



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

**RESISTENCIA A *Phytophthora infestans* EN *Solanum* spp. DEL
VAVILOV INSTITUTE OF PLANT
RESEARCH**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

Guillermo Andrés Enciso Maldonado

Bajo la supervisión de: Ph. D. Héctor Lozoya Saldaña



APROBADA



RESISTENCIA A *Phytophthora infestans* EN *Solanum* spp. DEL VAVILOV INSTITUTE OF PLANT RESEARCH

Tesis realizada por **GUILLERMO ANDRÉS ENCISO MALDONADO** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESIDENTE:



Ph. D. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA

ASESOR:



Dr. JESÚS AXAYACATL CUEVAS SÁNCHEZ

ASESOR:



Ph. D. MARÍA TERESA BERYL COLINAS LEÓN

LECTOR EXTERNO:



Dra. SYLVIA PATRICIA FERNÁNDEZ PAVÍA

CONTENIDO

1. Datos personales	ix
2. Desarrollo académico.....	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	12
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	14
2.1 Importancia de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) a nivel mundial	14
2.2 El tizón tardío, la enfermedad; <i>Phytophthora infestans</i> , el patógeno.....	15
2.2.1 Importancia histórica y actual del tizón tardío	15
2.2.2 <i>P. infestans</i> , un patógeno re-emergente	15
2.2.3 Reproducción y ciclo de vida de <i>P. infestans</i>	16
2.2.4 Centro de origen de <i>P. infestans</i>	17
2.3 El mejoramiento genético de la papa en la lucha contra el tizón tardío.....	17
2.3.1 Esfuerzos post-hambruna hasta la era pre-molecular.....	17
2.3.2 Tipos de resistencia en <i>Solanum</i> spp	19
2.3.3 El uso de especies silvestres de papa en mejoramiento genético	20
2.3.4 Limitaciones para el uso de papas silvestres	21
2.3.5 Metodologías para estudios epidemiológicos e identificación de fuentes de resistencia.....	22
2.3.6 Nuevas técnicas y avances en el estudio de la resistencia en papas silvestres	23
2.4. Literatura citada	24
3. ASSESSMENT OF WILD SOLANUM SPECIES FOR RESISTANCE TO <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary IN THE TOLUCA VALLEY, MÉXICO .	31
4. LA BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO EN PAPAS SILVESTRES	47

5. IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS DE RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO EN ESPECIES SILVESTRES DE PAPA	60
--	----

CUADROS

Cuadro 1. Accesiones seleccionadas para el estudio	64
Cuadro 2. Regiones analizadas en las accesiones de papa	66
Cuadro 3. Especie, identificador de la accesión (ID), número de accesión (ACNO), categoría de resistencia, presencia del marcador y total de marcadores amplificados porespecie	68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Verificación de las PCR de los cebadores R1, R8 y Rpi-ber1 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %.** a) Cebador R1. b) Cebador R8 y c) Cebador Rpi-ber1. Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base.....69
- Figura 2. Verificación de las PCR de los cebadores STO-448 y R2 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %.** a) Cebador STO-448. b) Cebador R2 Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base69
- Figura 3. Verificación de las PCR de los cebadores RPI-BLB1 y RPI-BLB2 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %.** a) Cebador RPI-BLB1. b) Cebador RPI-BLB2 Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base70
- Figura 4.** Diagrama de caja en el cual se observa la cantidad de marcadores identificados en las distintas especies evaluadas según categoría de resistencia al tizón tardío71

DEDICATORIA

A Aída Lorenza Orrego Fuente, con aprecio y admiración

AGRADECIMIENTOS

A Dios, el Único Hacedor de Todo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca de estudios. A la Universidad Autónoma Chapingo, al área de Proyectos Especiales en Programas Internacionales del Departamento de Desarrollo Global, Escuela de Ciencias Vegetales Integrativas de Universidad de Cornell, Ithaca, NY, EE. UU., al Banco de Genes de Papa de EE. UU.-NRSP-6, Suturgeon Bay, WI, y al Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria del Estado de México (ICAMEX), por apoyar la investigación realizada como parte de mi trabajo doctoral.

Al Dr. Héctor Lozoya Saldaña por aceptarme como su estudiante, por su orientación académica y palabras para desarrollar esta investigación y por las charlas interesantes durante mi estancia en la Universidad. Al Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez y a la Dra. Ma. Teresa B. Colinas León por su interés y contribuciones en el trabajo de tesis.

A los compañeros y amigos, porque me asistieron en las distintas etapas de la estancia doctoral, por su tiempo y su valiosa amistad: G. Díaz, A. López., J. Álvarez, H. Verónica, C. Montoya, C. Ramos, B. Vázquez, C. Zapata, J. Schlickmann, V. Carvajal, K. González, A. Sanabria, E. Vázquez, K. Riveros, L. Talavera, G. Caballero, M. Pedrozo, P. Fisch y J. Y. Mongelos.

A mi familia: Billy, Christina, Alejandro, Gabriela, Marcelo, Mauricio, Fernanda, Fernanda, Luana, Juan, Emilio, Ignacio, Rodrigo y Chelo por el constante apoyo que me dan para animarme a hacer lo que me hace feliz.

DATOS BIOGRÁFICOS



1. Datos personales

Nombre	Guillermo Andrés Enciso Maldonado
Fecha de nacimiento	julio 30 1990
Lugar de nacimiento	Asunción, Central, Paraguay.
CURP	EIMG900730HNENLL04
Cédula profesional	4268 (Paraguay)

2. Desarrollo académico

Bachillerato	Colegio Santa Clara, Asunción, Paraguay.
Licenciatura	Ingeniero Agrónomo, UNA, Paraguay.
Maestría	Universidad Autónoma Chapingo, México.

RESUMEN GENERAL

RESISTENCIA A *Phytophthora infestans* EN *Solanum* spp. DEL VAVILOV INSTITUTE OF PLANT RESEARCH

El tizón tardío (*Phytophthora infestans*) es la principal amenaza del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en el mundo, provocando pérdidas totales de producción. Mediante el mejoramiento genético de la papa se buscan cultivares resistentes a esta enfermedad. Sin embargo, el patógeno es capaz de producir descendencias a partir de la reproducción sexual, generando nuevas cepas más virulentas, resistentes a fungicidas y que le han permitido vencer innumerables veces la resistencia genética en nuevos cultivares. Los genes de resistencia vertical de *Solanum demissum* han sido utilizados para la obtención de variedades resistentes, pero con éxito limitado, por lo tanto existe un interés en utilizar genes de resistencia horizontal, contenidos en diversas especies silvestres de *Solanum*, por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia de 97 accesiones de 14 especies silvestres de *Solanum* en condiciones de infección natural en el Valle de Toluca, México, durante dos ciclos de cultivo consecutivos, y se buscó detectar la presencia de genes de resistencia en 23 accesiones seleccionadas con diferentes niveles de enfermedad. Se detectaron efectos significativos para la interacción de la variación Accesoión/Año en El Máximo de la Enfermedad, AUDPC estandarizado, tasa de aumento de la enfermedad por unidad de tiempo y en el tiempo para alcanzar el 50 % de la enfermedad. La variación continua en estos parámetros indicó la presencia de genes R fuertes únicos o múltiples para la resistencia a la enfermedad. Se identificaron 23 accesiones de interés como fuentes potenciales de resistencia. Se detectó la presencia de los genes *R1*, *R8*, *Ssto-448*, *R2*, *Rpi-ber1*, *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2* mostraron amplificación de múltiples bandas por muestra en diferentes accesiones. No hay relación entre el nivel de resistencia observada en las accesiones evaluadas con la carga de genes de resistencia. Los genotipos de *Solanum* que tienen una amplia gama de resistencia podrían usarse en programas de mejoramiento y para estudios genéticos moleculares.

Palabras clave: recursos fitogenéticos, especies silvestres de papa, resistencia vertical, resistencia horizontal.

GENERAL ABSTRACT

RESISTANCE TO *Phytophthora infestans* IN *Solanum* spp. FROM VAVILOV INSTITUTE OF PLANT RESEARCH

Late blight (*Phytophthora infestans*) is the main threat to potato (*Solanum tuberosum*) cultivation in the world, causing total production losses. Through the genetic improvement of the potato, cultivars resistant to this disease are sought. However, the pathogen can produce offspring through sexual reproduction, generating new, more virulent strains that are resistant to fungicides and have allowed it to overcome genetic resistance in new cultivars countless times. The vertical resistance genes of *Solanum demissum* have been used to obtain resistant varieties, but with limited success, therefore there is an interest in using horizontal resistance genes, contained in various wild species of *Solanum*, therefore, the objective of This work was to evaluate the resistance of 97 accessions of 14 wild species of *Solanum* under conditions of natural infection in the Toluca Valley, Mexico, during two consecutive crop cycles, and sought to detect the presence of resistance genes in 23 accessions selected with different levels of disease. Significant effects were detected for the interaction of Accession/Year variation on Maximum Disease, standardized AUDPC, rate of disease increase per unit time, and time to reach 50 % disease. Continuous variation in these parameters indicated the presence of single or multiple strong *R* genes for disease resistance. 23 accessions of interest were identified as potential sources of resistance. The presence of the *R1*, *R8*, *Ssto-448*, *R2*, *Rpi-ber1*, *Rpi-blb1* and *Rpi-blb2* genes was detected in different accessions. There is no relationship between the level of resistance observed in the accessions evaluated with the load of resistance genes. *Solanum* genotypes that have a wide range of resistance could be used in breeding programs and for molecular genetic studies.

Keywords: plant genetic resources, wild potato species, vertical resistance, horizontal resistance.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El tizón tardío, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, es la principal amenaza para el cultivo de papa y tiene el potencial de devastar campos enteros de producción en todo el mundo (Grunwald & Flier, 2005). Esta enfermedad no es un problema nuevo. En la década de 1840, fue responsable de la hambruna irlandesa que provocó la muerte de un millón de personas y la migración de otros 1,5 millones (Haverkort et al. 2008). Recientemente ha causado epidemias en Norteamérica (Fry et al., 2015a), Europa (Grunbech et al., 2015), Sudamérica (Lindqvist-Kreuze et al., 2020), África y Asia (Fry et al., 2015b). Actualmente, *P. infestans* se considera un patógeno reemergente debido a que genera una descendencia con una amplia diversidad genética, haciendo que el patógeno adquiera mayor capacidad para quebrar la resistencia genética del hospedero y provocar la devastación de cultivos en nuevos lugares con una nueva y sorprendente intensidad (Fry et al., 2015a).

Por más de un siglo se ha intentado obtener cultivares comerciales resistentes al tizón tardío, a través de cruces tradicionales con *S. demissum*, dando lugar a la obtención de materiales de papa resistentes, pero con una base genética estrecha (Zoteyeva et al., 2012; Wastie, 1991). La especie *S. demissum* contiene 11 genes R (R1 a R11) que confieren resistencia específica de raza a diferentes cepas de *P. infestans* en papas comerciales. Sin embargo, estos genes de resistencia han sido superados sistemáticamente por nuevas razas del patógeno y es probable que tengan un uso agrícola limitado en el futuro (Tiwari et al., 2015; Fry & Goodwin, 1997).

Debido a lo anterior, parte del mejoramiento genético de papas se ha centrado en la utilización de genes de resistencia horizontal en los parientes silvestres de la papa (*Solanum* spp.). Por ejemplo, el gen *RB* confiere un amplio espectro de resistencia al tizón tardío de la papa fue clonado en 2003 a partir del híbrido somático de *S. bulbocastanum* (+) y *S. tuberosum* (Song et al., 2003). Por otro lado, en trabajos se encontraron accesiones altamente resistentes al tizón tardío en especies silvestres

y cultivadas de papa (Gopal & Singh, 2003; Khiutti et al., 2015; Bachmann-Pfabe et al, 2019; Karki et al., 2020).

Las colecciones de especies silvestres y cultivadas de *Solanum* del N.I. Instituto de Investigación de Plantas Vavilov (VIR, Rusia) es una de las más antiguas e importantes. Actualmente, existe interés por rescatar y revalorizar estos materiales genéticos, a través del proyecto internacional Cornell-Europa del Este-México (Proyecto CEEM) en colaboración con el Centro de Investigación de Muochów (Polonia). Este proyecto tiene como objetivo almacenar el material genético y asegurar su disponibilidad para su uso en programas de mejoramiento de papa en todo el mundo (Raman et al. 2000; Zoteyeva et al., 2012).

A través del Proyecto CEEM y en colaboración con el área de Proyectos Especiales en Programas Internacionales del Departamento de Desarrollo Global, Escuela de Ciencias Vegetales Integrativas de Universidad de Cornell, Ithaca, NY, EE. UU. y el Banco de Genes de Papa de EE. UU.-NRSP-6, Suturgeon Bay, WI, el objetivo de este trabajo fue identificar fuentes de resistencia al tizón tardío en papas silvestres de la colección VIR en el Valle de Toluca, México.

Debido a que el Valle de Toluca es considerado el principal centro de diversidad genética de *P. infestans*, donde las condiciones son óptimas para el desarrollo de epidemias de tizón tardío, y, además, es el segundo centro de diversidad de *Solanum* spp. (Lozoya-Saldaña, 2005; Grunwald & Flyer, 2005) se espera que los genotipos resistentes identificados en este sitio puedan ser de interés para los programas de mejoramiento de papa en todo el mundo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de la papa (*Solanum tuberosum* L.) a nivel mundial

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es la hortaliza más cultivada del mundo y el cuarto alimento más producido después del trigo, el maíz y el arroz. A nivel mundial se producen 370.436.581 toneladas de papa en 17.340.986 hectáreas, dando un rendimiento promedio de 21.4 t ha⁻¹. El valor de la producción anual está cerca de los 80 billones de dólares (FAOSTAT, 2021).

La papa ha formado parte de la dieta humana desde hace miles de años y actualmente es un alimento básico para 1.300 millones de personas (Stokstad, 2019). En países desarrollados la ingesta de adultos es de 50 a 150 g por día, mientras que regiones de África y Latinoamérica el consumo varía entre 300 y 800 g (Burgos et al., 2020). Su importancia alimenticia se basa en su contenido nutricional. Cien gramos de papas cocinadas proporcionan alrededor del 30 % del requerimiento de vitamina C y el 20 % del requerimiento de vitamina B6, además proveen entre 96.3 y 123.2 kcal de energía. Además, son una fuente importante de carbohidratos, proteínas de calidad, vitaminas C y B6, antioxidantes y minerales como el potasio y en los últimos años se ha destacado su importancia en el combate de la diabetes, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Burgos et al., 2020).

El origen de la papa comestible se encuentra en las regiones andinas de Perú, Bolivia y Chile. Sin embargo, durante mucho tiempo, la mayor producción se realizaba en países desarrollados (Norteamérica y Europa). A partir de 2005, debido al incremento de la demanda, esto fue cambiando y la mayor producción de papa empezó a darse en países en desarrollo (Devaux et al., 2020). Para satisfacer esta demanda es necesaria la adaptación de la papa a nuevos y diversos suelos y climas, así también, a plagas, enfermedades, calor y sequía (Stokstad, 2019).

Dentro de este contexto, el mejoramiento genético de la papa ha sido y sigue siendo de vital importancia para cubrir la demanda mundial. La mayor parte de los esfuerzos de mejoramiento se han centrado en la obtención de genotipos

resistentes al tizón tardío, causado por el oomyceto *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, principal amenaza del cultivo a nivel mundial (Grunwald & Flier, 2005).

2.2 El tizón tardío, la enfermedad; *Phytophthora infestans*, el patógeno.

2.2.1 Importancia histórica y actual del tizón tardío

El oomycete *Phytophthora infestans* Mont De Bary es el agente causal del tizón tardío de la papa. Este patógeno ha sido calificado como “infame” por su papel en la hambruna irlandesa en la década de 1840 (Leesutthiphonchai et al., 2018), considerada la primera epidemia severa de plantas en la que se demostró que un microorganismo emergente era el agente causal. En ese entonces, la población irlandesa era altamente dependiente del monocultivo de la papa con un limitado número de variedades, lo que favoreció la emergencia de esta epidemia devastadora (Corredor-Moreno & Saunders, 2020).

La hambruna irlandesa marcó un antes y después en la producción de alimentos. A partir de ella, inició el desarrollo de la fitopatología como ciencia y el mejoramiento genético tuvo un nuevo enfoque hacia la búsqueda de cultivares con resistencia a enfermedades. Después de la hambruna, muchas personas quedaron fascinadas con el patógeno y la tecnología actual permite responder muchas preguntas sobre ese acontecimiento (Fry et al., 2015a).

2.2.2 *P. infestans*, un patógeno re-emergente

El patógeno *Phytophthora infestans* es un oomycete, hemibiotrófico. Es una especie heterotálica, con dos tipos de apareamiento (A1 y A2). Por mucho tiempo solo se conocía el tipo A1 y a la mitad del siglo XX se encontró que en México existían ya desde hace tiempo ambos tipos de apareamiento. Posteriormente, a fines del siglo XX, las migraciones de México distribuyeron una población muy compleja y diversa que contenía tipos de apareamiento A1 y A2 a Europa, desde donde posteriormente se distribuyeron a otros lugares (Fry & Grünwald, 2010).

Actualmente, *P. infestans* es considerado un patógeno re-emergente debido a que

sus poblaciones varían constantemente en todo el mundo, provocando la devastación de cultivos en lugares nuevos con una intensidad nueva y sorprendente (Fry et al., 2015a), pudiendo destruir un cultivo de papa en pocos días, si no se toman medidas de manejo (Vleeshouwers et al., 2011). El éxito de este patógeno no solo se debe a su elevada virulencia, sino también a su capacidad para vencer las defensas de plantas resistentes al producir efectores que suprimen la inmunidad de la planta y promueven la susceptibilidad, a esporulación profusa con un período latente corto que permite una rápida diseminación y una estructura del genoma que promueve la evolución adaptativa de *Phytophthora infestans* al fomentar diversidad genética, la cual permite adquirir resistencia a fungicidas (Leesutthiphonchai et al., 2018).

2.2.3 Reproducción y ciclo de vida de *P. infestans*

Phytophthora infestans presenta dos tipos de reproducción: asexual y sexual. En la fase asexual se produce una zoospora a partir del esporangio. El esporangio sirve como propágulo que le permite dispersarse a través de masas de aire y sobrevivir en días nublados (Fry & Grünwald, 2010), llega a los órganos aéreos de la planta y germina directamente en el tejido del hospedero cuando las temperaturas se encuentran por encima de los 21 °C (óptimo a 25 °C) en un proceso que dura entre 8 y 48 horas (Foolad et al., 2008). Por debajo de 21 °C, los esporangios liberan zoosporas biflageladas (formación óptima de zoosporas: 12 °C). Por su parte, las zoosporas cuentan con flagelos que le permiten nadar unos centímetros a través de la lámina de agua en los tejidos o en el suelo, una vez que hacen contacto con el hospedero, pierden los flagelos y enquistan para producir tubos germinativos que servirán para invadir el tejido foliar o tubérculo del hospedero (Leesutthiphonchai et al., 2018; Foolad et al., 2008; Porter et al., 2005). Cuando las condiciones son favorables (humedad relativa $\geq 90\%$ y 12-18 °C) la esporulación es óptima; una lesión de tizón tardío puede producir hasta 300.000 esporangios por día (Fry & Goodwin, 1997) y el ciclo de vida asexual se puede completar en cuatro días. En esta fase, el patógeno se comporta como un parasito obligado ya que no cuenta con mecanismos de supervivencia en el largo plazo, por lo que, para sobrevivir infecta

tubérculos de papa, donde permanecen viables entre temporadas (Fry & Grünwald, 2010). Por otro lado, la recombinación entre los tipos de apareamiento A1 y A2 da lugar a reproducción sexual y la formación de oosporas grandes y de paredes gruesas, que permiten que el patógeno sobreviva en restos del cultivo o en el suelo fuera de la planta hospedera viva, convirtiéndose en fuente de inóculo primario para causar una epidemia en una siguiente temporada (Fernández-Pavía et al., 2004; Lozoya-Saldaña, 2005; Fry & Grünwald, 2010). La recombinación entre ambos tipos de apareamiento da lugar a la generación de nuevas cepas más agresivas y en muchos casos, con resistencia a fungicidas como el metalaxyl (Lozoya-Saldaña et al., 2017; Foolad, 2008).

2.2.4 Centro de origen de *P. infestans*

Por algún tiempo se consideró que el centro de origen de *Phytophthora infestans* se encontraba en la región andina de Perú, sin embargo, la hipótesis aceptada actualmente es que se encuentra en el Valle de Toluca, ubicado en el altiplano mexicano y considerado el principal centro de diversidad genética de *P. infestans* y el segundo mayor centro de diversidad de *Solanum* spp. (Grünwald & Flier, 2005). En el Valle, durante el verano, la temperatura oscila entre los 10 y 25 °C en un ciclo diario de 24 h, la humedad relativa es superior al 90 % en por lo menos 10 h diarias durante varios días y existe alternancia de períodos luminosidad/nubosidad; condiciones que son óptimas para el desarrollo del patógeno (Lozoya-Saldaña, 2005). Además, están presentes varios hospedantes con diverso grado de susceptibilidad y también, los grupos de compatibilidad del patógeno (A1 y A2) se encuentran en una proporción 1:1, debido a que las poblaciones de *P. infestans* del valle de Toluca son derivadas sexualmente, altamente recombinantes y por ende de una gran diversidad genética (Flier et al., 2003).

