por tejido infectado

El final de las epidemias está determinado por varios factores, completa maduración del cultivo o cosecha o que la estación cambie y se haga desfavorable para el patógeno. En la mayoría de los casos la población del patógeno decrece notoriamente luego de la cosecha.

### **3.2.Efecto de la resistencia en las epidemias**

La resistencia afecta las epidemias de dos maneras:

- retarda el establecimiento de la epidemia, reduciendo  $x_0$ , característico de genes mayores de resistencia específica
- reduce el desarrollo de las epidemias, característico de la resistencia parcial

Los cultivares pueden tener ambos tipos de resistencia en combinación, la resistencia parcial si se quiebra la resistencia a genes mayores se denomina resistencia residual.

En los casos en que un mejorador tiene muchos genes efectivos para resistencia vertical en su germoplasma puede no ser fácil distinguir el nivel de resistencia horizontal que pueda tener y los posibles genes para este tipo de resistencia pueden perderse.

## **Unidad 4**

### **Mejoramiento de la resistencia**

#### **4.1.Evaluación de la resistencia**

Para asegurar una evaluación efectiva de la resistencia a un cierto patógeno, debemos asegurarnos

- que la población del hospedante tenga variación para resistencia
- un método de evaluación que permita distinguir diferencias genotípicas, que requiere una uniforme exposición a la población del patógeno
- un buena escala de evaluación para registrar las diferencias

##### **4.1.1.Procedimientos de evaluación**

Un mejorador necesita evaluar una gran cantidad de plantas, líneas o familias en un período corto. El método necesita ser:

- práctico (muchas observaciones en un período corto)
- confiable
- reproducible entre años, evaluadores y sitios

#### ➤ Aspectos cuantitativos de la evaluación

Usualmente se determina incidencia y severidad y existen diversas escalas de evaluación (Cobb, 1892; James, 1971; Saari & Prescott, 1975) y programas de computación para entrenar a los evaluadores en la determinación de los porcentajes de tejido infectados.

#### ➤ Aspectos cualitativos

Además de la cantidad de infección también se evalúa en algunas enfermedades como las royas, el tipo de infección que describe la reacción de la planta a la infección (en términos de tamaño de lesiones y presencia de tejidos cloróticos y necróticos)

### 4.1.2. Sub and sobreestimación de la resistencia

En un programa de mejoramiento los niveles de resistencia no necesariamente se correlacionan bien con los verdaderos niveles de resistencia en los campos de producción en que los niveles de resistencia de los genotipos pueden variar respecto de los lotes de selección. Estos errores de evaluación pueden surgir de:

- Efecto de las diferencias en estado de desarrollo al momento de la evaluación

Frecuentemente las evaluaciones se realizan en todos los materiales en el mismo momento. Las líneas más precoces tienden a tener más síntomas en el momento de la evaluación que las tardías, ya que especialmente en estadios avanzados las hojas superiores o inflorescencias de las líneas tempranas han estado expuestas al patógeno por un tiempo más largo. Como consecuencia, el nivel de resistencia de las líneas tardías tiende a ser sobreestimado en relación a las tempranas

Además la estación de crecimiento es más corta para un cultivar precoz que para uno tardío. En cultivares tempranos, el patógeno completará menos ciclos de reproducción que en uno tardío, de manera que los requerimientos de resistencia en un cultivar temprano son menores

Los cultivares tempranos pueden escapar al daño de patógenos que ocurren tardíamente, mientras que los tardíos tienden a escapar a patógenos que ocurren tempranamente y por lo tanto los requerimientos de resistencia pueden diferir dependiendo del ciclo del cultivar y la epidemiología de los patógenos. Es útil sembrar los materiales en grupos de precocidad, de manera de comparar las líneas precoces entre sí y las tardías entre sí (Parlevliet, 1988)

- Efecto del diseño del campo experimental

Las parcelas de un campo experimental en un criadero son pequeñas, de manera que una línea altamente susceptible puede estar adyacente a una resistente, esto hace que en aquellos patógenos transportado por el viento la línea resistente reciba una cantidad de inóculo grande y produzca poco inóculo. El nivel de resistencia de la líneas resistentes será subestimado y el nivel de resistencia de las líneas susceptibles sobreestimado. Este fenómeno se denomina interferencia entre parcelas.