2.3 El mejoramiento genético de la papa en la lucha contra el tizón tardío

2.3.1 Esfuerzos post-hambruna hasta la era pre-molecular

Posterior a la hambruna irlandesa, las epidemias de tizón tardío en cultivos de papa

ocurrieron innumerables veces desde su aparición hasta la actualidad, afectando a varias regiones donde se cultiva papa en todo el mundo con frecuencia variable, dependiendo de las condiciones meteorológicas (Foolad et al., 2008).

Los primeros trabajos de mejoramiento de papa para combatir al tizón tardío iniciaron luego de la hambruna irlandesa. Al inicio, se realizaban cruza intraespecíficas entre cultivares de *Solanum tuberosum* que daban lugar a materiales sin resistencia al tizón tardío. Posteriormente, a inicios del siglo XX, iniciaron las cruza interespecíficas entre *Solanum tuberosum* y la especie silvestre mexicana *Solanum demissum*, la cual cuenta con demissum contiene 11 genes *R* (*R1* a *R11*) que confieren resistencia raza-específica a diferentes cepas de *Phytophthora infestans* en las papas cultivadas (Turner, 2005).

Entre 1920 y 1940, los programas de mejoramiento genético se basaron en genes verticales de alta resistencia, principalmente de *Solanum demissum*, contra razas específicas de *Phytophthora infestans*. En ese entonces existían pocos patotipos de *Phytophthora infestans* dispersos fuera de México. A partir de 1950 se empezó a combinar la resistencia vertical y horizontal de varias especies silvestres del género *Solanum*, y se obtuvieron variedades con una resistencia moderada pero duradera (Lozoya-Saldaña, 2011). Hasta la década de 1980 los materiales de papa resistentes al tizón tardío contenían una base genética estrecha debido a que éstos fueron obtenidos a partir de un limitado número de genotipos (Zoteyeva et al., 2012; Wastie, 1991). Los materiales obtenidos con esos programas fueron resistentes por muchos años, sin embargo, los genes de resistencia que cargaban fueron superados sistemáticamente por nuevas razas del patógeno, haciendo que tengan un uso agrícola limitado (Tiwari et al., 2015; Fry & Goodwin, 1997).

Actualmente, los cultivares existentes resistentes a *P. infestans* no son suficientes para reducir las pérdidas de rendimiento, por lo que la investigación se ha enfocado a la búsqueda e introducción de nuevos genes de resistencia en los parientes silvestres de la papa (*Solanum* spp.). La investigación actual busca obtener cultivares resistentes duraderos contra un amplio rango de aislados de *Phytophthora infestans*, que posean múltiples genes de resistencia y que pueden

desarrollarse en menos tiempo mediante enfoques convencionales y moleculares (Tiwari et al., 2013).

2.3.2 Tipos de resistencia en *Solanum* spp.

Dependiendo del objetivo del mejoramiento, la selección de materiales se realiza por la resistencia foliar o del tubérculo. La resistencia en ambos órganos no está asociada debido a que los genes involucrados en la resistencia en ambos órganos son distintos (Lal et al., 2013, Zoteyeva et al., 2012; Kirk et al., 2001; Halterman et al., 2008). Por ejemplo, en el Valle de Toluca, no se considera la evaluación de la resistencia del tubérculo debido a que los suelos son supresivos, los cuales reducen la severidad del tizón tardío en el tubérculo a pesar de que la oospora tenga la capacidad de sobrevivir en el invierno (Lozoya-Saldaña et al., 2006; Fernández-Pavía et al., 2004; Lozoya-Saldaña & Hernández-Vilchis, 2001). La resistencia foliar al tizón tardío puede estar mediada por genes R que son raza-específicos, de herencia mendeliana y fáciles de incorporar para la obtención de nuevos genotipos resistentes, sin embargo, su limitante es que presenta un alto grado de resistencia a una sola cepa del patógeno, característica que está controlada por uno o varios genes de plantas. Por otro lado, la resistencia puede ser horizontal, cuantitativa o de campo, conferida por la presencia de múltiples genes (poligénicos), inespecíficos que protege a la planta contra varias cepas de un patógeno, aunque la protección no sea completa; este tipo de resistencia es difícil de utilizarlas en programas de mejoramiento genético, pero son los más deseables por su durabilidad potencial (Karki et al., 2020; Lozoya-Saldaña, 2011).

Para combatir al tizón tardío, durante más de 100 años se ha trabajado en la obtención de cruzas para la obtención de materiales resistentes. El potencial genético existente en las especies silvestres de papa (*Solanum* spp.) todavía es difícil de concebir, pero dentro de su riqueza se han podido identificar genes que confieren resistencia a un sinnúmero de factores bióticos y abióticos. Las papas silvestres mexicanas han sido reconocidas como una fuente sobresaliente de resistencia al tizón tardío (Zoteyeva, 2020; Zoteyeva et al., 2012). Sin embargo, en las especies sudamericanas se han identificado fuentes de resistencia.

Actualmente, existe un interés en explotar los genes de resistencia de tipo cuantitativo de amplio espectro que se encuentran en diversas especies silvestres de papa.

2.3.3 El uso de especies silvestres de papa en mejoramiento genético

Existen unas 107 especies de papa silvestre, con ploidía variada que se distribuyen en 16 países que van desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile (Spooner et al., 2019). Estas especies cuentan con una amplia gama de características que están ausentes en las papas cultivadas comercialmente, por ejemplo, resistencia a ambientes desfavorables, insectos, nematodos, virus e incluso al tizón tardío (Villano et al., 2020). Existen numerosos reportes de resistencia al tizón tardío en papas silvestres. Pérez et al. (2020) observaron que 80 de 133 accesiones de especies silvestres de papa presentaron resistencia cuantitativa, 18 especies de América Central y del Sur presentaron tanto resistencia cualitativa como cuantitativa y cuatro especies mexicanas y dos sudamericanas presentaron solo resistencia cualitativa. Micheletto et al. (2000) identificaron fuentes de resistencia en *Solanum commersonii* y *Solanum chacoense*. Gopal & Singh (2003) identificaron 10 materiales resistentes de *Solanum tuberosum* dentro una colección de 270 accesiones. Khiutti et al. (2015) observaron variación fenotípica, dentro y entre especies, en la resistencia al tizón foliar y del tubérculo en accesiones de 34 especies. A partir de una colección de 1055 especies, Bachmann-Pfabe et al., (2019) identificaron 69 accesiones muy resistentes y 311 moderadamente resistentes al tizón del tubérculo. Por su parte, Karki et al. (2020), a partir de una colección de 384 accesiones, detectaron 68 especies resistentes al tizón tardío, e indicaron la presencia de genes similares a RB en algunas de las accesiones seleccionadas de diferentes especies.

Así también, se han realizado esfuerzos internacionales para caracterizar material genético e identificar fuentes de resistencia. El Instituto de Investigación de Plantas N. I. Vavilov (Vavilov Institute of Plant Reseach, VIR de Rusia), almacena una de las más antiguas e importantes colecciones de especies silvestres y cultivadas de *Solanum* en el mundo, las cuales fueron colectadas en los centros de origen de los

cultivos. Actualmente, mediante el Proyecto CEEM (Cornell-Europa del Este-México), para colaborar con el Centro de Investigación de Młochów (Polonia), se busca rescatar y guardar material genético y asegurar su disponibilidad para utilizarlos en programas de mejoramiento de papa en todo el mundo (Raman, Grünwald & Fry, 2000; Zoteyeva et al., 2012). Bajo el liderazgo del Dr. John Bamberg del Banco de Germoplasma de Papa Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA/ARS - U.S. Potato Genebank) también se han reportado numerosas accesiones resistentes al tizón tardío, en más de 25 especies, las cuales están disponibles en la base de datos del USDA Germplasm Resources Information Network (GRIN) (<https://www.ars-grin.gov/>). De igual manera, el Centro Internacional de la Papa en Perú (CIP) (<https://cipotato.org/>) ha realizado esfuerzos para conservar y proveer materiales para el resto del mundo y constantemente están trabajando en la búsqueda de fuentes de resistencia al tizón tardío (Lindqvist-Kreuze et al., 2020; Perez et al., 2000).

2.3.4 Limitaciones para el uso de papas silvestres

A pesar de que existe una rica y variable cantidad de germoplasma de papa con resistencia al tizón tardío, la introducción de estas características no ha sido una tarea fácil debido a que existen barreras biológicas entre especies. La hibridación y las cruces interespecíficas se dificultan por la diferencia la variación en la ploidía ($2n=2x=24$; $2n=3x=36$; $2n=4x=48$; $2n=5x=60$; $2n=6x=72$) y el número de balance del endospermo (EBN, por sus siglas en inglés) ($2x$ [1EBN], $2x$ [2EBN], $4x$ [2EBN], $4x$ [4EBN], $6x$ [4EBN]) entre la especie cultivada (*Solanum tuberosum*) y las especies silvestres (Haverkort et al., 2016; Johnston et al., 1980). El número de balance del endospermo se refiere al desarrollo del endospermo después de la fertilización y en papas se establece que la proporción de contribución genómica debe mantenerse en una proporción de 2:1 (materno/paterno) para el desarrollo normal del endospermo (Depetris et al., 2018; Johnston et al., 1980). Para superar esas barreras se ha procedido a diferentes técnicas como la reducción del número de ploidías mediante el cultivo de anteras y regeneración de plantas diploides a partir de tetraploides, o haploides a partir de diploides (Pacheco-Sánchez et al., 2003), el cruce de puentes entre especies, como en el caso de *S. verrucosum*

(2EBN) que se cruzó con éxito con *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum*, *S. polyadenium*, *S. commersonii* y *S. circaelifolium*, todas de 1EBN, rescate de embriones, fusión de protoplastos o duplicación de cromosomas con posterior selección y retrocruzas normales con el material parental deseado (Bethke et al., 2017).

2.3.5 Metodologías para estudios epidemiológicos e identificación de fuentes de resistencia

Para detectar materiales resistentes al tizón tardío se aplican distintas metodologías (Forbes et al., 2005) que incluyen pruebas de campo y ensayos de plantas enteras (Stewart et al., 1983), ensayos en hojas desprendidas (Vleeshouwers et al., 1999) y ensayos *in vitro* (Huang et al., 2005). Pérez et al. (2000) mencionaron que los ensayos *in vitro* ofrecieron una visión general de los niveles de resistencia en los germoplasmas y que son necesarias posteriores evaluaciones a campo. Por su parte, Karki et al. (2020) indicaron que los ensayos de hojas desprendidas ofrecen condiciones muy favorables para el desarrollo de la enfermedad, impidiendo la identificación precisa de la resistencia cuantitativa, y hacen que un mayor número de genotipos califique como susceptible; además, no siempre existe una relación cercana en la resistencia del follaje evaluada en laboratorio y campo (Lal et al. 2013). Las pruebas de campo que miden el área bajo la curva de progreso de la enfermedad proporcionan la mejor estimación de la resistencia a las enfermedades (Fry, 1978), sin embargo, en la mayoría de los sitios de evaluación es necesario realizar inoculaciones y cuando las condiciones no son favorables, los ensayos no pueden realizarse debido a la falta de infección por parte del patógeno (Sieber et al., 2015). El Valle de Toluca en México es un sitio de importancia internacional para la evaluación de genotipos o para realizar estudios de eficacia de fungicidas, entre otros, debido a que allí no se requieren inoculaciones debido a que la gran cantidad de oosporas de cepas variables y virulentas que sobreviven al barbecho invernal y que sirven como fuente de inóculo (Lozoya-Saldaña, 2005; Fernández-Pavía et al., 2004; Shakya et al., 2018; Flier et al., 2003). Estas condiciones hacen que en

mejoramiento genético cualquier clon de papa resistente al tizón tardío *Phytophthora infestans* en Toluca tenga muchas posibilidades de seguir siéndolo en el resto del mundo. Lo mismo sucede con los ensayos de fungicidas, pues cualquier producto que controle al patógeno bajo las condiciones de Toluca también lo hará en cualquier otra parte (Lozoya-Saldaña, 2005).

2.3.6 Nuevas técnicas y avances en el estudio de la resistencia en papas silvestres

Técnicas como la minería de alelos, estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) han permitido explorar el genoma de especies silvestres para detectar genes homólogos de resistencia, y la clonación de genes ha permitido conocer su expresión (Vossen et al., 2016; Tiwari et al., 2015; Gebhardt et al., 2004; Kim et al., 2012; Sokolova et al., 2011). Por otro lado, la construcción de mapas de ligamiento sirvió para comprender los genes de resistencia y para desarrollar marcadores moleculares vinculados a los loci de resistencia (Tiwari et al., 2013). En especies silvestres de papa se ha detectado una amplia gama de marcadores ligados a genes R, loci de carácter cuantitativo (QTL, por sus siglas en inglés) y marcadores de polimorfismo de nucleótido simple (SNP, por sus siglas en inglés) que confieren resistencia al tizón tardío (Lindqvist-Kreuze et al., 2014). Algunas especies en las que se han encontrado genes son *S. demissum*, *S. bulbocastanum*, *S. brachistotrichum*, *S. edinense*; *S. hjertingii*, *S. microdontum*, *S. schenckii*; *S. verrucosum*, *S. pinnatisectum*, *S. stoloniferum*, *S. papita*; *S. polytrichon*; *S. mochiquense*, *S. phureja*; *S. venturii*; *S. dulcamara*, *S. berthaultii*; *S. avilesi*; *S. capsicibaccatum*, entre otras (Tiwari et al., 2013). Hasta la fecha, el gen *RB*, clonado de *S. bulbocastanum*, obtenido por hibridación entre *S. bulbocastanum* (+) *S. tuberosum* es el gen más eficiente para suprimir la infección por *P. infestans* (Song et al., 2003), este fue un aporte importante para la generación de nuevas variedades con resistencia horizontal en diversos programas de mejoramiento genético (Vossen et al., 2003; Lokossou et al., 2009; Park et al., 2005). Posteriormente, homólogos de este gen se encontraron en especies de *Solanum* con y sin tubérculos (Wang et al., 2008). Con base en ensayos genéticos, de

resistencia y transgénicos, se han identificado genes *RB* que son funcionalmente equivalentes a los de *S. bulbocastanum* en *S. stoloniferum* y *S. verrucosum* (Liu y Halterman, 2006; Wang et al., 2008). Por otro lado, uno de los mayores logros en el mejoramiento genético para combatir al tizón tardío fue el recién apilamiento de tres genes de resistencia al tizón tardío en cultivares comerciales, los cuales han sido muy efectivos, impidiendo por completo la infección sin ningún tipo de aplicación de fungicida (Ghislain et al., 2019).

2.4. Literatura citada

- Belmar-Díaz, C. R. (2004). Efecto de radiación solar en la viabilidad de esporangios desprendidos de *Phytophthora infestans* Mont. De Bary. Tesis, Facultad de Ciencias, Licenciatura en Biología, Universidad Autónoma del Estado de México.
- Bethke, P. C., Halterman, D. A., & Jansky, S. (2017). Are we getting better at using wild potato species in light of new tools? *Crop Science*, 57(3), 1241-1258.
- Burgos, G., Zum Felde, T., Andre, C., & Kubow, S. (2020). The potato and its contribution to the human diet and health. In *The potato crop* (pp. 37-74). Springer.
- Carstensen, B., Plummer, M., Laara, E., & Hills, M. (2021). *Epi: A package for statistical analysis in epidemiology*. R package version 2.43, <https://CRAN.R-project.org/package=Epi>.
- Corredor-Moreno, P., & Saunders, D. G. (2020). Expecting the unexpected: factors influencing the emergence of fungal and oomycete plant pathogens. *New Phytologist*, 225(1), 118-125.
- Danan, S., Veyrieras, J. B., & Lefebvre, V. (2011). Construction of a potato consensus map and QTL meta-analysis offer new insights into the genetic architecture of late blight resistance and plant maturity traits. *BMC Plant Biology*, 11(1), 1-17.
- Depetris, M. B., Acuña, C. A., Pozzi, F. I., Quarín, C. L., & Felitti, S. A. (2018). Identification of genes related to endosperm balance number insensitivity in *Paspalum notatum*. *Crop Science*, 58(2), 813-822.
- Devaux, A., Goffart, J. P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., ... & Hareau, G. (2020). Global food security, contributions from sustainable potato agri-food systems. In *The potato crop* (pp. 3-35). Springer.

- Elansky, S. N., Dyakov, Y. T., Milyutina, D. I., Apryshko, V. P., Pobedinskaya, M. A., Filippov, A. V., ... & Statsyuk, N. V. (2007). Late blight of potato in Russia. In A. J. Haverkort, & B. V. Anisimov (Eds.), *Potato production and innovative technologies* (pp. 262-274). Wageningen Academic Publishers.
- Fernández-Pavía, S. P., Grünwald, N. J., & Fry, W. E. (2002). Formation of *Phytophthora infestans* oospores in nature on tubers in central Mexico. *Plant Disease*, *86*(1), 73-73.
- Fernández-Pavía, S. P., Grünwald, N. J., Diaz-Valasis, M., Cadena-Hinojosa, M., & Fry, W. E. (2004). Soilborne oospores of *Phytophthora infestans* in central Mexico survive winter fallow and infect potato plants in the field. *Plant Disease*, *88*(1), 29-33.
- Flier, W. G., Grünwald, N. J., Kroon, L. P., Sturbaum, A. K., van den Bosch, T. B., Garay-Serrano, E., ... & Turkensteen, L. J. (2003). The population structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca Valley of Central Mexico suggests genetic differentiation between populations from cultivated potato and wild *Solanum* spp. *Phytopathology*, *93*(4), 382-390.
- Flores-Crespo, R. (1969). *Taxonomía. Distribución y Potencial de los Solanum Tuberíferos Silvestres de México*. Folleto Misceláneo No. 20. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SAO. México, D.F. 33 p
- Foolad, M. R., Merk, H. L., & Ashrafi, H. (2008). Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *27*(2), 75-107.
- Forbes, G. A., Chacón, M. G., Kirk, H. G., Huarte, M. A., Van Damme, M., Distel, S., ... & Capezio, S. (2005). Stability of resistance to *Phytophthora infestans* in potato: an international evaluation. *Plant Pathology*, *54*(3), 364-372.
- Fry, W. E., Birch, P. R. J., Judelson, H. S., Grünwald, N. J., Danies, G., Everts, K. L., ... & Smart, C. D. (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, *105*(7), 966-981.
- Fry, B., Danies, G., Small, I., & Myers, K. (2015). Recent developments concerning the population biology and control strategies of *Phytophthora infestans* in the USA. *PPO-Special Report no. 17*, 45 p.
- Fry, W. E., & Grünwald, N. J. (2010). Introduction to Oomycetes. In *The plant health instructor*. The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2010-1207-01>
- Fry, W. E., & Goodwin, S. B. (1997). Resurgence of the Irish potato faminefungus. *Bioscience*, *47*(6), 363-371.
- Gebhardt, C., & Valkonen, J. P. (2001). Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. *Annual Review of Phytopathology*, *39*(1), 79-102.

- Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P., & Schüler, K. (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, 13(1), 93-102.
- Grønbech, J., Andersson, B., Sjöholm, L., Liljeroth, E., Edin, E., Bain, R., ... & Vanhaverbeke, P. (2015). Epidemics and control of early & late blight, 2013 & 2014 in Europe. In *Proceedings of the fifteenth EuroBlight workshop* (PPO special report no. 17, pp. 11-30). Applied Plant Research, Wageningen UR.
- Grünwald, N. J., & Flier, W. G. (2005). The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 171-190
- Haverkort, A. J., Boonekamp, P. M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L. A. P., Kessel, G. J. T., ... & Van der Vossen, E. A. G. (2008). Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research*, 51(1), 47-57.
- Henfling, J. W. (1987). Late blight of potato: *Phytophthora infestans*. Technical Information Bulletin 4. *International Potato Center*.
- Jiang, R., Li, J., Tian, Z., Du, J., Armstrong, M., Baker, K., ... & Xie, C. (2018). Potato late blight field resistance from QTL dPI09c is conferred by the NB-LRR gene R8. *Journal of Experimental Botany*, 69(7), 1545-1555.
- Johnston, S. A., Den Nijs, T. P. M., Peloquin, S. J., & Hanneman, R. E. (1980). The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theoretical and Applied Genetics*, 57(1), 5-9.
- Karki, H. S., Jansky, S. H., & Halterman, D. A. (2020). Screening of wild potatoes identifies new sources of late blight resistance. *Plant Disease*, 105(2), 368-376.
- Kim, H. J., Lee, H. R., Jo, K. R., Mortazavian, S. M., Huigen, D. J., Evenhuis, B., ... & Vossen, J. H. (2012). Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked R genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(5), 923-935.
- Kirk, W. W., Felcher, K. J., Douches, D. S., Niemira, B. A., & Hammerschmidt, R. (2001). Susceptibility of potato (*Solanum tuberosum* L.) foliage and tubers to the US8 genotype of *Phytophthora infestans*. *American Journal of Potato Research*, 78(4), 319-322.
- Lal, M., Luthra, S. K., Singh, B. P., & Yadav, S. (2013). Screening of genotypes against potato late blight. *Potato Journal*, 40(1), 80-83.