- Efecto de la cantidad de inóculo aplicado

Si se inocula con una baja cantidad de inóculo, ésto conduce a una sobreestimación de la resistencia. Este efecto es más importante en los patógenos monocíclicos. Si la cantidad de inóculo es muy alta puede enmascarar efectos de resistencia parcial

- Efecto del momento de evaluación

En ensayos en invernáculo en que se hace un solo ciclo de reproducción, el momento de evaluación es importante, especialmente si se evalúa resistencia parcial. En muchos patógenos el período de latencia es un carácter de utilidad ya que el nivel de correlación con lo que sucede en el campo es alto. Si las plantas inoculadas en el invernáculo se evalúan muy temprano, ninguna de las líneas mostrará infección y si se evalúan tarde todas tendrán pústulas maduras, hay un período corto en que las diferencias en período de latencia son evidentes.

Algo similar ocurre a campo, en que el patógeno se multiplica policíclicamente, siendo también de mayor importancia si la resistencia es parcial. Al inicio de la infección las diferencias cuantitativas son imperceptibles y muy tardíamente si las condiciones para el patógeno son favorables incluso las líneas que muestran resistencia parcial pueden tener altos niveles de infección

- Efecto del hábito de la planta

La altura de la planta puede afectar el desarrollo de las epifitias considerablemente, por ejemplo los cultivares más altos de trigo tienden en algunos casos a ser menos afectados por *Septoria tritici* y otras enfermedades de hoja cuando predomina la forma asexual con dispersión vertical de esporas.

También los canopeos más densos pueden conducir a mayores niveles de algunas enfermedades por crear un microclima más favorable para su desarrollo.

## **4.2.Evaluación de la tolerancia**

La tolerancia en relación a la expresión de síntomas se utiliza en virus. Se debe medir la cantidad de virus en la planta y el nivel de síntomas para separa tolerancia de resistencia cuantitativa (parcial). Los cultivares con bajos niveles de expresión de síntomas frente a una misma concentración de virus se denominan tolerantes

Tolerancia con relación al daño: es la pérdida de rendimiento sufrida por el cultivar por unidad de síntoma causado por el patógeno. Para evaluarlo se necesitan parcelas con y sin infección de los diferentes cultivares, evaluar la cantidad de infección y el

rendimiento relativo con relación al control (sin enfermedad). Se realiza una regresión entre la cantidad de infección y la pérdida de rendimiento, las desviaciones de esta relación indican tolerancia.

La resistencia difiere de los otros caracteres que deben ser manipulados en un programa de mejoramiento en dos aspectos:

- Puede ser reconocida sólo cuando la población es expuesta al parásito, un organismo vivo
- No sólo el genotipo de la planta sino también el del patógeno determina la compatibilidad o no del sistema.

La tolerancia a la expresión de síntomas se utiliza en virus y puede ser específica a la cepa del virus

### **4.3.Fuentes de resistencia**

El primer paso en un programa de mejoramiento es la identificación de fuentes de resistencia apropiadas. Debe estudiarse la variación genotípica dentro de una especie y entre especies relacionadas. Puede tratarse de cultivares comerciales, diferentes especies, viejos cultivares adaptados localmente ('land races'), progenitores salvajes, géneros relacionados, inducción de mutaciones.

### **4.4.Métodos de evaluación**

- Las evaluaciones en el campo conducen a una serie de problemas
- Gran dependencia de variaciones climáticas, en algunos años las condiciones ambientales no son favorables para el desarrollo de las epifitias, el patógeno puede aparecer muy tarde o no aparecer
- Las plantas o las líneas pueden escapar al ataque, especialmente con patógenos del suelo
- Dependencia de la presencia de razas
- Interacción entre patógenos, la presencia de un patógeno puede hacer que otro no aparezca

Los mejoradores deben utilizar métodos que reduzcan estos problemas, un buen método de evaluación debería cumplir con los siguientes requerimientos:

- No debería haber escapes, las condiciones del testeo deberían discriminar adecuadamente
- El testeo tiene que ser representativo, es decir que la resistencia que se determine tiene que ser efectiva a campo
- El testeo debería ser económico y fácil de llevarse a cabo