- Leesutthiphonchai, W., Vu, A. L., Ah-Fong, A. M., & Judelson, H. S. (2018). How does *Phytophthora infestans* evade control efforts? Modern insight into the late blight disease. *Phytopathology*, 108(8), 916-924.
- Lindqvist-Kreuze, H., Gamboa, S., Izarra, M., Pérez, W., Correa, M. Y., Astete, A., ... & Gonzáles, P. (2020). Population structure and host range of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in Peru spanning two decades. *Plant Pathology*, 69(2), 334-346.
- Lindqvist-Kreuze, H., Gastelo, M., Perez, W., Forbes, G. A., de Koeyer, D., & Bonierbale, M. (2014). Phenotypic stability and genome-wide association study of late blight resistance in potato genotypes adapted to the tropical highlands. *Phytopathology*, 104(6), 624-633.
- Lokossou, A. A., Park, T. H., van Arkel, G., Arens, M., Ruyter-Spira, C., Morales, J., ... & van der Vossen, E. A. (2009). Exploiting knowledge of R/Avr genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato linkage group IV. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 22(6), 630-641.
- Lozoya-Saldaña, H., Robledo-Esqueda, M. N., Rivas-Valencia, P., Sandoval-Islas, S., Colinas y León, M. T. B., & Nava-Díaz, C. (2017). Sensibilidad a fungicidas del *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en Chapingo, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 23(3), 175-187.
- Lozoya-Saldaña, H. & Hernández-Vilchis, A. (2001). Postharvest decay of potato tubers in moist chamber and in two types of soil. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2), 140-146.
- Lozoya-Saldaña, H., Coyote-Palma, M. H., Ferrera-Cerrato, R., & Lara-Hernández, M. E. (2006). Antagonismo microbiano contra *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Agrociencia*, 40(4), 491-499.
- Lozoya-Saldaña, H. (2005). Importancia internacional del Valle de Toluca, México, en estudios sobre el tizón tardío de la papa (*Solanum tuberosum* L.), causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(3), 312-319.
- Lozoya-Saldaña, H. (2011). Evolution of vertical and horizontal resistance and its application in breeding resistance to potato late blight. *Potato Journal*, 38(1), 1-8.
- Micheletto, S., Boland, R., & Huarte, M. (2000). Argentinian wild diploid *Solanum* species as sources of quantitative late blight resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(5-6), 902-906.

- Pacheco-Sánchez, M., Lozoya-Saldaña, H., & Colinas-León, M. T. (2003). Reguladores de crecimiento y pretratamiento con frío en la androgénesis *in vitro* de *Solanum iopetalum* L. *Agrociencia*, 37(3), 257-265.
- Padgett, G. B., Nutter Jr, F. W., Kuhn, C. W., & All, J. N. (1990). Quantification of disease resistance that reduces the rate of tobacco etch virus epidemics in bell pepper. *Phytopathology*, 80(5), 451-455.
- Park, T. H., Vleeshouwers, V. G., Kim, J. B., Hutten, R. C., & Visser, R. G. (2005). Dissection of foliage and tuber late blight resistance in mapping populations of potato. *Euphytica*, 143(1), 75-83.
- Pérez, W., Salas, A., Raymundo, R., Huaman, Z., Nelson, R., & Bonierbale, M. (2000). Evaluation of wild potato species for resistance to late blight. *Scientist and Farmer, Partners in Research for the 21st Century, Program Report 1999–2000*, pp. 49-62.
- Porter, L. D., Dasgupta, N., & Johnson, D. A. (2005). Effects of tuber depth and soil moisture on infection of potato tubers in soil by *Phytophthora infestans*. *Plant Disease*, 89(2), 146-152.
- Ramírez-Delgadillo, J. J. (2003). Dinámica de la liberación de esporangios de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, y su relación con las variables meteorológicas en el Valle de Toluca. Tesis, Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.
- Santa, J. D., Berdugo-Cely, J., Cely-Pardo, L., Soto-Suárez, M., Mosquera, T., & Galeano M, C. H. (2018). QTL analysis reveals quantitative resistant loci for *Phytophthora infestans* and *Tecia solanivora* in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plos One*, 13(7), e0199716.
- Schumann, G. L., & D'Arcy, C. J. (2000). Late blight of potato and tomato. In *The plant health instructor*. The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-0724-01>.
- Shakya, S. K., Larsen, M. M., Cuenca-Condoy, M. M., Lozoya-Saldaña, H., & Grünwald, N. J. (2018). Variation in genetic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Mexico from the center of origin outwards. *Plant Disease*, 102(8), 1534-1540.
- Shanner, G., & Finney, R. E. (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, 67, 1057-66
- Sieber, K., Forster, G. M., Berger, A., Hammann, T., Kellermann, A., & Schwarzfischer, A. (2015). Assessment of genetic hotspots for *Phytophthora* resistance and their use as molecular markers in potato breeding. In *Proceedings of the fifteenth EuroBlight workshop* (PPO special report no. 17, pp. 57-62). Plant Research, Wageningen UR.

- Sokolova, E., Pankin, A., Beketova, M., Kuznetsova, M., Spiglazova, S., Rogozina, E., & Khavkin, E. (2011). SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Genetic Resources*, 9(2), 309.
- Song, J., Bradeen, J. M., Naess, S. K., Raasch, J. A., Wielgus, S. M., Haberlach, G. T., ... & Jiang, J. (2003). Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America*, 100(16), 9128-9133.
- Spooner, D. M., Ghislain, M., Simon, R., Jansky, S. H., & Gavrilenko, T. (2014). Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *The Botanical Review*, 80(4), 283-383.
- Spooner, D. M., Jansky, S., Rodríguez, F., Simon, R., Ames, M., Fajardo, D., & Castillo, R. O. (2019). Taxonomy of wild potatoes in northern South America (*Solanum* section Petota). *Systematic Botany Monographs*, 108, 1-305.
- Stokstad, E. (2019). The new potato. *Science*, 363, 574-577
- Tiwari, J. K., Siddappa, S., Singh, B. P., Kaushik, S. K., Chakrabarti, S. K., Bhardwaj, V., & Chandel, P. (2013). Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: an update. *Plant Breeding*, 132(3), 237-245.
- Tiwari, J. K., Devi, S., Sharma, S., Chandel, P., Rawat, S., & Singh, B. P. (2015). Allele mining in *Solanum* germplasm: cloning and characterization of RB-homologous gene fragments from late blight resistant wild potato species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 33(5), 1584-1598.
- Turner, R. S. (2005). After the famine: Plant pathology, *Phytophthora infestans*, and the late blight of potatoes, 1845—1960. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences*, 35(2), 341-370.
- Vanderplank, J. E. (1982). Epidemiology of resistance to disease. In *Host-pathogen interactions in plant disease* (pp. 143-370). Elsevier. *Academic Press*.
- Villano, C., Esposito, S., D'Amelia, V., Garramone, R., Alioto, D., Zoina, A., ... & Carputo, D. (2020). WRKY genes family study reveals tissue-specific and stress-responsive TFs in wild potato species. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
- Vincent, H., Wiersema, J., Kell, S., Fielder, H., Dobbie, S., Castañeda-Álvarez, N. P., ... & Maxted, N. (2013). A prioritized crop wild relative inventory to help underpin global food security. *Biological Conservation*, 167, 265-275.
- Vleeshouwers, V. G., Raffaele, S., Vossen, J. H., Champouret, N., Oliva, R., Segretin, M. E., ... & Kamoun, S. (2011). Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annual Review of Phytopathology*, 49, 507-531.

- van der Vossen, E. A., Gros, J., Sikkema, A., Muskens, M., Wouters, D., Wolters, P., ... & Allefs, S. (2005). The Rpi-blb2 gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi-1 gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *The Plant Journal*, *44*(2), 208-222.
- van Der Vossen, E., Sikkema, A., Hekkert, B. T. L., Gros, J., Stevens, P., Muskens, M., ... & Allefs, S. (2003). An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *The Plant Journal*, *36*(6), 867-882.
- Wang, J., Fernández-Pavía, S. P., Larsen, M. M., Garay-Serrano, E., GregorioCipriano, R., Rodríguez-Alvarado, G., Grünwald, N. J. y Goss, E. M. (2017). High levels of diversity and population structure in the potato late blight pathogen at the Mexico centre of origin. *Molecular Ecology*, *26*, 1091–1107.
- Zoteyeva, N., Chrzanowska, M., Flis, B., & Zimnoch-Guzowska, E. (2012). Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of NI Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *American Journal of Potato Research*, *89*(4), 277-293.
- Zoteyeva, N. M. (2020). Late blight resistance of wild potato species under field conditions in the Northwest of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*, *180*(4), 159-169.

**3. ASSESSMENT OF WILD SOLANUM SPECIES FOR RESISTANCE
TO *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary IN THE TOLUCA
VALLEY, MEXICO**

**3. EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE ESPECIES SILVESTRES
DE SOLANUM A *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary EN EL
VALLE DE TOLUCA, MÉXICO**

Assessment of Wild *Solanum* Species for Resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Toluca Valley, Mexico

Guillermo Andrés Enciso-Maldonado¹ · Héctor

Lozoya-Saldaña¹ · María Teresa Colinas-Leon¹ · Jesús Axayacatl Cuevas-Sanchez¹ · Andres Dejesús Sanabria-Velázquez² · John Bamberg³ · K. V. Raman⁴

Accepted: 29 November 2021

© The Potato Association of America 2021

Abstract

Ninety-seven accessions of 14 wild *Solanum* species were evaluated for late blight resistance under natural infection conditions in the Toluca Valley, México, for two consecutive growing seasons. Significant effects were detected for the interaction of Accession/Year variation in Disease Maximum, sAUDPC (standardized AUDPC), *r* (rate of disease increase per unit time), and T₅₀ (time to reach 50% of the disease). Continuous variation in Disease Maximum, sAUDPCs, *r*, and T₅₀ indicated the presence of unique or multiple strong R genes for disease resistance. Eleven accessions from seven species with a high degree of resistance (R) were identified. Seven accessions from six species were also moderately resistant (MR) in both years. Five accessions of three species were MR or R in just one year, with 23 accessions being of interest as potential sources of resistance. *Solanum* genotypes that have a wide range of resistance could be used in breeding programs and for molecular genetic studies.

Resumen

Catorce especies silvestres de *Solanum* se evaluaron para la resistencia al tizón tardío en condiciones de infección natural en el Valle de Toluca, México, durante dos ciclos de cultivo consecutivos. Se detectaron efectos significativos para la interacción de la variación Accesoión/Año en El Máximo de la Enfermedad, sAUDPC (AUDPC estandarizado), *r* (tasa de aumento de la enfermedad por unidad de tiempo) y T₅₀ (tiempo para alcanzar el 50% de la enfermedad). La variación continua en el Máximo de la Enfermedad, sAUDPCs, *r*, y T₅₀ indicaron la presencia de genes R fuertes únicos o

múltiples para la resistencia a la enfermedad. Se identificaron once accesiones de siete especies con un alto grado de resistencia (R). Siete accesiones de seis especies también fueron moderadamente resistentes (MR) en ambos años. Cinco accesiones de tres especies fueron MR o R en solo un año, con 23 accesiones de interés como fuentes potenciales de resistencia. Los genotipos de *Solanum* que tienen una amplia gama de resistencia podrían usarse en programas de mejoramiento y para estudios genéticos moleculares.

Keywords Late blight · Breeding · Disease resistance

✉ Héctor Lozoya-Saldaña

picti87@gmail.com

¹ Instituto de Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco Km 38.5, C. P. 56230 Chapingo, Estado de México, Mexico

² Department of Entomology and Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695, USA

³ US Potato Genebank NRSP-6, USDA, Sturgeon Bay, WI, USA

⁴ Special Projects in International Programs, Department of Global Development, School of Integrative Plant Science, Plant Breeding and Genetics Section, Cornell University, Ithaca, NY, USA

Introduction

Late blight is caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, and is the main threat to potato cultivation, with the potential to devastate entire production fields globally (Grünwald and Flier 2005). In the 1840s, it was responsible for the Irish famine, which led to the deaths of one million people and the migration of another 1.5 million (Haverkort et al. 2008). It is currently considered to be a re-emerging pathogen because its populations vary constantly, causing the devastation of crops in new places with new and astonishing intensity (Fry et al. 2015a). In the last two decades, there have been epidemics in the USA, Canada,

Europe, South America, Africa, and Asia, with more than USD 6 billion in losses and management expenses per year (Lindqvist-Kreuzer et al. 2020; Fry et al. 2015a, 2015b; Grønbech et al. 2015; Haverkort et al. 2008).

Fungicides are typically used to manage late blight. However, fungicide-resistant strains of *P. infestans* have emerged through selection pressure caused by fungicides. Newly resistant strains displace susceptible ones. These changes in pathogen populations make potatoes a difficult crop to manage. This problem, coupled with favorable conditions

for the pathogen, leads to new destructive epidemics (Karki et al. 2020).

Currently, *P. infestans* resistance in commercial cultivars is rapidly overcome by new races of the pathogen; consequently, research has focused on finding new resistance genes (R genes) in the wild relatives of potato (*Solanum* spp.). One of the oldest and most important collections of wild and cultivated *Solanum* species globally are stored at the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR, Russia). There is interest to rescue and reevaluate these genetic materials, through the international Cornell-Eastern Europe-Mexico project (CEEM Project) and the US Potato Genebank (USPG), USDA, in collaboration with the Research Centre of Muchoń (Poland). This project aims to store the genetic material and make it available for use in potato breeding programs globally (Zoteyeva et al. 2012; Raman et al. 2000).

Early in the twentieth century, the introduction of late blight resistance genes in commercial cultivars was carried out through traditional crosses with *S. demissum*, which has vertical resistance genes (R genes). Until the 1980s, late blight resistant potato materials had a narrow genetic base, because they were derived from a limited number of genotypes (Zoteyeva et al. 2012; Wastie 1991). However, these resistance genes are constantly being overcome by new strains of the pathogen and are likely to have limited agricultural use in the future (Tiwari et al. 2015). From the 1980s on, biotechnological tools allowed better characterization, location, and manipulation of resistance in chromosomes and specific genes of wild *Solanum* species, resulting in transgenic plants resistant to late blight (Lozoya-Saldana 2011).

In comparison, the *RB* gene originates from *Solanum bulbocastanum*, and confers a wide spectrum of resistance to late blight. It was first cloned in 2003 from the somatic hybrid of *S. bulbocastanum* and *S. tuberosum* (Song et al. 2003). The *RB* gene encodes a 970 amino acid protein, belonging to the class of R proteins that exhibit CC-NBS-LRR domains. These domains are involved in the interaction functions with the pathogen's effectors, triggering the hypersensitive response (Vleeshouwers et al. 2008; Champouret et al. 2009). Broad-spectrum resistance against multiple races of *P. infestans* suggests that the *RB* protein can recognize conserved molecules from different races of the pathogen (Song et al. 2003). The counterparts of this gene were found to be functionally equal to those in other *Solanum* species with and without tubers (Wang et al. 2008). The genetic richness contained in wild potatoes has not been fully explored. Our present study contributes to the identification of accessions with genes that may be useful in genetic improvement programs, using current biotechnological techniques that allow characterizing potential useful genes to introduce them into clones of interest.

Sources of resistance to *P. infestans* have been previously reported in large number of *Solanum* species

(USDA Germ-plasm Resources Information Network (GRIN); Pérez et al. (2000); Micheletto et al. (2000); Gopal and Singh (2003); Khiutti et al. (2015); Bachmann-Pfabe et al. (2019); Karki et al. (2020), (Table 4).

Different methods are used to evaluate the resistance of potato genotypes to late blight, such as detached leaf (DLA) and in vitro assays (Karki et al. 2020; Huang et al. 2005). DLA and in vitro tests offer an advantage to the pathogen, since the environment is modified to obtain the best infection conditions. However, field evaluations can more accurately reflect the resistance phenotypes of adult plants in the field (Pérez et al. 2000). Many experiments use the area under the disease progress curve (AUDPC) to describe epidemics and the resistance of accessions under field conditions (Fry 1978). However, inoculations may be required to induce infection and further development of the disease (Sieber et al. 2015).

The Toluca Valley is in the highlands of central Mexico (2640 mosl) and is considered the main center of genetic diversity of *P. infestans*, and the second-largest diversity center of *Solanum* spp. (Grünwald and Flier 2005). This region has many factors that make it ideal for conducting late blight epidemiology work and quantifying late blight resistance, along with fungicide management of late blight (Lozoya-Saldaña 2005). Moreover, the presence of wild hosts with varying degrees of susceptibility represents potential sources of inoculum. The incidence of pathogen mating types in the Valley in a 1:1 ratio supports the convenience of this place for late blight studies (Flier et al. 2003). These conditions ensure that late blight-resistant potato clones screened in the Toluca Valley are resistant in other regions (Lozoya-Saldaña 2005). This study aimed to identify sources of resistance to late blight in wild potatoes from the VIR collection in the Toluca Valley, México. Resistant genotypes identified in this study may be of interest for potato breeding programs worldwide.

Materials and Methods

Fifteen to 20 plantlets each from botanical seeds of 97 accessions of 14 *Solanum* species from the Vavilov Institute of Plant Industry (VIR, St. Petersburg, Russia, Table 1), kindly provided by the US Potato Genebank (USPG), USDA, were transplanted to the field early in the summer of 2019 and 2020 in the ICAMEX-SEDAGRO Experiment Station in the Toluca Valley, México, under rainfed conditions. The plantlets were then exposed to natural infection by *P. infestans* during the two growing seasons.

The experiment was established under a completely randomized block design, with three replicates in both years. Potato cv. Agata was included as a susceptible control (*Solanum tuberosum* L.). No fungicides were applied during the experiment, nor irrigation. The disease was visually assessed once a week. Assessment was based on the percentage of foliar area infected by late blight (disease sever-

ity) using a late blight severity scale (Henfling 1987). Disease severity was converted to area under disease progress curve (AUDPC) (Shanner and Finney 1977). Because each AUDPC had differences in time, this variable was standardized (sAUDPC), by dividing the value with the time lapse between the first and last infection observation of the disease. Plants with Maximum Disease (Dmax) values of 85.1–100, 35.1–85, 15.1–35, and 0–15 were considered as highly susceptible (HS), susceptible (S), moderately resistant (MR), and resistant (R), respectively (Deahl et al. 1974). The disease rate (r_L) for each accession was calculated by regressing the logit transformed value of $\ln(y/(1-y))$ of disease severity over time, where “y” = late blight disease severity and r_L = rate of logistic model (Vanderplank 1982). The time to reach 50% of the disease (T_{50}) was calculated using the formula:

$$t_{50} = \ln y_{50} / (1 - y_{50}) - \ln y_0 / (1 - y_0) / r_L$$

Data were subjected to mixed-model analysis of variance (ANOVA) using the packages *lme4* and *lmerTest* in the R software (Carstensen et al. 2021). Accession, year, and the interaction of accession and year were considered fixed effects, while replication and the overall error term were considered random effects. The package *multcompView* was used to test the significant difference of the fixed effect means, adjusting for false discovery rates (FDR) using a probability of error of 5% ($\alpha=0.05$).

Results

Climatic conditions were similar in both growing seasons, ideal for the development of both the host plants and the pathogen in the field (Diaz de la Cruz et al. 2014). In 2019, the average minimum and maximum temperatures were 8.1 and 23.6 °C, respectively, and precipitation was 611.1 mm, while in 2020, the average minimum and maximum temperatures were 8.4 and 23.5 °C, respectively, and precipitation was 635.5 mm (Fig. 1). The interaction of Accession/Year had a significant effect on maximum disease at the end (Dmax), sAUDPC, infection rate of the pathogen (r_L), and time to reach 50% of disease between species (T_{50}) (Tables 2 and 3). Infection initially occurred in the control cultivar on July 27, 2019 (44DAP) and August 10, 2020 (45DAP). In both years, severity ranged from 0 to 100%, depending on the genotype. The average maximum disease severity for all accessions was 64% and 75% in 2019 and 2020, respectively. This higher level of disease was reflected in the fact that more S and HS genotypes were observed in 2020 compared to 2019. In 2019, 41.2% of accessions were HS; 35.1% were S; 10.3% were MR; and 13.4% were R. In 2020, 63.9% of accessions were HS; 13.4% were S; 5.2% were MR; and 17.5% were R. The susceptible control Agatha was HS in both years.

sAUDPC values ranged between 4.9 and 33.2 for all accessions of the wild potato species *Solanum microdontum*, *S. michoacanum*, *Solanum pinnatisectum*, and *S. verrucosum*, which had disease ratings between HS and R. All accessions of *S. demissum* were resistant to *P. infestans*, with 0% severity in 2019. Only the accession 653,789 of *S. demissum* had higher disease severity, as it was MR in 2020 and had no infection at all in 2019. Likewise, the accession of *Solanum guerroense* exhibited immunity in both years of the field evaluation.

The accessions of *S. acaule* exhibited variability in terms of their resistance to late blight and were rated between HS and MR (Table 3). Most of the accessions of *Solanum chacoense* were HS in 2019, with some accessions qualifying as S (631,204 and 653,822). In 2020, all accessions of *S. chacoense* were HS. The disease rating also varied for *Solanum brevicaulle*, with one accession being resistant. The accession 631,209 of *S. brevicaulle* had a variable reaction to disease, being MR in 2019 and R in 2020, with sAUDPC values of 6.8 and 8.0, respectively. A similar trend was detected for *S. stoloniferum*, with disease resistance ranging between HS to R. The two accessions of *S. albicans* were S in 2019. However, in 2020, accession 631,198 of this species was HS. The accession 653,829 of *Solanum berthaultii* was MR in 2019, but R in 2020. The accession of *Solanum juzepczukii* was HS in both years, and *Solanum vernei* and *S. verrucosum* were S in 2019 and HS in 2020.

Eleven accessions of *S. demissum* and one of *S. guerroense* showed a high degree of resistance, while two accessions of *S. pinnatisectum* were MR in both years. Also, seven accessions of six species were ranked MR to R in one of the two years (*S. brevicaulle*, *S. berthaultii*, *S. demissum*, *S. microdontum*, *S. pinnatisectum* and *S. stoloniferum*). Five accessions of three species (*S. acaule* accession No. 653814 and 653,826, *S. pinnatisectum* accession No. 275230 and *S. stoloniferum* (accession No. 653823 and 653,778) were MR or R in one year and S in the other year. Some other did not show stable resistance/susceptibility among accessions

Table 1 Accessions included in the assays

No.	Accession No.	No. in VIR catalogue	Species ^x	Origin	Ploidy/EBN ^y	Resistance Rating in preview reports	Reference
1	631,192	VIR 09786	acl	Bolivia, Perú	4x/2EBN		
2	653,812	VIR 09784					
3	653,813	VIR 09787				S	Zoteyeva et al. (2012)
4	653,814	VIR 09789				S	Zoteyeva et al. (2012)
5	653,815	VIR 09794				S	Zoteyeva et al. (2012)
6	653,816	VIR 09795				S	Zoteyeva et al. (2012)
7	653,825	VIR 18010					
8	653,826	VIR 18014					
9	653,827	VIR 18021					
10	631,193	VIR 17901					
11	658,586	VIR 18522					
12	631,194	VIR 18002					
13	631,195	VIR 18004					
14	631,218	VIR 04114					
15	653,786	VIR 04250				S	Zoteyeva et al. (2012)
16	653,787	VIR 04253				S	Zoteyeva et al. (2012)
17	653,788	VIR 04263					
18	631,198	VIR 09814	alb	Peru	6x/4EBN		
19	631,199	VIR 09813					
20	653,801	VIR 07635	ber	Argentina	2x/2EBN	S	Zoteyeva et al. (2012)
21	653,802	VIR 07642					
22	653,829	VIR 23047				R	Zoteyeva et al. (2012)
23	208,562	VIR 16910	brc	Bolivia	2x/2EBN	S	GRIN
24	473,378	VIR 10706					
25	631,209	VIR 07370					
26	631,210	VIR 07381					
27	653,800	VIR 05764					
28	653,809	VIR 09705					
29	653,811	VIR 09746					
30	653,817	VIR 09798					
31	653,818	VIR 09808					
32	631,200	VIR 02733	chc	Argentina, Bolivia, Paraguay	2x/2EBN		
33	631,202	VIR 07610					
34	631,203	VIR 07613					
35	631,204	VIR 02937					
36	631,205	VIR 02739					
37	631,207	VIR 03701					
38	631,208	VIR 08280					
39	653,765	VIR 02722					
40	653,766	VIR 02731				MS	Zoteyeva et al. (2012)
41	653,767	VIR 02914				MR	Zoteyeva et al. (2012)
42	653,768	VIR 02917				MR	Zoteyeva et al. (2012)
43	653,769	VIR 02926				MS	Zoteyeva et al. (2012)
44	653,781	VIR 03674				HS	Zoteyeva et al. (2012)
45	653,782	VIR 03678				MS	Zoteyeva et al. (2012)
46	653,783	VIR 03702				MR	Zoteyeva et al. (2012)
47	653,785	VIR 04236				MS	Zoteyeva et al. (2012)
48	653,792	VIR 05257				MS	Zoteyeva et al. (2012)
49	653,822	VIR 15994				MS	Zoteyeva et al. (2012)

Table 1 (continued)

No.	Accession No.	No. in VIR catalogue	Species ^x	Origin	Ploidy/EBN ^y	Resistance Rating in preview reports	Reference
50	653,762	VIR 02353	dms	Mexico	6x/4EBN	R	GRIN, Zoteyeva et al. (2012)
51	653,770	VIR 03287				R	
52	653,772	VIR 03341				R	
53	653,773	VIR 03342				R	
54	653,774	VIR 03355				R	
55	653,776	VIR 03362				R	
56	653,779	VIR 03540				R	
57	653,789	VIR 04445				R	
58	653,803	VIR 08446				R	
59	653,804	VIR 08462				R	
60	653,805	VIR 08466				R	
61	653,828	VIR 18407	grr	Mexico	6x/4EBN	R	Zoteyeva et al. (2012)
62	631,201	VIR 09742	juz	Peru, Bolivia	3x/*		
63	631,211	VIR 05400	mcd	Bolivia, Argentina	2x/2EBN		
64	631,212	VIR 05684				R	Zoteyeva et al. (2012)
65	653,799	VIR 05763	mch	Mexico	2x/*	R	Zoteyeva et al. (2012)
66	230,489	VIR 21947	pnt	Mexico, USA, Canada	2x/1EBN	R	Zoteyeva et al. (2012)
67	275,230	VIR 21948				R	GRIN, Zoteyeva et al. (2012)
68	275,234	VIR 15254				R	GRIN, Zoteyeva et al. (2012)
69	653,790	VIR 04455				R	Zoteyeva et al. (2012)
70	653,791	VIR 04459				S	Zoteyeva et al. (2012)
71	653,808	VIR 09174				R	Zoteyeva et al. (2012)

Table 1 (continued)

No.	Accession No.	No. in VIR catalogue	Species ^x	Origin	Ploidy/EBN ^y	Resistance Rating in preview reports	Reference
72	653,823	VIR 16888	sto	Mexico	4x/2EBN		
73	653,824	VIR 17454					
74	249,929	VIR 9145					
75	275,157	VIR 18241					
76	631,213	VIR 08416				R	Zoteyeva et al. (2012)
77	631,214	VIR 08475					
78	631,215	VIR 02492				R	Zoteyeva et al. (2012)
79	631,216	VIR 04226				R	GRIN, Zoteyeva et al. (2012)
80	631,217	VIR 03336				R	Zoteyeva et al. (2012)
81	653,763	VIR 02534				R	Zoteyeva et al. (2012)
82	653,764	VIR 02536				R	Zoteyeva et al. (2012)
83	653,771	VIR 03326				R	Zoteyeva et al. (2012)
84	653,775	VIR 03360					
85	653,777	VIR 03527					
86	653,778	VIR 03533				R	Zoteyeva et al. (2012)
87	653,780	VIR 03554				R	Zoteyeva et al. (2012)
88	653,793	VIR 05347					
89	653,794	VIR 05431					
90	653,795	VIR 05671					
91	653,796	VIR 05682					
92	653,797	VIR 05747					
93	653,798	VIR 05751					
94	653,806	VIR 08815					
95	653,807	VIR 08816					
96	653,784	VIR 04220	ver	Mexico	2x/2EBN	R	Zoteyeva et al. (2012)
97	473,306	VIR 17517	vrn	Argentina	2x/2EBN	S	Zoteyeva et al. (2012)

^xWild potato species evaluated: acl = *Solanum acaule*; alb = *S. albicans*; ber = *Solanum berthaultii*; brc = *Solanum brevicaulle*; chc = *Solanum chacoense*; dem = *S. demissum*; gr = *Solanum guerreroense*; juz = *Solanum juzepczukii*; mcd = *Solanum microdontum*; mch = *S. michoacanum*; pnt = *Solanum pinnatisectum*; sto = *S. stoloniferum*; ver = *S. verrucosum*; vrn = *Solanum vernei*; tub = *S. tuberosum*

^yEBN (Endosperm Balance Number) is not known

within the same growing cycle (*S. stoloniferum*, *S. brevicaulle*, *S. chacoense*, Fig. 2). Overall, 23 accessions were identified as potential sources of resistance.

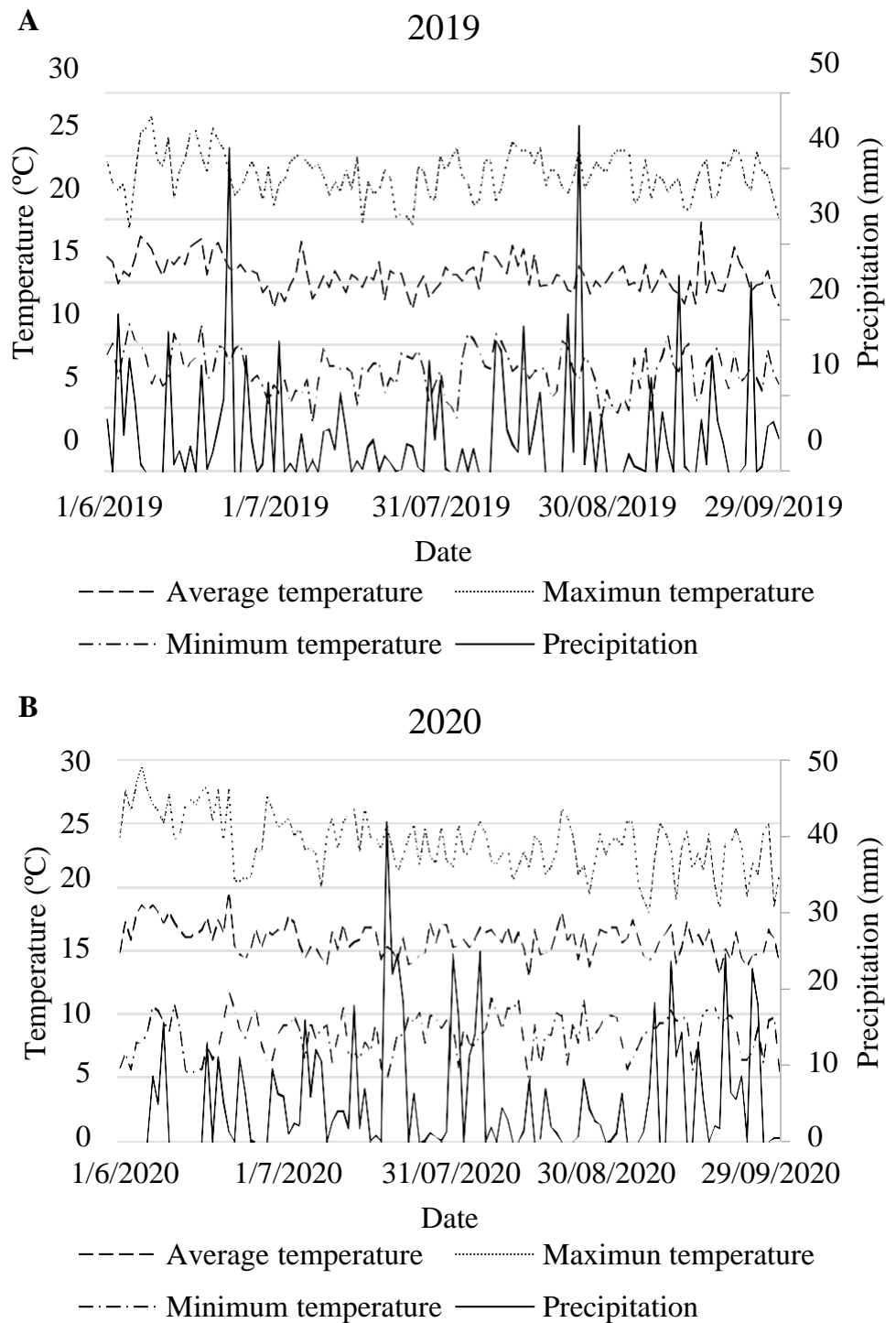
Discussion

The VIR collection in this study included species from North and South America (Spooner et al. 2019). Since Flores-Crespo (1969), our study was the first one to evaluate a collection of this size in the Toluca Valley to identify sources of late blight resistance. The accessions were exposed to highly complex variants of *P. infestans* that prevail in the natural field conditions in the Toluca Valley (Shakya et al. 2018; Wang et al. 2017; Belmar-Díaz and Lozoya-Saldaña 2013; Grünwald and Flier 2005; Lozoya-Saldaña 2005; Flier et al. 2003; Grünwald et al. 2001; Goodwin et al. 1992), and

the disease is consistently severe along years. Nevertheless, similar studies have been conducted and reported worldwide (Table 4).

Weather conditions of the Toluca Valley are optimal for assessing *Solanum* genotypes for late blight resistance every year. Inoculations are not required because of the continuous presence of inoculum in the soil and/or from wild *Solanum* species throughout the region (Fernández-Pavía et al. 2004; Fernández-Pavía et al. 2002). Furthermore, the variation in host resistance observed for the same genotype in different years was due to the presence in the field of the A1 and A2 mating types of the pathogen, mostly in 1:1 ratio, which favors the sexually derived genetic diversity of *P. infestans*, which is widely distributed in the central highlands of Mexico. This ratio guarantees the successful infection of the pathogen, even in resistant potato hosts (Shakya et al. 2018; Diaz de la Cruz et al. 2014; Belmar-Díaz and

Fig. 1 Meteorological conditions along de growing cycles: **a** 2019; **b** 2020



Lozoya-Saldaña 2013; Flier et al. 2003), because the inoculum is sexually derived, not cloned, as in most parts of the world (Grünwald 2020) resulting in continual genetic re-assortment and challenge to the resistant host types.

Mexican wild potatoes provide an outstanding source of resistance to late blight (Zoteyeva 2020; Zoteyeva et al. 2012; Flores-Crespo 1969). In our study, immunity was observed in most accessions of *S. demissum* and *S.*

guerreroense, with some resistance in *S. verrucosum*, *S. pinnatisectum* and in some accessions of *S. stoloniferum*. Most commercial potato varieties possess some late blight resistance genes that come from Mexican wild potatoes. Unlike the South American wild potatoes, the Mexican species had the advantage of evolving together with the complex variants of *P. infestans* in central Mexico, acquiring natural resistance to the pathogen thanks to the coevolution

Table 2 Probability values for all fixed factors

Factor	Dmax ^u	sAUDPC ^v	r ^w	T ₅₀
Accessions	<.0001 ^z	<.0001	<.0001	<.0001
Year	<.0001	0.4188	0.56	<.0001
Accessions×Year	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Cv	7.85%	8.83%	8.22%	5.44%

^uMaximum disease severity reached at the end of the epidemic

^vStandardized Area Under Disease Progress Curve, obtained dividing AUDPC value by the time lapse between the first and last disease rating for each accession

^wDisease rate measure in logit/day, obtained by logit transforming Late Blight disease severity $\ln[y/(1-y)]$ and by regressing on time duration of the epidemic

^zNumber of days for the Late Blight disease to reach 50% severity for each accession calculated using the formula $t_{50} = [\ln(y_{50}/(1-y_{50})) - \ln(y_0/(1-y_0))]/r_L$

^zProbability values with a probability of error of 5% ($\alpha = 0.05$) for fixed factors analyzed using a mixed-model analysis of variance (ANOVA) with replication and the overall error term as random effects

between the resistance genes of the wild potatoes, and the virulent genes of the oomycete (Alfaro 1995). However, several investigations report sources of resistance to late blight in South American potatoes (Zoteyeva 2020; Karki et al. 2020; Zoteyeva et al. 2012; Pérez et al. 2000; Micheletto et al. 2000). In the Toluca Valley, we found resistance in accessions of *S. acaule*, *S. brevicaulle*, *S. berthaultii* and *S. microdontum*.

Quantitative resistance should be verified in several places to achieve greater reproducibility of these data (Micheletto et al. 2000). However, conducting genotype evaluations in the Toluca Valley has the advantage of the distribution, variability, and virulence of the pathogen, with favorable conditions for the development of the disease.

In tuberous *Solanum* species, resistance is evaluated in foliage and tubers. However, several studies have shown that resistance in these two organs is not associated, perhaps because of different genes (Lal et al. 2013; Zoteyeva et al. 2012). Tuber resistance was not assessed in this study because the plants did not tuberize. In addition, the soils of the Valley are suppressive, reducing the severity of late blight in tubers (Lozoya-Saldaña et al. 2006; Fernández-Pavía et al. 2004; Lozoya-Saldaña and Hernández-Vilchis 2001). Tuber blight is not usually observed in the Valley (Villarreal-González, personal communication). Whitworth et al. (2007), evaluated about 21,500 clones from the USDA-ARS potato breeding programs (Aberdeen, Idaho) from 1996 to 2005 and did not consider tuber evaluation because the suppressor soils limit the amount of tuber blight by *P. infestans*. Furthermore, all subsequent studies on the evaluation of fungicides and genotypes in the Toluca Valley, precisely at the site where we

conducted this research did not consider the evaluation of the tuber because of the suppressive soils (Belmar-Díaz and Lozoya-Saldaña 2013; Lozoya-Saldaña et al. 2006; Robledo-Esqueda et al. 2012; Romero-Montes et al. 2012).

The continuous variation in Dmax, sAUDPC, r , and T₅₀ recorded in this study indicates the presence of unique or multiple R genes for disease resistance (vertical or horizontal resistance). Foliar resistance to late blight is mediated by R genes. These genes are easily incorporated through back-crosses to obtain new resistant genotypes (Turner 2005). Likewise, resistance might be attributed to the presence of multiple strong R genes that are difficult to incorporate into commercial cultivars with traditional methods; yet such genes are sought after to provide a broader spectrum of resistance (Karki et al. 2020; Haesaert et al. 2015; Lozoya-Saldana 2011).

Many genes of resistance to late blight in wild potatoes have already been mapped and cloned (Santa et al. 2018; Tiwari et al. 2015; Tiwari et al. 2013; Danan et al. 2011; Song et al. 2003) and RB-like sequences were found in every tested *Solanum* accession suggesting universal distribution of RB structural homologues among *Solanum* genomes (Pankin et al. 2010). However, the use of these genes is still limited, due to difficulties in crossing the barriers at the ploidy level and the incompatibility of endosperm balance number with cultivated potato (Haverkort et al. 2016). These barriers can be overcome by obtaining dihaploids, crossing tetraploid clones with certain diploid pollen donors. Dihaploid genotypes reveal genetic variation hidden in their tetraploid parents allowing breeders to move towards homozygosity and more easily elucidate the genetic basis of agronomic traits (Busseet al. 2021; Hougas and Peloquin 1958). Among the resistant genotypes evaluated in our study the species *S. berthaultii*, *S. brevicaulle* and *S. microdontum* are diploid species, which could be used to obtain dihaploids.