En muchos casos las líneas experimentales se inoculan artificialmente, las plantas se exponen a los patógenos con control de la cantidad de inóculo, en algunos casos sólo en plántula y otros también en estado adulto

Los métodos de evaluación pueden clasificarse de acuerdo a :

- Métodos de aplicación del inóculo

El inóculo puede ser aplicado a partes aéreas por pulverizado o espolvoreado, pueden inocularse semillas en patógenos de semilla, puede también ser inyectado dentro de la planta. También puede aplicarse al ambiente de la planta, ésto es introducirlo al suelo, aunque su distribución suele ser desuniforme. Con patógenos foliares, el inóculo puede también ser aplicado en hileras sembradas con un cultivar susceptible, las que pueden ser inoculadas o introducir en ellas macetas con plantas infectadas. Si la infección ocurre regularmente también se puede esperar a una infección natural del cultivar susceptible.

- Composición del inóculo

Para determinar resistencia específica a la raza, la identidad del inóculo es de fundamental importancia. La identidad se determina mediante una serie de cultivares diferenciales

En muchos casos, genes específicos a la raza y no específicos se encuentran presentes en los materiales. Para el último tipo de resistencia en algunos casos se utilizan mezclas de razas, aunque es conveniente utilizar una raza, porque de lo contrario las líneas con resistencia específica que sea efectivas a la mayor parte pero no a todos los componentes en la mezcla se asemejarán a líneas con resistencia no específica. De manera que es preferible una raza con el mayor número posible de genes de virulencia. Se justifica una mezcla de razas cuando el mejorador busca resistencia que sea efectiva a todas las razas conocidas.

- Estadio de desarrollo de las plantas

Plántulas, semillas en germinación: Se hace esta evaluación en patógenos que muestran síntomas representativos en estadios muy tempranos. Debe repetirse en estado adulto si la expresión de la resistencia al patógeno es diferente en ambos estadios.

Hojas u otros órganos cortados de la planta: Usualmente se agregan sustancias como benzimidazol en el sustrato que interfiere con la degradación de proteínas y retarda el amarillamiento de los órganos

Plantas adultas: se realiza este tipo de evaluación cuando se trata de patógenos de frutas, flores, tallos o cuando la expresión de la resistencia en plántula y estado adulto es diferente

Usualmente se realizan a campo.

- Ambiente del test



A campo: usualmente en plantas adultas

En invernáculo: usualmente en plántulas. La inoculación puede controlarse mejor que a campo, hay menos escapes. Se puede aplicar una raza del patógeno sin que haya contaminación de otras, las condiciones climáticas se controlan mejor, aunque los resultados pueden no representar lo que sucede a campo

En laboratorio: con semillas en germinación, discos de hojas, con similares ventajas y desventajas que en invernáculo pero más pronunciadas.

In vitro: A partir de células o callos o embriones cultivados de células que se exponen a agentes selectivos (por ejemplo una toxina del patógeno). Las células, callos o embriones sobrevivientes son regenerados para originar plantas, estas plantas resultantes deberían ser resistentes al factor usado como agente selectivo. Con este método se pueden probar muchos individuos, se pueden identificar mutantes raros, la selección se da en condiciones muy controladas, conducen a un número alto de mutantes. Sin embargo el método tiene restricciones como que las células sobrevivientes pueden ser variantes fisiológicas más que genéticas, y cuando el agente selectivo desaparece la resistencia desaparece. Asimismo el método depende de un agente selectivo relevante como toxinas producidas por algunos patógenos necrotróficos, no permite detectar hipersensibilidad ni resistencias basadas en características de tejidos diferenciados (pilosidades, formación de corcho). Además la resistencia expresada a nivel celular no necesariamente se expresa a nivel de toda la planta.

#### **4.5. Selección**

El mejorador comenzará seleccionando por resistencia en diferentes fases del proceso (temprano o tarde) dependiendo esto de factores tales como la importancia de la resistencia, la frecuencia de plantas resistentes, el costo de la evaluación. Si la frecuencia de genes de resistencia es baja y el método de evaluación es económico y fácil es lógico seleccionar por resistencia en las primeras fases del programa de mejoramiento (F2, F3 en autógamias).