Late blight resistance in commercial potato cultivars has been long obtained from transferring race-specific resistance genes from *S. demissum* to *S. tuberosum* through conventional breeding. More recently, resistance genes of *S. bulbocastanum* have been incorporated in commercial cultivars by breeding programs worldwide, using molecular markers (Rakosy-Tican et al. 2020). Today, it is possible to assist genetic improvement with molecular markers (Vossen et al. 2016; Tiwari et al. 2013). New genetic techniques for rapidly transferring or stacking R genes from highly resistant wild relatives to commercial potato cultivars are actively pursued by breeding programs (Haverkort et al. 2016). Recently, three late blight resistance genes were stacked in commercial cultivars, which are highly effective at preventing *P. infestans* infection (Ghislain et al. 2019). Species with quantitative resistance

Table 3 Maximum disease (Dmax), standardized Area Under Disease Progress Curve (sAUDPC), pathogen infection rate (r_L) and time for the disease to reach 50% severity (T_{50})

Accession No.	Species ^t	2019					2020				
		Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r_L^x	T_{50}^y	Resistance Rating ^z	Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r_L^x	T_{50}^y	Resistance Rating ^z
631,192	acl	100±0.00	57.4±0.00	0.22179±0.00	19.9±0.00	HS	100±0.00	44.0±10.32	0.22771±0.02	21.8±2.88	HS
653,812	acl	50.0±10.00	17.7±1.55	0.08975±0.01	45.9±2.76	S	89.7±8	34.8±3.84	0.19528±0.03	26.7±2.76	HS
653,813	acl	50.0±0.00	36.6±0.00	0.08744±0.00	35.8±0.00	S	96.3±2	41.0±1.93	0.21884±0.02	24.0±1.50	HS
653,814	acl	20.0±0.00	14.5±0.00	0.05834±0.00	60.3±0.00	MR	85.0±0.00	28.8±0.00	0.16630±0.00	29.9±0.00	S
653,815	acl	40.0±0.00	31.6±0.00	0.07119±0.00	40.8±0.00	S	99.0±0.00	41.8±0.00	0.25968±0.00	21.3±0.00	HS
653,816	acl	36.7±6.00	30.2±0.43	0.06632±0.00	43.7±1.59	S	99.0±0.00	62.1±0.00	0.26535±0.00	16.2±0.00	HS
653,825	acl	80.0±0.00	48.1±0.00	0.13742±0.00	28.2±0.00	S	99.0±0.00	50.2±7.99	0.23664±0.02	20.2±2.33	HS
653,826	acl	33.3±6.00	15.2±0.43	0.07199±0.00	52.8±1.81	MR	85.0±0.00	46.2±1.46	0.14985±0.00	25.3±0.19	S
653,827	acl	60.0±0.00	31.6±0.00	0.09878±±0.00	36.5±0.00	S	89.7±8.00	53.2±3.48	0.14778±0.04	21.5±2.18	HS
631,193	acl	76.7±6.00	27.3±1.29	0.10715±0.01	36.7±1.55	S	99.0±0.00	44.8±7.71	0.25481±0.00	20.4±1.37	HS
658,586	acl	60.0±0.00	36.5±0.00	0.08963±0.00	35.0±0.00	S	99.0±0.00	71.5±2.86	0.19884±0.02	14.3±1.06	HS
631,194	acl	80.0±0.00	37.7±0.00	0.11978±0.00	31.8±0.00	S	94.3±8.00	37.3±6.51	0.22816±0.05	25.1±4.05	HS
631,195	acl	90.0±0.00	26.2±0.00	0.13554±0.00	34.8±0.00	HS	85.0±0.00	30.6±1.81	0.16243±0.00	29.0±0.83	S
631,218	acl	70.0±20.0	28.2±2.98	0.11862±0.02	36.6±3.68	S	89.7±8	53.1±4.99	0.17942±0.04	22.4±2.82	HS
653,786	acl	90.0±0.00	55.8±0.00	0.14980±0.00	24.0±0.00	HS	99.0±0.00	57.9±0.00	0.24550±0.00	18.1±0.00	HS
653,787	acl	93.0±5.00	62.3±0.39	0.15021±0.02	21.0±0.79	HS	99.0±0.00	51.2±1.08	0.26220±0.00	19.2±0.4	HS
653,788	acl	97.7±2.00	58.5±0.52	0.19726±0.02	20.7±1.01	HS	99.0±0.00	40.9±0.00	0.23001±0.00	22.7±0.00	HS
631,198	alb	60.0±10.0	36.5±0.74	0.08980±0.01	35.0±1.33	S	99.0±0.00	51.4±1.96	0.24861±0.01	18.6±0.35	HS
631,199	alb	70.0±10.0	31.2±2.23	0.11328±0.01	35.5±2.16	S	65.0±0.00	24.7±4.21	0.13483±0.01	33.2±2.06	S
653,801	ber	60.0±0.00	37.4±0.00	0.09294±0.00	34.5±0.00	S	99.0±0.00	46.7±1.29	0.23564±0.00	20.8±0.22	HS
653,802	ber	48.3±3.00	19.3±0.99	0.09156±0.00	44.6±1.25	S	95.0±0.00	40.9±0.54	0.20175±0.00	24.3±0.24	HS
653,829	ber	30.0±0.00	16.7±0.00	0.07976±0.00	49.8±0.00	MR	10.0±0.00	3.6±0.43	0.06101±0.01	79.3±3.26	R
208,562	brc	100±0.00	87.5±0.00	0.13821±0.00	1.0±0.00	HS	99.0±0.00	48.8±0.03	0.27663±0.01	19.3±0.03	HS
473,378	brc	70.0±0.00	51.5±0.00	0.09945±0.00	27.7±0.00	S	99.0±0.00	60.9±2.20	0.25516±0.00	17.2±0.51	HS
631,209	brc	21.7±3.00	6.8±0.64	0.05564±0.00	75.6±5.19	MR	5.0±0.00	8.0±0.12	0.03137±0.01	117.5±19.57	R
631,210	brc	60.0±0.00	33.6±0.00	0.10263±0.00	35.8±0.00	S	99.0±0.00	62.5±8.80	0.24187±0.01	16.8±1.90	HS
653,800	brc	99.0±0.00	66.9±0.00	0.21423±0.00	16.6±0.00	HS	99.0±0.00	67.2±0.57	0.24053±0.01	15.0±0.29	HS
653,809	brc	99.0±0.00	75.5±0.00	0.18966±0.00	13.3±0.00	HS	99.0±0.00	61.4±7.63	0.26046±0.00	16.8±1.48	HS
653,811	brc	90.0±0.00	53.0±0.00	0.12585±0.00	25.3±0.00	HS	99.0±0.00	65.0±6.21	0.25877±0.00	16.0±1.25	HS
653,817	brc	71.7±3.00	38.1±1.07	0.09777±0.00	33.0±0.93	S	45.0±0.00	38.2±8.51	0.11675±0.00	30.6±2.51	S
653,818	brc	100±0.00	54.0±0.43	0.16988±0.00	22.5±0.31	HS	100±0.00	47.8±1.38	0.22099±0.00	21.1±0.25	HS
631,200	chc	100±0.00	65.3±4.48	0.18465±0.02	19.1±1.22	HS	100±0.00	58.9±4.52	0.26293±0.01	17.2±0.83	HS
631,202	chc	100±0.00	75.5±0.00	0.18966±0.00	13.3±0.00	HS	100±0.00	57.7±4.79	0.26692±0.01	17.1±0.26	HS
631,203	chc	100±0.00	80.1±0.00	0.17317±0.00	9.2±0.00	HS	100±0.00	55.5±4.19	0.25963±0.00	17.9±0.71	HS
631,204	chc	80.0±0.00	55.9±0.00	0.09822±0.00	25.7±0.00	S	100±0.00	55.2±3.29	0.25753±0.01	18.2±0.50	HS
631,205	chc	100±0.00	66.0±0.00	0.15596±0.00	19.3±0.00	HS	100±0.00	63.9±3.28	0.23688±0.00	15.5±0.46	HS
631,207	chc	100±0.00	84.9±0.00	0.16208±0.00	7.0±0.00	HS	100±0.00	58.5±4.24	0.26685±0.01	17.0±0.24	HS
631,208	chc	100±0.00	87.5±0.00	0.13821±0.00	1.0±0.00	HS	100±0.00	49.1±0.40	0.27355±0.50	19.1±0.50	HS

Table 3 (continued)

Accession No.	Species ^t	2019					2020				
		Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r_L^x	T ₅₀ ^y	Resistance Rating ^z	Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r_L^x	T ₅₀ ^y	Resistance Rating ^z
653,765	chc	100±0.00	68.4±0.00	0.15139±0.00	18.8±0.00	HS	100±0.00	49.5±0.00	0.27900±0.00	18.5±0.00	HS
653,766	chc	90.0±0.00	53.9±0.00	0.13057±0.00	24.9±0.00	HS	100±0.00	48.8±0.00	0.27082±0.00	19.3±0.00	HS
653,767	chc	100±0.00	70.6±0.00	0.16546±0.00	17.6±0.00	HS	100±0.00	48.7±0.00	0.26315±0.00	19.2±0.00	HS
653,768	chc	100±0.00	73.1±0.00	0.19342±0.00	13.5±0.00	HS	100±0.00	55.4±0.62	0.26457±0.01	17.6±0.35	HS
653,769	chc	100±0.00	66.2±0.00	0.20405±0.00	15.9±0.00	HS	100±0.00	46.1±5.45	0.25364±0.02	19.4±0.88	HS
653,781	chc	100±0.00	69.9±0.00	0.19637±0.00	16.4±0.00	HS	100±0.00	58.0±3.91	0.23894±0.02	17.3±0.88	HS
653,782	chc	100±0.00	68.0±0.00	0.19975±0.00	16.9±0.00	HS	100±0.00	61.4±11.91	0.24042±0.01	16.1±3.01	HS
653,783	chc	100±0.00	70.8±0.00	0.19705±0.00	14.7±0.00	HS	100±0.00	56.8±4.52	0.26509±0.00	17.5±1.08	HS
653,785	chc	96.0±5.00	62.3±5.24	0.15850±0.03	20.7±2.84	HS	100±0.00	56.0±8.09	0.25995±0.01	17.8±1.81	HS
653,792	chc	100±0.00	81.3±0.00	0.17809±0.00	11.4±0.00	HS	100±0.00	58.3±5.18	0.23711±0.02	17.3±1.30	HS
653,822	chc	55.0±0.05	37.2±3.59	0.08011±0.00	36.0±2.44	S	100±0.00	59.9±3.67	0.25927±0.00	17.3±0.56	HS
653,762	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.43	0.00000±0.01	NA ^s	R
653,770	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,772	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,773	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,774	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,776	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,779	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,789	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	35.0±0.00	15.9±0.43	0.11557±0.01	40.6±0.16	MR
653,803	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,804	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,805	dms	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
653,828	grr	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00000±0.00	NA ^s	R
631,201	juz	100±0.00	79.8±0.00	0.18118±0.00	11.6±0.00	HS	100±0.00	52.3±0.00	0.27046±0.00	18.8±0.00	HS
631,211	mcd	30.0±10.0	20.9±3.25	0.05294±0.01	57.5±7.33	MR	15.0±0.00	10.7±0.00	0.07983±0.00	52.6±0.00	R
631,212	mcd	40.0±0.00	30.22±0.00	0.07300±0.00	41.3±0.00	S	85.0±0.00	33.2±0.00	0.16898±0.00	28.2±0.00	S
653,799	mch	40.0±0.00	21.3±0.00	0.10382±0.00	43.3±0.00	S	85.0±0.00	27.0±1.52	0.15953±0.00	30.5±1.16	S
230,489	pnt	10.0±0.00	4.9±0.00	0.03496±0.00	112.6±0.00	R	35.0±0.00	18.2±0.00	0.11533±0.00	39.4±0.00	MR
275,230	pnt	30.0±5.00	8.7±1.12	0.08500±0.01	57.7±3.38	MR	41.7±12.0	14.6±6.39	0.10700±0.01	42.6±6.36	S
275,234	pnt	16.7±3.00	6.4±0.64	0.05119±0.01	81.1±6.65	MR	21.7±12.0	16.5±7.65	0.08550±0.02	47.5±9.82	MR
653,790	pnt	16.7±3.00	5.1±0.64	0.07171±0.01	71.4±4.15	MR	35.0±0.00	17.4±0.73	0.12167±0.03	40.2±1.14	MR
653,791	pnt	28.3±3.00	7.5±0.64	0.07931±0.00	61.6±2.48	MR	11.7±0.03	5.9±1.34	0.08030±0.01	62.4±5.69	R
653,808	pnt	40.0±10.00	10.4±1.55	0.07692±0.01	58.2±5.18	S	94.3±8.00	30.3±5.77	0.21150±0.04	27.5±4.39	HS
653,823	sto	80.0±0.00	17.2±0.00	0.13173±0.00	47.2±0.00	S	5.0±0.00	4.0±0.43	0.04524±0.01	96.1±5.77	R
653,824	sto	93.0±5.00	42.2±1.25	0.17431±0.02	28.9±1.92	HS	100±0.00	37.5±4.62	0.24317±0.00	23.5±1.65	HS
249,929	sto	100±0.00	53.8±0.00	0.22518±0.00	21.03±0.00	HS	100±0.00	45.2±3.48	0.24177±0.01	20.7±0.96	HS

Table 3 (continued)

Accession No.	Species ^t	2019					2020				
		Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r _L ^x	T ₅₀ ^y	Resistance Rating ^z	Dmax (%) ^u	sAUDPC ^v	r _L ^x	T ₅₀ ^y	Resistance Rating ^z
275,157	sto	51.7 ± 20.0	11.4 ± 3.73	0.11183 ± 0.02	52.5 ± 6.73	S	100 ± 0.00	42.7 ± 0.00	0.25944 ± 0.00	20.9 ± 0.00	HS
631,213	sto	90.0 ± 0.00	25.2 ± 0.00	0.16313 ± 0.00	37.1 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	47.7 ± 1.01	0.26682 ± 0.00	19.8 ± 0.39	HS
631,214	sto	76.7 ± 6.00	24.5 ± 1.29	0.14801 ± 0.01	38.7 ± 1.20	S	100 ± 0.00	39.3 ± 0.00	0.23941 ± 0.00	23.8 ± 0.00	HS
631,215	sto	55.0 ± 5.00	27.4 ± 0.37	0.09787 ± 0.00	38.9 ± 0.69	S	94.3 ± 8.00	30.8 ± 2.97	0.21472 ± 0.03	28.1 ± 3.33	HS
631,216	sto	40.0 ± 0.00	11.3 ± 0.00	0.10271 ± 0.00	51.4 ± 0.00	S	45.0 ± 17.0	21.8 ± 7.63	0.13483 ± 0.03	37.9 ± 4.55	S
631,217	sto	100 ± 0.00	41.0 ± 0.00	0.25540 ± 0.00	25.9 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	63.9 ± 0.00	0.26521 ± 0.00	16.0 ± 0.00	HS
653,763	sto	48.3 ± 0.03	14.8 ± 0.64	0.11485 ± 0.00	47.0 ± 0.84	S	68.7 ± 15.0	19.9 ± 7.10	0.14962 ± 0.02	36.7 ± 5.26	S
653,764	sto	90.0 ± 0.00	64.3 ± 0.00	0.13154 ± 0.00	21.0 ± 0.00	HS	85.0 ± 0.00	29.7 ± 1.72	0.16777 ± 0.01	29.5 ± 1.09	S
653,771	sto	90.0 ± 0.00	30.1 ± 0.74	0.16935 ± 0.00	35.1 ± 0.38	HS	100 ± 0.00	38.1 ± 2.14	0.23546 ± 0.00	24.0 ± 0.88	HS
653,775	sto	75.0 ± 5.00	36.7 ± 0.57	0.09804 ± 0.00	33.2 ± 0.35	S	89.7 ± 8.00	32.8 ± 7.29	0.19934 ± 0.04	28.5 ± 5.25	HS
653,777	sto	56.7 ± 6.00	21.2 ± 1.29	0.11516 ± 0.01	41.5 ± 1.40	S	85.0 ± 0.00	33.2 ± 3.87	0.16122 ± 0.04	28.1 ± 1.20	S
653,778	sto	36.7 ± 6.00	11.0 ± 1.29	0.09231 ± 0.01	52.9 ± 2.93	S	20.0 ± 0.00	13.0 ± 1.44	0.09385 ± 0.01	46.6 ± 0.50	MR
653,780	sto	90.0 ± 0.00	39.6 ± 0.00	0.16933 ± 0.00	31.1 ± 0.00	HS	66.3 ± 45.0	29.8 ± 16.24	0.17060 ± 0.05	30.4 ± 8.21	S
653,793	sto	100 ± 0.00	56.2 ± 0.00	0.23853 ± 0.00	21.6 ± 0.00	HS	94.3 ± 8.00	28.2 ± 3.96	0.21896 ± 0.04	28.3 ± 4.54	HS
653,794	sto	33.3 ± 3.00	8.5 ± 0.94	0.09738 ± 0.00	57.6 ± 2.02	MR	15.0 ± 0.00	7.5 ± 0.00	0.09001 ± 0.00	55.9 ± 0.00	R
653,795	sto	74.7 ± 0.25	55.6 ± 16.19	0.11691 ± 0.07	25.8 ± 10.64	S	100 ± 0.00	47.4 ± 2.24	0.26769 ± 0.00	19.9 ± 0.86	HS
653,796	sto	94.7 ± 5.00	63.8 ± 3.37	0.16567 ± 0.03	19.3 ± 3.37	HS	100 ± 0.00	42.2 ± 2.02	0.27078 ± 0.00	21.9 ± 0.38	HS
653,797	sto	100 ± 0.00	87.5 ± 0.00	0.13821 ± 0.00	1.0 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	47.3 ± 0.43	0.28556 ± 0.01	19.6 ± 0.46	HS
653,798	sto	100 ± 0.00	58.0 ± 0.00	0.21037 ± 0.00	19.4 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	46.6 ± 2.14	0.27525 ± 0.00	20.5 ± 1.07	HS
653,806	sto	100 ± 0.00	51.6 ± 0.00	0.19774 ± 0.00	23.4 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	57.7 ± 4.79	0.26692 ± 0.01	17.1 ± 0.26	HS
653,807	sto	90.0 ± 0.00	31.1 ± 0.00	0.17518 ± 0.00	36.1 ± 0.00	HS	100 ± 0.00	47.7 ± 1.28	0.27712 ± 0.01	20.1 ± 0.72	HS
653,784	ver	45.0 ± 5.00	9.4 ± 0.99	0.10407 ± 0.00	54.8 ± 1.81	S	100 ± 0.00	33.2 ± 0.00	0.23351 ± 0.00	25.2 ± 0.00	HS
473,306	vm	65.0 ± 5.00	38.5 ± 0.37	0.09859 ± 0.00	33.1 ± 0.58	S	100 ± 0.00	36.2 ± 1.95	0.24382 ± 0.00	24.2 ± 0.08	HS
cv. Agatha	tub	100 ± 0.00	64.8 ± 0.43	0.17176 ± 0.00	19.4 ± 0.24	HS	100 ± 0.00	51.0 ± 1.34	0.20956 ± 0.01	19.2 ± 0.62	HS

^sNo applicable (NA) =not determined due to lack of disease symptoms development

^tWild potato species evaluated: acl=*Solanum acaule*; alb=*S. albicans*; ber=*Solanum berthaultii*; brc=*Solanum brevicaulle*; chc=*Solanum chacoense*; dem=*S. demissum*; grr=*Solanum guerreroense*; juz=*Solanum juzepczukii*; mcd=*Solanum microdontum*; mch=*S. michoacanum*; pnt=*Solanum pinnatisectum*; sto=*S. stoloniferum*; ver=*S. verrucosum*; vm=*Solanum vernei*; tub=*S. tuberosum*

^uMaximum disease severity reached at the end of the epidemic. Means ± standard deviation for three replications

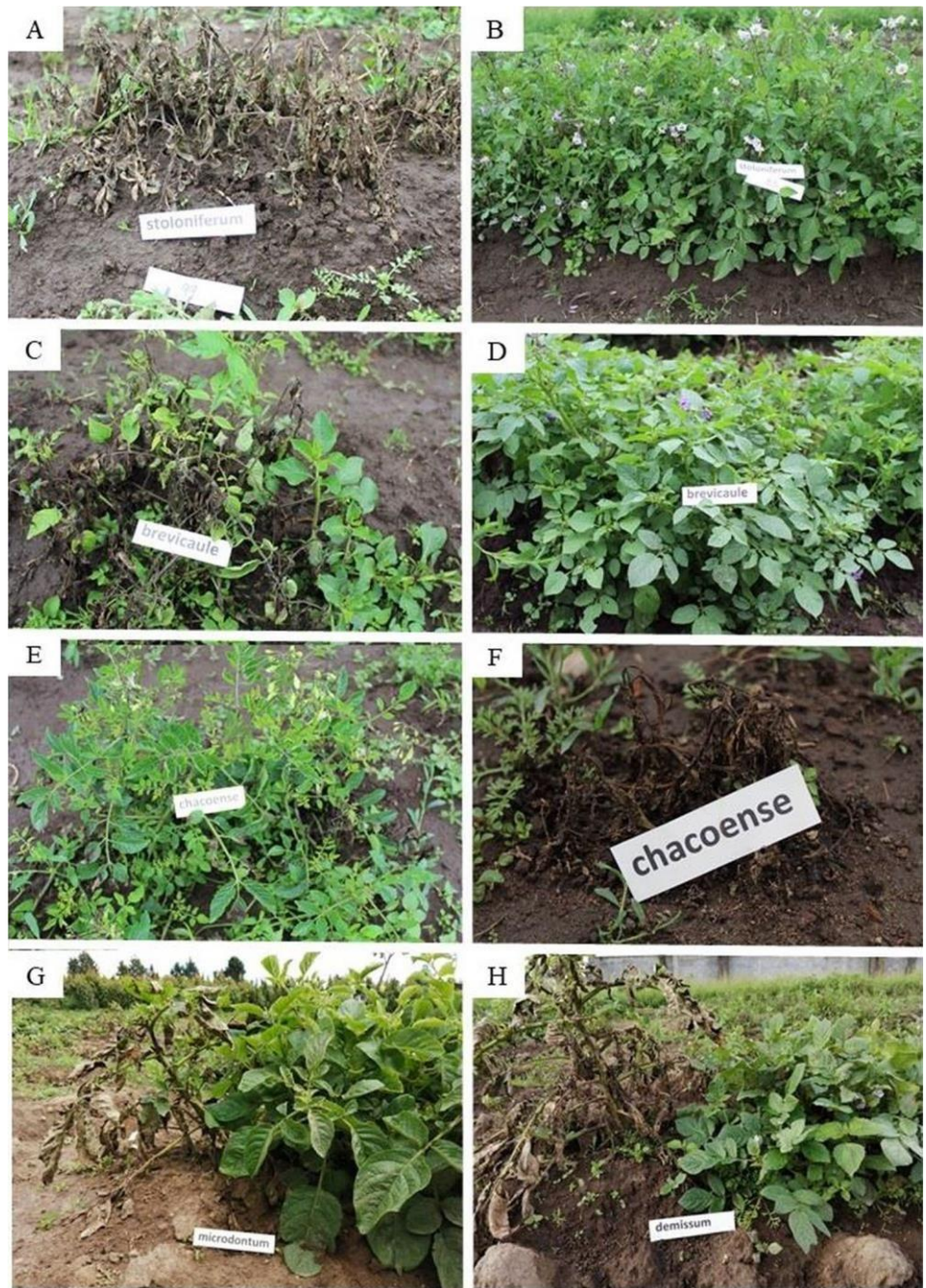
^vStandardized Area Under Disease Progress Curve, obtained dividing AUDPC value by the time lapse between the first and last disease rating for each accession. Means ± standard deviation for three replications

^xDisease rate measure in logit/day, obtained by logit transforming Late Blight disease severity $\ln[y/(1-y)]$ and by regressing on time duration of the epidemic. Means ± standard deviation for three replications

^yNumber of days for the Late Blight disease to reach 50% severity for each accession calculated using the formula $t_{50} = [\ln(y_{50}/(1-y_{50})) - \ln(y_0/(1-y_0))]/r_L$. Means ± standard deviation for three replications

^zPlants between 35.1-85% severity were considered Highly Susceptible (HS), between 35.1-85% susceptible (S), 15.1-35% moderately resistant (MR) and plants with values between 0 and 15% were considered resistant (R)

Fig. 2 Unstable resistance/susceptibility within one growing cycle: **a, b**, *S. stoloniferum*; **c, d**, *Solanum brevicaule*; **e, f**, *Solanum chacoense*; **g**, left, *S. tuberosum*, right, *Solanum microdontum*; **h**, left, *S. tuberosum*, right, *S. demissum*



could have a high value in mapping this type of resistance and finding new markers of resistance to late blight.