Cuando se introduce resistencia de materiales primitivos no emparentados, un solo cruzamiento no es suficiente y se necesitan varios cruzamientos para eliminar los genes no deseados. Knott (1989) determinó que en trigo en cruces para obtener resistencia de materiales silvestres, los genes indeseables ligados al gen de resistencia pueden permanecer después de 10 retrocruces.

Los genes de resistencia pueden perderse si se utilizan razas inapropiadas en la evaluación, si se trabaja con poblaciones muy pequeñas o si no se ejerce presión de selección, cuando el patógeno no está presente durante períodos muy largos

Estos métodos de mejoramiento se utilizan para incorporar resistencia completa, condicionada por genes mayores y fáciles de manejar en programas de mejoramiento, pero frecuentemente no durable. Cuanto más fuerte es la presión de selección para resistencia, mayor es la posibilidad de selección por este tipo de resistencia.

Cómo debería seleccionar un mejorador para obtener un alto nivel de resistencia parcial?

Se deben eliminar las plantas más susceptibles (selección en contra de susceptibilidad) y no seleccionar aquellas plantas que no muestran síntomas. Ya que este tipo de resistencia es poligénica no se espera que en un solo ciclo de selección se pueda adquirir el nivel de resistencia esperado.

Se necesitan varios ciclos de cruzamiento, recombinación y selección, como la selección recurrente

La ventaja de la selección contra susceptibilidad es que sólo una porción restringida de plantas (20-30%) es eliminada debido a un alto nivel de susceptibilidad, las plantas restantes pueden someterse a selección por otros caracteres agronómicos y el nuevo ciclo se lleva a cabo con las plantas resultantes de esta selección.

#### **4.6.Utilización de la resistencia**

Como se ha discutido previamente la resistencia puede variar en durabilidad. Con resistencia monogénica puede ocurrir un quiebre de resistencia rápidamente. Algunas estrategias pueden conducir a retrasar la formación de razas adaptadas del patógeno incrementando la durabilidad de los genes de resistencia. Si se dispone de resistencia poligénica estas estrategias no son necesarias.

- **Estrategias para el uso de la resistencia no durable**

Estos mecanismos tienden a: 1- impedir la iniciación de mutantes virulentos; 2-impedir el establecimiento, incremento y diseminación de los mismos

- **Explotación del período sin cultivo**

Con la mayor parte de los patógenos que se transmiten por aire, el tamaño de la población varía considerablemente durante el año y tiene que pasar un cuello de botella al menos una vez por año. La población se incrementa considerablemente en condiciones favorables, pero se reduce en condiciones no favorables. La composición genética de la población del patógeno depende de los genotipos que sobreviven al cuello de botella. Todos los factores o medidas que resulten en una restricción del tamaño de la población en el período de cuello de botella y en el establecimiento de la estación favorable disminuirá el establecimiento de nuevos alelos de virulencia en la población del patógeno

- **Exposición gen tras gen**

En algunos patosistemas en que la resistencia de un cultivar se hace inefectiva los mejoradores buscan nuevos genes de resistencia aún efectivos y desarrollan cultivares, este procedimiento puede conducir a una disminución de las fuentes de resistencia.

- **Diversificación de cultivares**

Se puede incrementar la complejidad del hospedante en lo relacionado a la resistencia al patógeno a través de la diversificación de cultivares. Un patrón más complejo de

resistencia en el hospedante requiere un patrón más complejo de virulencia en el patógeno, si el patógeno no desarrolla esta complejidad, el cultivo sufrirá menos con la infección

Implica el cultivo de varios cultivares con genes diferentes de resistencia en un campo o en varios campos de la región, para ello debe disponerse de cultivares con diferentes genes de resistencia y esta información debe estar disponible

- **Multilíneas**

Una multilínea consiste de un número de componentes, líneas que son casi idénticas genéticamente excepto por los genes de resistencia que poseen. Cada una de las líneas "cuasi isogénicas" lleva un gen de resistencia. Si cada uno de los genes de resistencia en la multilínea es efectivo a todas las razas del patógeno en la región, la multilínea se denomina "limpia". Multilíneas sucias consisten de líneas que llevan genes de resistencia que no son efectivos contra todas las razas del patógeno

Propósito: incremento de la durabilidad de los genes de resistencia

Cómo se produce una multilínea?