The results of this study are expected to provide a guide for selecting prospective germplasm. However, the resistance reaction to late blight should be repeatedly verified, due to changes in *P. infestans* populations (Elansky et al. 2007). In addition, molecular markers could be used to identify resistance genes, including a more accurate selection of sources of resistance (Tiwari et al. 2013). For instance,

markers have already been used to identify RB gene-like counterpart genes in several resistant genotypes of different wild species of potato (Karki et al. 2020; Tiwari et al. 2015; Pankin et al. 2011). In our study we identified valuable *Solanum* genetic variability to be considered in breeding programs, and it opens the possibility for future studies on detection of candidate resistance genes in several wild species.

Table 4 Reports on late blight resistance in wild *Solanum species*

Wild potatoes - Resistance source	Reference
<i>S. acaule</i> , <i>S. albicans</i> , <i>Solanum berthaultii</i> , <i>Solanum boliviense</i> , <i>Solanum brevicaulum</i> , <i>Solanum bulbocastanum</i> , <i>Solanum cardiophyllum</i> , <i>Solanum chacoense</i> , <i>Solanum chomatophilum</i> , <i>S. demissum</i> , <i>Solanum ehrenbergii</i> , <i>Solanum guerreroense</i> , <i>S. hjertum</i> , <i>S. Solanum S. jacoense</i> , <i>Solanum hjertingii</i> , <i>Solanum microdontum</i> , <i>Solanum okadae</i> , <i>Solanum oxycarpum</i> , <i>Solanum pinnatisectum</i> , <i>Solanum polyadenium</i> , <i>Solanum stenophyllidium</i> , <i>S. stoloniferum</i> , <i>S. trifidum</i> , <i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigenum</i> , <i>Solanum vernei</i> , <i>S. verrucosum</i> .	USDA Germplasm Resources Information Network (GRIN) database (https://www.ars-grin.gov/)
Eighty out of 133 accessions presented quantitative resistance patterns. Eighteen species from Central and South America showed both qualitative and quantitative resistance responses, whereas accessions of four Mexican and two South American species included qualitative resistance only.	Pérez et al. (2000)
High frequency (63%) of accessions resistant to late blight in <i>S. chacoense</i> and, to a lesser extent, in <i>S. commersonii</i> (52%) and <i>S. microdontum</i> (one accession) in greenhouse and field.	Micheletto et al. (2000)
Ten resistant accessions of <i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigenum</i> and <i>S. tuberosum</i> from a collection of 270 accessions.	Gopal and Singh (2003)
High levels of leaf resistance in <i>S. antipovichii</i> , <i>S. cardiophyllum</i> , <i>S. demissum</i> , <i>S. guerreroense</i> , <i>S. neoantipovichii</i> , <i>S. papita</i> , <i>S. pinnatisectum</i> , <i>S. polytrichon</i> , <i>S. stoloniferum</i> , and <i>S. verrucosum</i> , <i>S. berthaultii</i> , <i>S. microdontum</i> , <i>S. ruiz-ceballosii</i> , <i>S. simplicifolium</i> and <i>S. vernei</i> .	Zoteyeva et al. (2012)
Phenotypic variation within and between species, in terms of resistance to late blight in 34 accessions of wild potato species and found foliar resistance to late blight in accessions of <i>S. albicans</i> , <i>S. brevicaulum</i> , <i>S. bulbocastanum</i> , <i>Solanum lesteri</i> , <i>S. jamesii</i> , <i>Solanum immite</i> , <i>S. microdontum</i> , <i>S. pinnatisectum</i> , <i>S. polyadenium</i> and <i>S. demissum</i> .	Khiutti et al. (2015)
Identified 68 highly resistant accessions and 311 moderately resistant accessions to tuber blight from a collection of 1055 accessions in <i>S. acaule</i> , <i>S. bulbocastanum</i> , <i>S. demissum</i> , <i>S. fendleri</i> , <i>S. megistacrolobum</i> , <i>S. polytrichon</i> , <i>S. jamesii</i> , <i>S. trifidum</i> , and <i>Solanum tarnii</i> .	Bachmann-Pfabe et al. (2019)
Reported 68 foliar late blight resistant genotypes out of 384 accessions of species where no resistance had previously been reported (<i>Solanum albornozi</i> , <i>Solanum agrimoniifolium</i> , <i>S. chomatophilum</i> , <i>S. ehrenbergii</i> , <i>Solanum hypacarthrum</i> , <i>Solanum iopetalum</i> , <i>S. palustre</i> , <i>Solanum piurrae</i> , <i>Solanum morelliforme</i> , <i>Solanum neocardenasii</i> , <i>S. trifidum</i> and <i>S. stipuloideum</i>), confirming RB-like genes are present in the screened accessions of different species.	Karki et al. (2020)

Acknowledgments Partial financial support was received from Special Projects in International Programs, Department of Global Development, School of Integrative Plant Science, Plant Breeding and Genetics Section, Cornell University, Ithaca, NY, USA. The authors also acknowledge and thank the Mexican National Council of Science and Technology (CONACYT), the US Potato Genebank-NRSP-6, Suturgeon Bay, WI, and the State of México Agricultural Research and Training Institute (ICAMEX), for supporting this research as part of the first author's Ph.D. dissertation.

Declarations

Conflict of Interest The authors declare no conflict of interest.

References

- Alfaro, R.C. 1995. Por los caminos evolutivos de la papa silvestre y cultivada. *Ciencia & Desarrollo* 1: 86–91.
- Bachmann-Pfabe, S., T. Hammann, J. Kruse, and K.J. Dehmer. 2019. Screening of wild potato genetic resources for combined resistance to late blight on tubers and pale potato cyst nematodes. *Euphytica* 215 (3): 1–15.
- Belmar-Díaz, C.R., and H. Lozoya-Saldaña. 2013. Incidencia de razas fisiológicas y genotipos de *Phytophthora infestans* en el valle de Toluca, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 19 (2): 173–181.
- Busse, J.S., S.H. Jansky, H.I. Agha, C.A. Schmitz Carley, L.M. Shannon, and P.C. Bethke. 2021. A high throughput method for generating Dihaploids from tetraploid potato. *American Journal of Potato Research*: 1–11.
- Carstensen, B., M. Plummer, E. Laara, and M. Hills. (2021). Epi: A package for statistical analysis in epidemiology. R package version 2.43, <https://CRAN.R-project.org/package=Epi>. Accessed 21 Aug 2021.
- Champouret, N., K. Bouwmeester, H. Rietman, T. van der Lee, C. Maliepaard, A. Heupink, and V.G. Vleeshouwers. 2009. Phytophthora infestans isolates lacking class I ipiO variants are virulent on Rpi-blb1 potato. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22 (12): 1535–1545.
- Danan, S., J.B. Veyrieras, and V. Lefebvre. 2011. Construction of a potato consensus map and QTL meta-analysis offer new insights into the genetic architecture of late blight resistance and plant maturity traits. *BMC Plant Biology* 11 (1): 1–17.
- Deahl, K.L., M.E. Gallegly, and R.J. Young. 1974. Laboratory testing of potato tubers for multigenic resistance to late blight. *American Potato Journal* 51 (10): 324–329.
- Díaz de la Cruz, J.B., H. Lozoya-Saldaña, J. Sahagún-Castellanos, and A. Peña-Lomelí. 2014. The Pathosystem *Solanum tuberosum* L.-*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Chapingo, Mexico. Expected, Observed, and Simulated. *American Journal of Potato Research* 91 (3): 312–326.

- Elansky, S., V.P. Apryshko, D.I. Milyutina, and B.E. Kozlovsky. 2007. Resistance of Russian strains of *Phytophthora infestans* to fungicides metalaxyl and dimethomorph. *Moscow University Biological Science Bulletin* 62 (1): 14–18.
- Fernández-Pavía, S.P., N.J. Grünwald, and W.E. Fry. 2002. Formation of *Phytophthora infestans* oospores in nature on tubers in Central Mexico. *Plant Disease* 86 (1): 73–73.
- Fernández-Pavía, S.P., N.J. Grünwald, M. Diaz-Valasis, M. Cadena-Hinojosa, and W.E. Fry. 2004. Soilborne oospores of *Phytophthora infestans* in Central Mexico survive winter fallow and infect potato plants in the field. *Plant Disease* 88 (1): 29–33.
- Flier, W.G., N.J. Grünwald, L.P. Kroon, A.K. Sturbaum, T.B. van den Bosch, E. Garay-Serrano, and L.J. Turkensteen. 2003. The population structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca Valley of Central Mexico suggests genetic differentiation between populations from cultivated potato and wild *Solanum* spp. *Phytopathology* 93 (4): 382–390.
- Flores-Crespo, R. (1969). Taxonomía, distribución y potencial de los *Solanum* tuberosos silvestres de México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SAG. *Folleto Misceláneo* no. 20. México.
- Fry, W.E. 1978. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology* 68 (11): 1650–1655.
- Fry, W.E., P.R.J. Birch, H.S. Judelson, N.J. Grünwald, G. Danies, K.L. Everts, and C.D. Smart. 2015a. Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology* 105 (7): 966–981.
- Fry, B., G. Danies, I. Small, and K. Myers. (2015b). Recent developments concerning the population biology and control strategies of *Phytophthora infestans* in the USA. *PPO-Special Report* no. 17, 45.
- Ghislain, M., A.A. Byarugaba, E. Magembe, A. Njoroge, C. Rivera, M.L. Román, and A. Kiggundu. 2019. Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races. *Plant Biotechnology Journal* 17 (6): 1119–1129.
- Goodwin, S. B., L.J. Spielman, J. M. Matuszak, S. N. Bergeron, and W. E. Fry. (1992). Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and Central Mexico. *Phytopathology* (USA).
- Gopal, J., and B.P. Singh. 2003. Screening potatoes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) under field conditions. *Potato Research* 46 (1-2): 47–56.
- Grønbech, J., B. Andersson, L. Sjöholm, E. Liljeroth, E. Edin, R. Bain, and P. Vanhaverbeke. (2015). Epidemics and control of early and late blight, 2013 and 2014 in Europe. In: *Proceedings of the fifteenth EuroBlight workshop, Brasov, Romania, 13-15 May 2015/Ed. HTAM Schepers*. Applied Plant Research, Wageningen UR.
- Grünwald, N.J. 2020. Using genomic approaches to inform management of emerging plant pathogens. *Revista Mexicana de Fitopatología* 38: S8 Supplement 2020.
- Grünwald, N.J., and W.G. Flier. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology* 43: 171–190.
- Grünwald, N.J., W.G. Flier, A.K. Sturbaum, E. Garay-Serrano, T.B. van den Bosch, C.D. Smart, and W.E. Fry. 2001. Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca valley region of Central Mexico. *Phytopathology* 91 (9): 882–890.
- Haesaert, G., J.H. Vossen, R. Custers, M. De Loose, A. Haverkort, B. Heremans, and G. Gheysen. 2015. Transformation of the potato variety Desiree with single or multiple resistance genes increases resistance to late blight under field conditions. *Crop Protection* 77: 163–175.
- Haverkort, A.J., P.M. Boonekamp, R. Hutten, E. Jacobsen, L.A.P. Lotz, G.J.T. Kessel, and E.A.G. Van der Vossen. 2008. Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research* 51 (1): 47–57.
- Haverkort, A.J., P.M. Boonekamp, R. Hutten, E. Jacobsen, L.A.P. Lotz, G.J.T. Kessel, and R.G.F. Visser. 2016. Durable late blight resistance in potato through dynamic varieties obtained by cisgenesis: Scientific and societal advances in the DuRPh project. *Potato Research* 59 (1): 35–66.
- Henfling, J.W. (1987). El tizón tardío de la papa: *Phytophthora infestans*. II Edición. *Boletín de Información Técnica* no. 4. CIP. Lima, Perú.
- Hougas, R.W., and S.J. Peloquin. 1958. The potential of potato haploids in breeding and genetic research. *American Journal of Potato* 35: 701–707.
- Huang, S., V.G. Vleeshouwers, R.G. Visser, and E. Jacobsen. 2005. An accurate in vitro assay for high-throughput disease testing of *Phytophthora infestans* in potato. *Plant Disease* 89 (12): 1263–1267.
- Karki, H.S., S.H. Jansky, and D.A. Halterman. 2020. Screening of wild potatoes identifies new sources of late blight resistance. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1367-RE>.
- Khiutti, A.L.E.X., D.M. Spooner, S.H. Jansky, and D.A. Halterman. 2015. Testing taxonomic predictivity of foliar and tuber resistance to *Phytophthora infestans* in wild relatives of potato. *Phytopathology* 105 (9): 1198–1205.
- Lal, M., S.K. Luthra, B.P. Singh, and S. Yadav. 2013. Screening of genotypes against potato late blight. *Potato Journal* 40 (1): 80–83.
- Lindqvist-Kreuzer, H., S. Gamboa, M. Izarra, W. Pérez, M.Y. Correa, A. Astete, and P. Gonzáles. 2020. Population structure and host range of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in Peru spanning two decades. *Plant Pathology* 69 (2): 334–346.
- Lozoya-Saldaña, H. 2005. Importancia Internacional del Valle de Toluca, México, en Estudios Sobre el Tizón Tardío de la Papa (*Solanum tuberosum* L.), Causado Por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23 (3):312–319.
- Lozoya-Saldana, H. 2011. Evolution of vertical and horizontal resistance and its application in breeding resistance to potato late blight. *Potato Journal* 38 (1): 1–8.
- Lozoya-Saldaña, H., and A. Hernández-Vilchis. 2001. Postharvest decay of potato tubers in moist chamber and in two types of soil. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19 (2): 140–146.
- Lozoya-Saldaña, H., M.H. Coyote-Palma, R. Ferrera-Cerrato, and M.E. Lara-Hernández. 2006. Antagonismo microbiano contra *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Agrociencia* 40 (4): 491–499.
- Micheletto, S., R. Boland, and M. Huarte. 2000. Argentinian wild diploid *Solanum* species as sources of quantitative late blight resistance. *Theoretical and Applied Genetics* 101 (5-6): 902–906.
- Pankin, A.A., E.A. Sokolova, E.V. Rogozina, M.A. Kuznetsova, K.L. Deahl, R.W. Jones, and E.E. Khavkin. 2010. Searching among wild *Solanum* species for homologues of RB/Rpi-blb1 gene conferring durable late blight resistance. *PPO-Special Report* 14: 277–284.
- Pankin, A., E. Sokolova, E. Rogozina, M. Kuznetsova, K. Deahl, R. Jones, and E. Khavkin. 2011. Allele mining in the gene pool of wild *Solanum* species for homologues of late blight resistance gene RB/Rpi-blb1. *Plant Genetic Resources* 9 (2): 305–308.
- Pérez, W., A. Salas, R. Raymundo, Z. Huaman, R. Nelson, and M. Bonierbale. (2000). Evaluation of wild potato species for resistance to late blight. *Scientist and farmer, Partners in Research for the 21st century*, Program Report 1999–2000, 49–62.
- Rakosy-Tican, E., R. Thieme, J. König, M. Nachtigall, T. Hammann, T.E. Denes, and M. Molnár-Láng. 2020. Introgression of two broad-spectrum late blight resistance genes, Rpi-Blb1 and Rpi-Blb3, from *Solanum bulbocastanum* dun plus race-specific R genes into potato pre-breeding lines. *Frontiers in Plant Science* 11: 699.

- Raman, K.V., N.J. Grünwald, and W.E. Fry. 2000. Promoting international collaboration for potato late blight disease management. *Pesticide Outlook* 11 (5): 181–185.
- Robledo-Esqueda, M.N., H. Lozoya-Saldaña, and M.T. Colinas-León. 2012. Inducción de defensa en papa (*Solanum tuberosum* L.) contra *Phytophthora infestans* Mont. de bar y por fungicidas. *Inter-ciencia* 37 (9): 689–695.
- Romero-Montes, G., H. Lozoya-Saldaña, G. Mora-Aguilera, S. Fernández-Pavía, and N.J. Grünwald. 2012. Rendimiento de papa en función de epidemia por tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary). *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (1): 69–78.
- Santa, J.D., J. Berdugo-Cely, L. Cely-Pardo, M. Soto-Suárez, T. Mosquera, and C. H. Galeano M. 2018. QTL analysis reveals quantitative resistant loci for *Phytophthora infestans* and *Tecia solanivora* in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *PLoS One* 13 (7): e0199716.
- Shakya, S.K., M.M. Larsen, M.M. Cuenca-Condoy, H. Lozoya-Saldaña, and N.J. Grünwald. 2018. Variation in genetic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Mexico from the center of origin outwards. *Plant Disease* 102 (8): 1534–1540.
- Shanner, G., and R.E. Finney. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1057–1066.
- Sieber, K., G. M. Forster, A. Berger, T. Hammann, A. Kellermann, and A. Schwarzfischer, 2015. Assessment of genetic hotspots for *Phytophthora* resistance and their use as molecular markers in potato breeding. *PPO-Special Report* no. 17, 57.
- Song, J., J.M. Bradeen, S.K. Naess, J.A. Raasch, S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, and J. Jiang. 2003. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (16): 9128–9133.
- Spooner, D.M., S. Jansky, F. Rodríguez, R. Simon, M. Ames, D. Fajardo, and R.O. Castillo. 2019. Taxonomy of wild potatoes in northern South America (*Solanum* section Petota). *Systematic Botany Monographs* 108: 1–305.
- Tiwari, J.K., S. Siddappa, B.P. Singh, S.K. Kaushik, S.K. Chakrabarti, V. Bhardwaj, and P. Chandel. 2013. Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: An update. *Plant Breeding* 132 (3): 237–245.
- Tiwari, J.K., S. Devi, S. Sharma, P. Chandel, S. Rawat, and S., and B. P. Singh. 2015. Allele mining in *Solanum* germplasm: Cloning and characterization of RB-homologous gene fragments from late blight resistant wild potato species. *Plant Molecular Biology Reporter* 33 (5): 1584–1598.
- Turner, R.S. 2005. After the famine: Plant pathology, *Phytophthora infestans*, and the late blight of potatoes, 1845–1960. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences* 35 (2): 341–370.
- Vanderplank, J.E. 1982. *Host-pathogen interactions in plant disease*, 143–177. New York: Elsevier.
- Vleeshouwers, V.G., H. Rietman, P. Krenek, N. Champouret, C. Young, S.K. Oh, and E.A. Van der Vossen. 2008. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. *PLoS One* 3 (8): e2875.
- Vossen, J.H., G. van Arkel, M. Bergervoet, K.R. Jo, E. Jacobsen, and R.G. Visser. 2016. The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is an Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theoretical and Applied Genetics* 129 (9): 1785–1796.
- Wang, M., S. Allefs, R.G. van den Berg, V.G. Vleeshouwers, E.A. van der Vossen, and B. Vosman. 2008. Allele mining in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics* 116 (7): 933–943.
- Wang, J., S.P. Fernández-Pavía, M.M. Larsen, E. Garay-Serrano, R. Gregorio-Cipriano, G. Rodríguez-Alvarado, N.J. Grünwald, and E.M. Goss. 2017. High levels of diversity and population structure in the potato late blight pathogen at the Mexico Centre of origin. *Molecular Ecology* 26: 1091–1107. <https://doi.org/10.1111/mec.14000>.
- Wastie, R.L. 1991. Breeding for resistance. In *Advances in plant pathology 7: Phytophthora infestans, the cause of late blight of potato*, ed. D.S. Ingram and P.H. Williams, 193–223. New York: Academic Press.
- Whitworth, J.L., R.G. Novy, J.J. Pavec, D.L. Corsini, H. Lozoya-Saldaña, S. Yilma, A.R. Mosley, and I.M. Vales. 2007. Multiple site identification of potato parent clones conferring high levels of late blight resistance with a corresponding genetic model for resistance. *American Journal of Potato Research* 84 (4): 313–321.
- Zoteyeva, N.M. 2020. Late blight resistance of wild potato species under field conditions in the northwest of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding* 180 (4): 159–169.
- Zoteyeva, N., M. Chrzanowska, B. Flis, and E. Zimnoch-Guzowska. 2012. Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of NI Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *American Journal of Potato Research* 89 (4): 277–293.

**4. LA BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO EN PAPAS
SILVESTRES**

4. SEARCHING FOR LATE BLIGHT RESISTANCE IN WILD POTATOES

La búsqueda de resistencia al tizón tardío en papas silvestres

Searching for late blight resistance in wild potatoes

Guillermo Andrés Enciso-Maldonado^{1*}, Héctor Lozoya-Saldaña¹, Gabriela Díaz-García², Alfredo López-Salazar² ¹Universidad Autónoma Chapingo. Instituto de Horticultura. Carretera México- Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230 ²Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Carretera México- Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230, México.
*Autor de correspondencia: gui77eenciso@gmail.com.