Se elige un cultivar como padre recurrente y se le introducen un número de genes de resistencia por retrocruza de manera de producir 5 a 10 líneas isogénicas, todas con diferentes genes de resistencia. Cuando esta mezcla de líneas se cultiva es similar al cultivar original pero resistente al patógeno. Durante el proceso de retrocruza se debe ir probando con las razas apropiadas.

Cómo funciona?

Si todos los genes son efectivos, no hay infección, si surge una raza que sea virulenta a uno de los componentes de la multilínea, sólo ese componente es afectado y además se reduce la tasa de infección, ya que sólo una parte del inóculo producido es infectivo. Esto también sucede si todos los componentes son infectados por diferentes razas virulentas.

Qué ventajas tienen?

La resistencia puede ser más durable, aunque las multilíneas que se cultivan en gran escala pueden estimular el desarrollo de razas complejas. Si la efectividad de los genes de resistencia se monitorea y si los componentes que no posean resistencia se reemplazan por nuevas líneas con genes efectivos, pueden proveer una resistencia durable. Otra ventaja es que los genes de resistencia que se hacen inefectivos pueden ser útiles si la frecuencia del alelo de virulencia en el patógeno es baja.

Qué desventajas tienen?

El proceso de retrocruzas requiere varios años y el rendimiento y otras características del padre recurrente puede ser inferior al de los cultivares comerciales cuando se termina de hacer la multilínea. El procedimiento es laborioso ya que se necesitan varias retrocruzas y pruebas con razas apropiadas. También el mantenimiento y multiplicación

es más complicado que en los cultivares comerciales. Cada componente tiene que ser registrado individualmente

- **Genes duplicados**

Cuando un cultivar posee dos o más genes de resistencia específica que son efectivos individualmente, se tiene una barrera doble o múltiple que incrementa la durabilidad de la resistencia. Una mutación simple en el patógeno no es suficiente para producir una reacción compatible entre el patógeno y el cultivo. Cuando hay genes que se solapan entre cultivares o cuando también se usan cultivares con uno solo de los genes, el sistema no es tan efectivo porque esto permite que el patógeno evolucione a través de cambios simples.

### **Condiciones para la aplicación exitosa de las técnicas**

Si a través de varias medidas de control (control integrado), la población del patógeno puede mantenerse a bajos niveles, la durabilidad de la resistencia específica puede incrementarse considerablemente, siendo la posibilidad de aparición y establecimiento de nuevas razas más baja.

### **4. 7. Nuevas metodologías en mejoramiento**

La utilización de marcadores moleculares ha permitido en los últimos tiempos la caracterización de poblaciones de patógenos y la identificación de genes de resistencia en los hospedantes.

Es de utilidad para la localización de genes simples y para la localización de QTL que condicionan tratamientos cuantitativos. Ha permitido la construcción de mapas genéticos que permiten identificar genes de interés y utilizar esta información en selección asistida por marcadores (MAS). El principio de esta selección es que la selección indirecta para la resistencia a una determinada enfermedad puede ser realizada por selección de un marcador estrechamente vinculado al carácter

Tiene considerables ventajas como poder realizar la selección en etapas tempranas del método de mejoramiento y frecuentemente en plántula, permite reducir la cantidad de material ya que sólo las previamente seleccionadas por el método se conducen, se minimiza el ambiente y las interacciones con el ambiente. Puede avanzarse en generaciones fuera de estación o en localidades donde el patógeno no está presente, evita la realización de inoculaciones. Por otra parte los individuos que llevan genes recesivos pueden seleccionarse en cada generación de retrocruza sin necesidad de realizar un test de progenies como requieren los métodos convencionales de retrocruza (Koebner & Snape, 2000). La utilización de marcadores moleculares es también de utilidad en la selección de los progenitores. Ya que la probabilidad de encontrar segregaciones transgresivas en un cruzamiento o máxima heterosis en un híbrido F1 depende de la diversidad entre los progenitores, las técnicas moleculares son de utilidad para lograr esa divergencia.

También existen técnicas modernas de modificación genética, como el silenciamiento de genes, por las que se han logrado cultivares resistentes a algunas virosis en algunos cultivos como papa, papaya y pepino