Recibido: 14 setiembre 2021

Aceptado: 18 noviembre 2021

Recibido en versión modificada: 18 noviembre 2021

Enciso-Maldonado, G. A., Lozoya-Saldaña, H., Díaz-García, G. & López-Salazar, A. (2021). La búsqueda de resistencia al tizón tardío en papas silvestres. *Investigaciones y Estudios – UNA*, 12 (2), 36-47.
<https://doi.org/10.47133/IEUNA2124b>

Resumen. La papa (*Solanum tuberosum* L.) es la hortaliza más cultivada en el mundo. El principal factor limitante a nivel mundial es el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), causando hasta pérdidas totales de producción. Una parte importante del mejoramiento genético de la papa se centra en la obtención de cultivares resistentes a esta enfermedad. Sin embargo, el patógeno es capaz de producir descendencias a partir de la reproducción sexual, generando nuevas cepas más virulentas, capaces de vencer la resistencia genética en nuevos cultivares. Por mucho tiempo, los genes de resistencia vertical de *Solanum demissum* han sido utilizados para la obtención de variedades resistentes, pero con éxito limitado debido a que son raza-específicos y porque el patógeno sobrepasa la inmunidad en poco tiempo. Actualmente existe un interés en el aprovechamiento de genes de

resistencia horizontal o cuantitativa de diversas especies silvestres de *Solanum*, las cuales son difíciles de introducir a través de cruzamientos debido a la incompatibilidad de ploidías y al número de balance del endospermo (NBE). No obstante, algunas técnicas como la hibridación somática, la minería de alelos y el mejoramiento asistido por marcadores genéticos han permitido vencer estas barreras. De aquí la importancia de explorar e identificar nuevos genes de resistencia en las papas silvestres.

Palabras clave. *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, recursos fitogenéticos.

Abstract. Potatoes (*Solanum tuberosum* L.) are the most cultivated vegetables in the world. The main limiting factor worldwide is late blight, a disease caused by the oomycete *Phytophthora infestans*, causing up even total production losses. An important part of potato genetic improvement focuses on obtaining cultivars resistant to this disease. However, the pathogen can produce offspring from sexual reproduction, generating new

strains that are more virulent, resistant to fungicides and that allow it to overcome genetic resistance in new cultivars. For a long time, the vertical resistance genes of *Solanum demissum* were used to obtain resistant varieties, but their success have been limited by being race-specific and of short-term duration. Currently there is an interest in horizontal or quantitative resistance genes of various wild species of *Solanum*, which are difficult to introduce due to ploidy incompatibility and to the Endosperm Balance Number (EBN). Nevertheless, techniques like somatic hybridization, allele mining and marker-assisted breeding have made possible to overcome those barriers. Hence the importance of exploring and identifying new resistance genes in wild species.

Keywords. *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, plant genetic resources.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*), originaria la zona andina de Perú, Bolivia y Chile, es la hortaliza más cultivada del mundo y el cuarto alimento más producido después del trigo, el maíz y el arroz. La producción mundial alcanza 370.436.581 toneladas en 17.340.986 hectáreas, que representa unos 80 billones de dólares (FAOSTAT, 2021). Por miles de años formó parte de la dieta humana y actualmente es un alimento básico para 1,3 mil millones de personas (Stokstad, 2019). En países desarrollados la ingesta de papas varía entre 50 y 150 g diarios, mientras que en los países en desarrollo varía entre 300 y 800 g diarios. Es una hortaliza rica en carbohidratos, proteínas, vitaminas C y B6, potasio y está recomendada para combatir la diabetes,

cáncer y enfermedades cardiovasculares (Burgos et al., 2020).

Para satisfacer la demanda mundial, la papa se ha introducido a nuevos y diversos suelos y climas (Stokstad, 2019). Los países desarrollados eran los mayores productores de papa, sin embargo, desde 2005 los países en desarrollo pasaron a ser los líderes de la producción mundial (Devaux et al., 2020).

El mejoramiento genético de la papa es fundamental para mejorar la producción y cubrir la demanda. Los mayores esfuerzos del mejoramiento se centran en la resistencia al tizón tardío. Esta enfermedad es la principal amenaza mundial de la papa y puede destruir campos enteros de producción (Grunwald & Flier, 2005). Su primera aparición fue en la década de 1840, devastando campos de papa en Irlanda, acontecimiento que terminó causando la muerte de un millón de personas y la migración de otros 1,5 millones (Haverkort et al., 2008). En años recientes se registraron epidemias en Estados Unidos y Canadá (Fry et al., 2015a), Europa (Schepers et al., 2015), Sudamérica (Lindqvist-Kreuzer et al., 2020), África y Asia (Fry et al., 2015b).

Durante más de 100 años se trabajó con cruzamientos intra e interespecíficos para la obtención de materiales resistentes al tizón tardío, pero logrando sólo éxitos temporales. El potencial genético de las papas silvestres (*Solanum* spp.) aún es desconocido, pero en ellas ya se identificaron genes de resistencia al tizón tardío (Zoteyeva, 2020; Zoteyeva et al., 2012). El interés actual consiste en utilizar genes de resistencia cuantitativa de papas silvestres.



Figura 1. Alegoría de la hambruna irlandesa (1845-1850). Desde la pérdida de las cosechas de papa por el tizón tardío (izquierda) hasta la migración hacia el resto del mundo (derecha), principalmente a Europa continental, Estados Unidos y Australia (Cortesía del Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA, A. C., México).

El objetivo de esta revisión es describir la importancia del tizón tardío a nivel internacional y los esfuerzos realizados en el mejoramiento genético para combatirlo dentro y fuera de México, dando énfasis a las papas silvestres como fuente de resistencia.

El infame *Phytophthora infestans*. El tizón tardío de la papa es causado por el hongo fitopatógeno *P. infestans* (Mont.) de Bary. Este patógeno ha sido calificado como “infame” por su papel en la hambruna irlandesa en la década de 1840 (Leesutthiphonchai et al., 2018), considerada la primera epidemia severa de plantas (Figura 1).

En ese entonces, la población irlandesa era altamente dependiente del monocultivo de papa y contaban con pocas variedades, lo que favoreció la emergencia de esta epidemia (Corredor-Moreno & Saunders, 2020).

P. infestans es un oomiceto, hemibiotrófico que

se reproduce asexual y sexualmente (Figura 2). En la fase asexual produce el esporangio, el cual se dispersa mediante el aire para alcanzar los órganos aéreos del hospedero, germina sobre ese tejido con temperaturas mayores a 21 °C (siendo la temperatura óptima 25 °C) en un periodo de entre 8 y 48 horas (Foolad et al., 2008). Con temperaturas menores a 21 °C los esporangios liberan zoosporas biflageladas que le permiten moverse en el agua de los tejidos o en el suelo. Cuando entran en contacto con el hospedero pierden los flagelos y enquistan para producir tubos germinativos que sirven para invadir el tejido (Leesutthiphonchai et al., 2018). La esporulación óptima ocurre con 90% de humedad relativa (HR) y 12 a 18 °C; una lesión produce hasta 300.000 esporangios por día (Fry & Goodwin, 1997) y el ciclo de vida termina en cuatro días. En esta fase, los esporangios no tienen mecanismos de

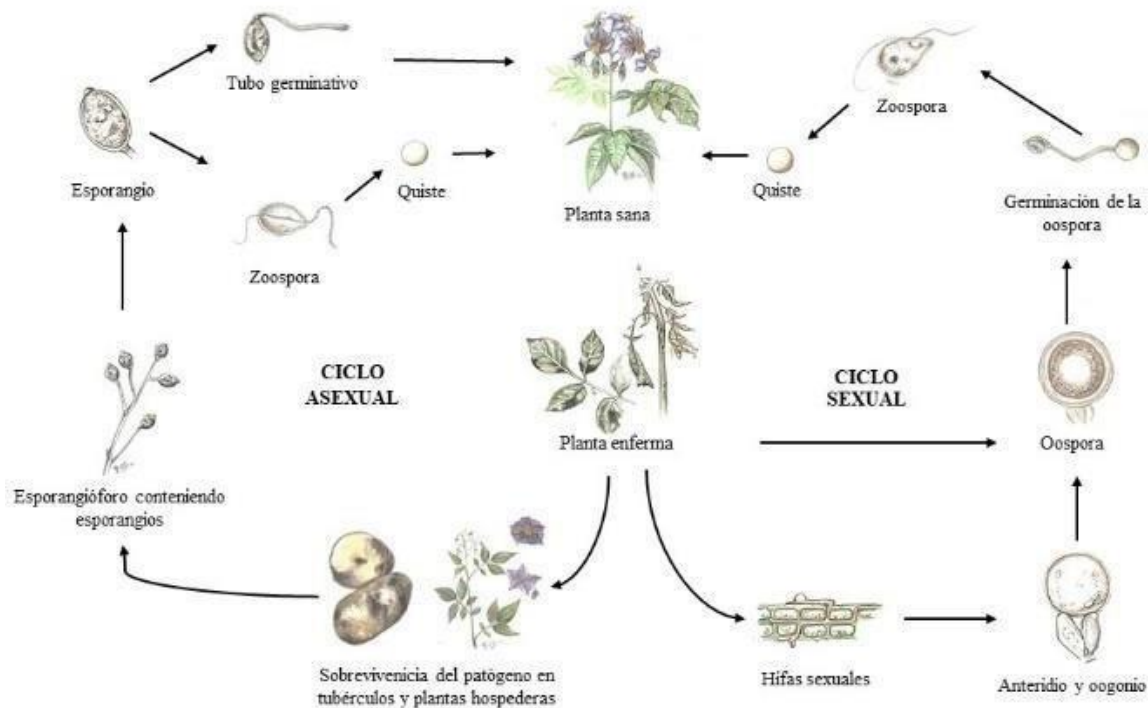


Figura 2. Ciclo de vida de *Phytophthora infestans*.

supervivencia en el largo plazo; para sobrevivir infectan tubérculos de papa, permitiendo la viabilidad del patógeno entre temporadas (Fry & Grünwald, 2010). Por otro lado, la reproducción sexual en *P. infestans* es un fenómeno complejo que implica el intercambio hormonal entre los talos de aislados con grupos de apareamiento distintos, los cuales son denominados A1 y A2 (Mabon et al., 2021; Qi et al., 2005). El intercambio hormonal estimula la diferenciación de anteridios y oogonios, estructuras que producen los gametos sexuales masculinos y femeninos, respectivamente, que cuando se recombinan se reproducen sexualmente y dan lugar a la formación de oosporas grandes, de paredes gruesas, que le permiten sobrevivir fuera del hospedero (en restos de cultivo o en el suelo), convirtiéndose en fuente de inóculo primario para iniciar nuevas infecciones en la siguiente temporada (Fernández-Pavía et al., 2004; Lozoya-Saldaña, 2005; Fry & Grünwald, 2010).

El centro de origen de *P. infestans* es el Valle de Toluca, ubicado en el altiplano mexicano y considerado el principal centro de diversidad del patógeno y el segundo mayor centro de diversidad de *Solanum* spp. (Grünwald & Flier, 2005). En el Valle, durante el verano, diariamente la temperatura oscila entre 10 y 25°C, la HR es superior al 90 % al menos por 10 horas durante varios días y existe alternancia de períodos luminosidad/nubosidad; condiciones que son óptimas para el desarrollo del tizón (Lozoya-Saldaña, 2005). Además, están presentes hospederos con diversos grados de susceptibilidad y los tipos de compatibilidad del patógeno A1 y A2 se encuentran en proporción 1:1, permitiendo que las poblaciones del patógeno sean derivadas sexualmente con alta recombinación y amplia diversidad genética (Flier et al., 2003).

Actualmente, *P. infestans* es considerado un patógeno re-emergente debido a que sus poblaciones varían constantemente en todo el

mundo, provocando la devastación de cultivos en lugares nuevos con una intensidad mayor en pocos días (Fry et al., 2015a; Vleeshouwers et al., 2011).

El éxito de este patógeno también se atribuye a su capacidad de sobrepasar la inmunidad del hospedero, a su esporulación profusa con un periodo latente corto que permite una rápida diseminación y una estructura del genoma que promueve su evolución adaptativa (Leesutthiphonchai et al., 2018).

Tipos de resistencia en papas. La resistencia al tizón tardío puede ser vertical u horizontal. La resistencia vertical presenta un alto grado de resistencia, pero a pocas cepas del patógeno, está mediada por uno o pocos genes *R* que son raza-específicos, de herencia mendeliana y son fáciles de incorporar para la obtención de nuevos genotipos resistentes. Por su parte, la resistencia horizontal es

poligénica e inespecífica y protege a la planta contra varias cepas del patógeno; este tipo de resistencia es difícil de utilizar en programas de mejoramiento genético, pero es la más deseable por su potencial durabilidad (Karki et al., 2021; Lozoya-Saldaña, 2011). Por otro lado, la resistencia foliar difiere de la resistencia del tubérculo debido a que los genes involucrados en ambos órganos son distintos (Lal et al., 2013; Halterman et al., 2008; Kirk et al., 2001). Las evaluaciones de resistencia en el follaje muestran una respuesta consistente en diferentes ambientes y años, mientras que la respuesta observada en los tubérculos muestra una mayor variación, por ello es preferible evaluar la resistencia foliar para seleccionar genotipos resistentes (Mayton et al., 2010; Douches et al., 2002).



Figura 3. Comparación entre planta de *Solanum tuberosum*, susceptible al tizón tardío (izquierda) y una planta resistente de *Solanum demissum* (derecha) en el Valle de Toluca, México, 2019.

Las papas silvestres en mejoramiento genético. Luego de la hambruna irlandesa se realizaron las primeras cruza intraespecíficas de *S. tuberosum* que no originaron materiales resistentes al tizón tardío debido a que la base genética de las variedades europeas era muy estrecha en ese entonces (Zoteyeva et al., 2012). Además, la mayoría de los mejoradores creían que cruzar variedades europeas con variedades de sudamericanas y mexicanas ayudaría a generar papas con mayor vigor que le permitirían resistir mejor las enfermedades. Recién a inicios del siglo XX se realizaron cruza interespecíficas entre *S. tuberosum* y *S. demissum*, especie que contiene 11 genes *R* de resistencia raza-específica (Figura 3) (Turner, 2005).

Entre 1920 y 1940, el mejoramiento genético se basó en la resistencia vertical, obtenida de *S. demissum*, contra razas específicas de *P. infestans*. En ese entonces existían pocos patotipos de *P. infestans* dispersos fuera de México. A partir de 1950 se combinó la resistencia vertical y horizontal de varias papas silvestres, obteniéndose variedades con resistencia moderada pero duradera (Lozoya-Saldaña, 2011). Los materiales resistentes de la década de 1980 contenían una base genética estrecha debido a que se obtuvieron a partir de un limitado número de genotipos (Zoteyeva et al., 2012), lo que provocó que la resistencia fuera superada sistemáticamente por nuevas variantes del patógeno, limitando su uso agrícola (Tiwari et al., 2015).

Actualmente, los cultivares resistentes a *P. infestans* existentes no son suficientes para reducir las pérdidas de rendimiento, haciendo que la investigación se centre en utilizar genes de

resistencia de papas silvestres para obtener cultivares resistentes y duraderos contra un amplio rango de aislados del patógeno (Tiwari et al., 2013).

Existen unas 107 especies de papa silvestre, de ploidía variada y distribuidas en 16 países de América (Spooner et al., 2019). En la búsqueda de resistencia al tizón tardío, Pérez et al. (2000) identificaron 80 de 133 accesiones con resistencia cuantitativa; Micheletto et al. (2000) identificaron fuentes de resistencia en *Solanum commersonnii* y *Solanum chacoense*; Gopal & Singh (2003) identificaron 10 materiales resistentes de *Solanum tuberosum* dentro una colección de 270 accesiones; Khiutti et al. (2015) observaron variación de la resistencia intra e interespecífica en 34 especies; Bachmann-Pfabe et al., (2019) identificaron 69 accesiones muy resistentes y 311 moderadamente resistentes; Karki et al. (2021) detectaron 68 especies resistentes al tizón tardío, indicando la presencia de genes *RB*; y Enciso-Maldonado et al., (2021) encontraron más de 20 accesiones con moderada y alta resistencia en el Valle de Toluca (Figura 4). Por su parte, el Instituto de Investigación de Plantas N. I. Vavilov (Rusia), almacena una de las más antiguas colecciones de papas silvestres del mundo y mediante el Proyecto CEEM (Cornell-Europa del Este-México), en colaboración con el Centro de Investigación de Młochów (Polonia), se busca rescatar y guardar ese material genético para asegurar su disponibilidad para programas de mejoramiento en todo el mundo (Zoteyeva et al., 2012). Por su parte, el Banco de Germoplasma de Papa del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA/ARS- U.S. Potato Genebank) cuenta con base de datos libre del.

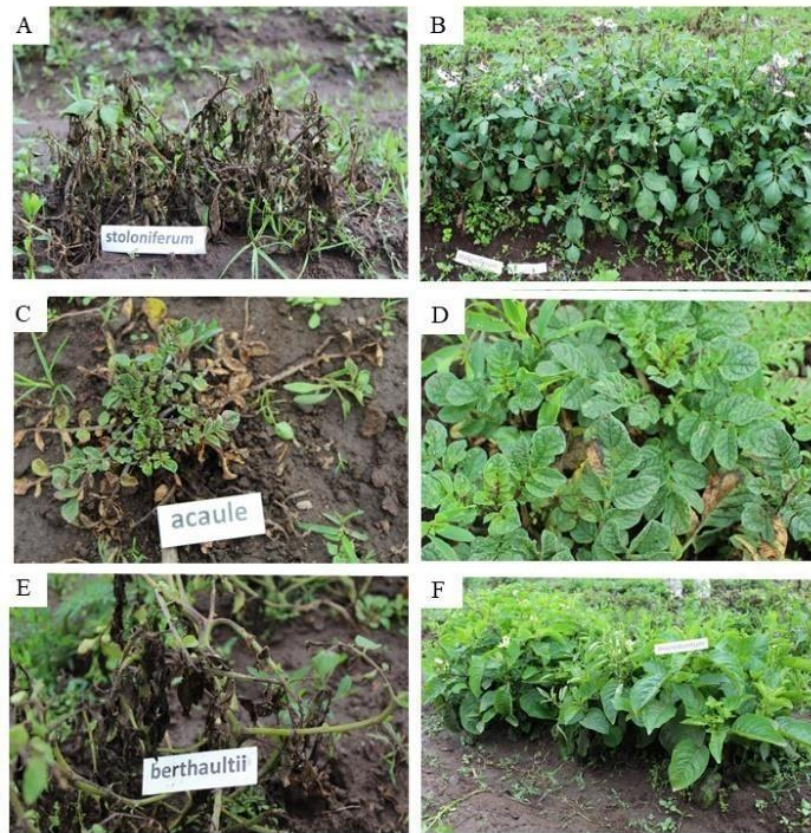


Figura 4. Variabilidad de la resistencia en accesiones dentro de una misma especie y entre especies. A) *Solanum stoloniferum* susceptible (A) y resistente (B); *Solanum acaule* susceptible (C) y resistente (D), accesión de *Solanum brevicaulle* susceptible (E) y accesión de resistente (F) en el Valle de Toluca, México, 2020.

USDA Germplasm Resources Information Network (GRIN) (2021) en donde reportan más de 25 especies resistentes. Similarmente, el Centro Internacional de la Papa (Perú) conserva y provee materiales para el resto del mundo y constantemente buscan fuentes de resistencia al tizón tardío (Lindqvist-Kreuze et al., 2020).

Desafíos y avances en el uso de papas silvestres. Existen barreras biológicas entre especies que limitan el aprovechamiento de los genes de resistencia de las papas silvestres. La hibridación y las cruces interespecíficas se dificultan por la variabilidad de ploidías y número de balance del endospermo (NBE) entre la especie cultivada y las silvestres (Haverkort & Kempenaar, 2016). El NBE se refiere al desarrollo del

endospermo después de la fertilización y en papas se establece que la proporción de contribución genómica debe ser 2:1 (materno/paterno) para el desarrollo normal del endospermo (Depetris et al., 2018; Johnston et al., 1980). Para superar estas barreras se cultivan anteras y regeneran plantas diploides a partir de tetraploides, o haploides a partir de diploides (Pacheco-Sánchez et al., 2003), se realiza cruce de puentes entre especies, rescate de embriones, fusión de protoplastos o duplicación de cromosomas con posterior selección y retrocruzas normales con el material parental deseado (Bethke et al., 2017).

La minería de alelos y estudios de asociación del genoma completo han permitido explorar el genoma de papas silvestres para detectar genes homólogos

de resistencia (Vossen et al., 2016; Tiwari et al., 2015; Gebhardt et al., 2004; Kim et al., 2012; Sokolova et al., 2011). Por otro lado, la construcción de mapas de ligamiento sirvió para desarrollar marcadores moleculares vinculados a los loci de resistencia (Tiwari et al., 2013).

Actualmente, existen varios marcadores ligados a genes *R*, loci de carácter cuantitativo y marcadores de polimorfismo de nucleótido simple (SNPs) que confieren resistencia al tizón tardío (Santa et al., 2018; Lindqvist-Kreuze et al., 2014).

Algunas especies en las que se han reportado genes de resistencia al tizón tardío son *S. demissum*; *S. bulbocastanum*; *S. brachistotrichum*, *S. edinense*; *S. hjertingii*, *S. microdontum*; *S. schenckii*; *S. verrucosum*, *S. pinnatisectum*, *S. stoloniferum*, *S. papita*; *S. polytrichon*; *S. mochiquense*, *S. phureja*; *S. venturii*; *S. dulcamara*, *S. berthaultii*; *S. avilesii*; *S. capsicibaccatum*, entre otras (Tiwari et al., 2013). Hasta la fecha, el gen *RB* es el gen más eficiente para suprimir la infección por *P. infestans* (Lokossou et al., 2009; Park et al., 2005; Song et al., 2003), y sirvió para la generación de nuevas variedades con resistencia horizontal (Van der Vossen et al., 2003).

Posteriormente, también se encontraron homólogos del gen *RB* en otras especies de *Solanum* (Wang et al., 2008). Con base en ensayos genéticos, de resistencia y generación de transgénicos, se han identificado genes *RB* que son funcionalmente equivalentes a los de *S. bulbocastanum* en *S. stoloniferum* y *S. verrucosum* (Wang et al., 2008).

Uno de los mayores logros en el mejoramiento genético para combatir al tizón tardío fue el apilamiento de tres genes de resistencia al tizón tardío (*RB*, *Rpi-blb2* y *Rpi-vnt1.1*) en las variedades

de papa "Desiree" y "Victoria" por medio de transgénesis, las cuales completaron sus ciclos mostrándose inmunes al tizón tardío y sin recibir aplicaciones de fungicida, mientras que las mismas variedades no transgénicas se destruyeron rápidamente (Ghislain et al., 2019).

Identificación de fuentes de resistencia. Para identificar materiales resistentes al tizón tardío se aplican distintas metodologías que incluyen pruebas de campo y ensayos de inoculación del patógeno en plantas enteras, en hojas desprendidas y ensayos *in vitro* (Forbes et al., 2005). Pérez et al. (2000) mencionan que los ensayos *in vitro* ofrecen una visión general de los niveles de resistencia en los germoplasmas y que son necesarias posteriores evaluaciones a campo. Por su parte, Karki et al. (2021) mencionan que los ensayos de hojas desprendidas ofrecen condiciones muy favorables para el desarrollo de la enfermedad, impidiendo la identificación precisa de la resistencia cuantitativa, y hacen que un mayor número de genotipos califique como susceptible; además, no siempre existe una relación cercana en la resistencia del follaje evaluada en laboratorio y campo (Lal et al., 2013). Las pruebas de campo que miden el área bajo la curva de progreso de la enfermedad proporcionan la mejor estimación de la resistencia a las enfermedades (Fry, 1978), sin embargo, en la mayoría de los sitios de evaluación es necesario realizar inoculaciones y cuando las condiciones no son favorables, los ensayos no son fiables debido a que el patógeno no es capaz de causar (Sieber et al., 2015). El Valle de Toluca en México es un sitio de importancia internacional para la evaluación de genotipos debido a que allí no se requieren inoculaciones artificiales debido a la gran cantidad de oosporas de cepas variables y virulentas que

sobreviven al invierno (Lozoya-Saldaña, 2005; Fernández-Pavía et al., 2004; Shakya et al., 2018). Estas condiciones hacen que cualquier clon de papa resistente al tizón tardío en Toluca tenga muchas posibilidades de seguir siéndolo en el resto del mundo (Lozoya-Saldaña, 2005).

CONCLUSIÓN

La búsqueda de resistencia al tizón tardío en papas silvestres es una parte importante dentro del mejoramiento genético de la papa debido a que *P. infestans* ha vencido por años la resistencia genética de la planta.

La utilización de los genes de resistencia de las papas silvestres todavía es limitada debido a las barreras a nivel de ploidía y la incompatibilidad del número del balance del endospermo con la papa cultivada. El mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares y las nuevas técnicas de modificación genética para transferir o apilar rápidamente genes de resistencia de papas silvestres a cultivares de papa son una herramienta con gran potencial para acelerar los procesos de obtención de genotipos de interés.

El Valle de Toluca en México es un sitio ideal para realizar trabajos de identificación de fuentes de resistencia e impulsar programas de mejoramiento genético ya que cuenta con la ventaja de ser el mayor centro de diversidad del *P. infestans*, con clima ideal para el patógeno y con gran variabilidad de resistencia genética en las papas silvestres que se distribuyen naturalmente en la zona.

AGRADECIMIENTO

Los autores reconocen y agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por otorgar las becas de posgrado a GAEM, GDG y ALS, al apoyo de K. Raman y J. Bamberg, colaboradores del Proyecto CEEM (Cornell Eastern Europe-Mexico) sobre Control de Tizón Tardío y al Lic. Biól. Bruno Olmedo de la Universidad Nacional de Asunción por las ilustraciones.

Declaración de interés. Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bethke, P. C., Halterman, D. A. & Jansky, S. (2017). Are we getting better at using wild potato species in light of new tools. *Crop Science*, 57 (3), 1241-1258. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0889>
- Burgos, G., Zum Felde, T., Andre, C. & Kubow, S. (2020). The potato and its contribution to the human diet and health. In *The potato crop*, pp. 37-74. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_2
- Corredor-Moreno, P. & Saunders, D. G. (2020). Expecting the unexpected: factors influencing the emergence of fungal and oomycete plant pathogens. *New Phytologist*, 225 (1), 118-125. <https://doi.org/10.1111/nph.16007>
- Depetris, M. B., Acuña, C. A., Pozzi, F. I., Quarín, C. L. & Felitti, S. A. (2018). Identification of genes related to endosperm balance number insensitivity in *Paspalum notatum*. *Crop Science*, 58 (2), 813-822. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.04.0260>
- Douches, D. S., Kirk, W. W., Bertram, M. A., Coombs, J. J. & Niemira, B. A. (2002). Foliar and tuber assessment of late blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) reaction in cultivated potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato research*, 45 (2-4), 215-224. <https://doi.org/10.1007/BF02736116>
- Devaux, A., Goffart, J. P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., Suarez, V. & Hareau, G. (2020). Global food security, contributions from sustainable potato agri-food systems. In *The potato crop* (pp. 3-35). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_1
- Enciso-Maldonado, G. A., Lozoya-Saldana, H., Colinas-Leon, M. T., Cuevas-Sanchez, J. A., Sanabria-Velázquez, A. D., Bamberg, J. & Raman, K. V. (2021). *Assessment of wild Solanum species for resistance to Phytophthora infestans (Mont.) de Bary in the Toluca Valley, Mexico.* [en prensa] <https://doi.org/10.1007/s12230-021-09856-x>
- FAOSTAT. (2021). *United Nations Food and Agricultural*

- Organization. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (Consultado 15.08.2021).
- Fernández-Pavía, S. P., Grünwald, N. J., Diaz-Valasis, M., Cadena-Hinojosa, M. & Fry, W. E. (2004). Soilborne oospores of *Phytophthora infestans* in central Mexico survive winter fallow and infect potato plants in the field. *Plant Disease*, 88 (1), 29-33. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.1.29>
- Flier, W. G., Grünwald, N. J., Kroon, L. P. N. M., Sturbaum, A. K., Van den Bosch, T. B., Garay-Serrano, E., Lozoya-Saldaña, H., Fry, W. F. & Turkensteen, L. J. (2003). The population structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca Valley of Central Mexico suggests genetic differentiation between populations from cultivated potato and wild *Solanum* spp. *Phytopathology*, 93 (4), 382-390. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.4.382>
- Foolad, M. R., Merk, H. L. & Ashrafi, H. (2008). Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 27(2), 75-107. <https://doi.org/10.1080/07352680802147353>
- Forbes, G. A., Chacón, M. G., Kirk, H. G., Huarte, M. A., Van Damme, M., Distel, S.,... & Capezio, S. (2005). Stability of resistance to *Phytophthora infestans* in potato: an international evaluation. *Plant pathology*, 54 (3), 364-372. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0005-FI>
- Fry, W. E., Birch, P. R. J., Judelson, H. S., Grünwald, N. J., Danies, G., Everts, K. L., Gevens, A. J., Gugino, B. K., Johnson, D. A., Johnson, S. B., McGrath, M. T., Myers, K. L., Ristaino, J. B., Roberts, P. D., Secor, G. & Smart, C. D. (2015a). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, 105 (7), 966-981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01187.x>
- Fry, B., Danies, G., Small, I. & Myers, K. (2015b). Recent developments concerning the population biology and control strategies of *Phytophthora infestans* in the USA. *PPO-Special Report*, 17, 45-50. https://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Workshops/Proceedings/Special_Report_17_Totaal_LR.pdf#page=47
- Fry, W. E. & Grünwald, N. J. (2010). Introduction to oomycetes. *The Plant Health Instructor*. doi:10.1094/PHI-I-2012-0220-01
- Fry, W. E. & Goodwin, S. B. (1997). Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience*, 47 (6), 363-371. <https://doi.org/10.2307/1313151>
- Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P. & Schüller, K. (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, 13 (1), 93-102. <https://doi.org/10.1023/B:MOLB.0000012878.89855.df>
- Ghislain, M., Byarugaba, A. A., Magembe, E., Njoroge, A., Rivera, C., Román, M. L., Tovar, J. C., Gamboa, S., Forbes, G. A., Kreuzer, J. F., Barekye, A. & Kiggundu, A. (2019). Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races. *Plant Biotechnology Journal*, 17(6), 1119-1129. <https://doi.org/10.1111/pbi.13042>
- Schepers, H., Hausladen, H., Grønbech Hansen, J., Nielsen, B., Abuley, I., Andersson, B., Liljeroth, E., Edin, E., Bain, R., Ritchie, F., Gaucher, D., Ivanovic, Z., Blagojevic, J., Kildea, S., Filipov, A., Kuznetsova, M., Hannukkala, A., Eikemo, H., Nærstad, R.,... , Vanhaverbeke, P. (2015). Epidemics and control of early & late blight, 2013 & 2014 in Europe. In *Proceedings of the fifteenth EuroBlight workshop, Brasov, Romania*, 13-15 May 2015/Ed. HTAM Schepers. Applied Plant Research, Wageningen UR. https://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Workshops/Aarhus/Proceedings/Special_Report_18_Totaal.pdf
- Grünwald, N. J. & Flier, W. G. (2005). The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual review of phytopathology*, 43, 171-190. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135906>
- Halterman, D. A., Kramer, L. C., Wielgus, S. & Jiang, J. (2008). Performance of transgenic potato containing the late blight resistance gene RB. *Plant disease*, 92 (3), 339-343. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-3-0339>
- Haverkort, A. J., Boonekamp, P. M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L. A. P., Kessel, G. J. T., Visser, R. G. G. F. & Van der Vossen, E. A. G. (2008). Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato research*, 51 (1), 47-57. <https://doi.org/10.1007/s11540-008-9089-y>
- Haverkort, A. J. & Kempenaar, C. (2016). Recent advances in biotechnology and information technology in the potato industry. In *The Dundee Conference*, pp. 183-190. <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/410605>
- Johnston, S. A., Den Nijs, T. P. M., Peloquin, S. J. & Hanneman, R. E. (1980). The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theoretical and applied genetics*, 57 (1), 5-9. <https://doi.org/10.1007/BF00276002>
- Karki, H. S., Jansky, S. H. & Halterman, D. A. (2021). Screening of wild potatoes identifies new sources of late blight resistance. *Plant Disease*, 105 (2), 368-376. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1367-RE>
- Kim, H. J., Lee, H. R., Jo, K. R., Mortazavian, S. M., Huigen, D. J., Evenhuis, B., Kessel, G., Visser, R. G. F., Jacobsen, E. & Vossen, J. H. (2012). Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked R genes. *Theoretical and applied genetics*, 124 (5), 923- 935. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1757-7>
- Kirk, W. W., Felcher, K. J., Douches, D. S., Niemira, B. A. & Hammerschmidt, R. (2001). Susceptibility of potato (*Solanum tuberosum* L.) foliage and tubers to the US8 genotype of *Phytophthora infestans*. *American Journal of Potato Research*, 78 (4), 319-322. <https://doi.org/10.1007/BF02875697>
- Lal, M., Luthra, S. K., Singh, B. P. & Yadav, S. (2013). Screening of genotypes against potato late blight. *Potato Journal*, 40 (1). <http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/PotatoJ/article/view/31811>
- Leesutthiphonchai, W., Vu, A. L., Ah-Fong, A. M. & Judelson, H. S. (2018). How does *Phytophthora infestans* evade control efforts? Modern insight into the late blight disease. *Phytopathology*, 108 (8), 916-924. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-18-0130-IA>
- Lindqvist-Kreuzer, H., Gamboa, S., Izarra, M., Pérez, W., Correa, M. Y., Astete, A., Särkinen, T., Cueva, P. & Gonzáles, P. (2020). Population structure and host range of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in Peru spanning two decades. *Plant Pathology*, 69 (2), 334-346. <https://doi.org/10.1111/ppa.13125>
- Lindqvist-Kreuzer, H., Gastelo, M., Perez, W., Forbes, G. A., de Koeyer, D. & Bonierbale, M. (2014). Phenotypic

- stability and genome-wide association study of late blight resistance in potato genotypes adapted to the tropical highlands. *Phytopathology*, 104 (6), 624-633. <https://doi.org/10.1094/PHTO-10-13-0270-R>
- Lokossou, A. A., Park, T. H., van Arkel, G., Arens, M., Ruyter-Spira, C., Morales, J., Whisson, S. C., Birch P. R. J., Visser, R. G. F., Jacobsen, E., & van der Vossen, E. A. (2009). Exploiting knowledge of R/Avr genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato linkage group IV. *Molecular plant-microbe interactions*, 22 (6), 630-641. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0630>
- Lozoya-Saldaña, H. (2005). Importancia Internacional del Valle de Toluca, México, en estudios sobre el tizón tardío de la papa (*Solanum tuberosum* L.), causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23 (3), 312-319.
- Lozoya-Saldana, H. (2011). Evolution of vertical and horizontal resistance and its application in breeding resistance to potato late blight. *Potato Journal*, 38 (1), 1-8. <http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/PotatoJ/article/view/32385>
- Mabon, R., Guibert, M., Corbière, R. & Andrivon, D. (2021). An improved PCR method for rapid and accurate identification of mating types in the late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Plant Health Progress*, PHP-02. <https://doi.org/10.1094/PHP-02-21-0026-FI>
- Mayton, H., Griffiths, H., Simko, I., Cheng, S., Lorenzen, J., De Jong, W. & Fry, W. E. (2010). Foliar and tuber late blight resistance in a *Solanum tuberosum* breeding population. *Plant breeding*, 129 (2), 197-201. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01671.x>
- Micheletto, S., Boland, R. & Huarte, M. (2000). Argentinian wild diploid *Solanum* species as sources of quantitative late blight resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 101 (5-6), 902-906. <https://doi.org/10.1007/s001220051560>
- Pacheco-Sánchez, M., Lozoya-Saldaña, H. & Colinas-León, M. T. (2003). Reguladores de crecimiento y pretratamiento con frío en la androgénesis in vitro de solanumipetalum I. *Agrociencia*, 37 (3), 257-265. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30237305.pdf>
- Park, T. H., Vleeshouwers, V. G., Kim, J. B., Hutten, R. C. & Visser, R. G. (2005). Dissection of foliage and tuber late blight resistance in mapping populations of potato. *Euphytica*, 143 (1), 75-83. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-2658-0>
- Pérez, W., Salas, A., Raymundo, R., Huaman, Z., Nelson, R. & Bonierbale, M. (2000). Evaluation of wild potato species for resistance to late blight. *Scientist and Farmer, Partners in Research for the 21st Century, Program Report 1999-2000*, 49-62. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.527.6319&rep=rep1&type=pdf>
- Qi, J., Asano, T., Jinno, M., Matsui, K., Atsumi, K., Sakagami, Y., & Ojika, M. (2005). Characterization of a *Phytophthora* mating hormone. *Science*, 309 (5742), 1828-1828. DOI: 10.1126/science.1114756
- Santa, J. D., Berdugo-Cely, J., Cely-Pardo, L., Soto-Suárez, M., Mosquera, T. & Galeano M, C. H. (2018). QTL analysis reveals quantitative resistant loci for *Phytophthora infestans* and *Tecia solanivora* in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plos one*, 13 (7), e0199716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199716>
- Shakya, S. K., Larsen, M. M., Cuenca-Condoy, M. M., Lozoya-Saldaña, H. & Grünwald, N. J. (2018). Variation in genetic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Mexico from the center of origin outwards. *Plant disease*, 102 (8), 1534-1540. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1801-RE>
- Sieber, K., Forster, G. M., Berger, A., Hammann, T., Kellermann, A. & Schwarzfischer, A. (2015). Assessment of genetic hotspots for *Phytophthora* resistance and their use as molecular markers in potato breeding. *PPO-Special Report no. 17*, 57. https://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Publications/Special_Report_17_Totaal_LR.pdf#page=59
- Sokolova, E., Pankin, A., Beketova, M., Kuznetsova, M., Spiglazova, S., Rogozina, E. & Khavkin, E. (2011). SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Genetic Resources*, 9 (2), 309. <https://doi.org/10.1017/S1479262111000347>
- Song, J., Bradeen, J. M., Naess, S. K., Raasch, J. A., Wielgus, S. M., Haberlach, G. T., Liu, J., Kuang, H., Austin-Phillips, S., Buell, C. R., Helgeson, J. P. & Jiang, J. (2003). Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the national academy of sciences*, 100 (16), 9128-9133. <https://doi.org/10.1073/pnas.1533501100>
- Spooner, D. M., Jansky, S., Rodríguez, F., Simon, R., Ames, M., Fajardo, D. & Castillo, R. O. (2019). Taxonomy of wild potatoes in northern South America (*Solanum* section *Petota*). *Systematic Botany Monographs*, 108, 1-305. <https://doi.org/10.2307/25027915>
- Stokstad, E. (2019). The new potato. *Science*, 363 (6427), 574-577
- Tiwari, J. K., Siddappa, S., Singh, B. P., Kaushik, S. K., Chakrabarti, S. K., Bhardwaj, V. & Chandel, P. (2013). Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: an update. *Plant Breeding*, 132 (3), 237-245. <https://doi.org/10.1111/pbr.12053>
- Tiwari, J. K., Devi, S., Sharma, S., Chandel, P., Rawat, S. & Singh, B. P. (2015). Allele mining in *Solanum* germplasm: cloning and characterization of RB-homologous gene fragments from late blight resistant wild potato species. *Plant molecular biology reporter*, 33 (5), 1584-1598. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0859-9>
- Turner, R. S. (2005). After the famine: Plant pathology, *Phytophthora infestans*, and the late blight of potatoes, 1845-1960. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences*, 35 (2), 341-370. <https://doi.org/10.1525/hsps.2005.35.2.341>
- USDA. (2021). *Red de información sobre recursos de germoplasma (GRIN)*. Servicio de Investigaciones Agropecuarias. Departamento de Agricultura de EE.EE. <https://www.ars-grin.gov/>
- Vleeshouwers, V. G., Raffaele, S., Vossen, J. H., Champouret, N., Oliva, R., Segretin, M. E., Rietman, H., Cano, L. M., Lokossou, A., Kessel, G., Pel, M. A. & Kamoun, S. (2011). Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annual review of phytopathology*, 49, 507-531. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095326>
- Van Der Vossen, E., Sikkema, A., Hekkert, B. T. L., Gros, J., Stevens, P., Muskens, M., Wouters, D., Pereira, A., Stiekema, W. & Allefs, S. (2003). An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *The plant journal*, 36 (6), 867-882. <https://doi.org/10.1046/j.1365->

- 313X.2003.01934.x
- Vossen, J. H., van Arkel, G., Bergervoet, M., Jo, K. R., Jacobsen, E., & Visser, R. G. (2016). The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is an Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in lateblight resistant varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(9), 1785-1796.
<https://doi.org/10.1007/s00122-016-2740-0>
- Wang, J., Fernández-Pavía, S. P., Larsen, M. M., Garay-Serrano, E., Gregorio Cipriano, R., Rodríguez-Alvarado, G., Grünwald, N. J. & Goss, E. M. (2017). High levels of diversity and population structure in the potato late blight pathogen at the Mexico centre of origin. *Molecular Ecology*, 26, 1091–1107.
<https://doi.org/10.1111/mec.14000>
- Zoteyeva, N., Chrzanowska, M., Flis, B. & Zimnoch-Guzowska, E. (2012). Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of NI Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *American journal of potato research*, 89 (4), 277-293.
<https://doi.org/10.1007/s12230-012-9252-5>
- Zoteyeva, N. M. (2020). Late blight resistance of wild potato species under field conditions in the Northwest of Russia. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*, 180 (4), 159-169.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-4-159-169>

**5. IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS DE RESISTENCIA AL
TIZÓN TARDÍO EN ESPECIES SILVESTRES DE PAPA**

**5. IDENTIFICATION OF CANDIDATE GENES FOR RESISTANCE TO
LATE BLIGHT IN WILD POTATO SPECIES**

RESUMEN

El tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*) es la enfermedad de mayor importancia económica a nivel mundial para este cultivo. Para mitigar los daños provocados por este patógeno, se realizan esfuerzos enfocados en obtener cultivares resistentes, donde la identificación de genes de resistencia a *P. infestans* es fundamental para avanzar en los programas de mejoramiento. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar homólogos de genes de resistencia al tizón tardío en especies silvestres de papa (*Solanum* spp.) y asociar su presencia con la de resistencia de campo. Se analizaron 23 accesiones del Vavilov Institute of Plant Research, que representan 14 especies silvestres de *Solanum* spp. con diferentes niveles de resistencia. Para la caracterización de las accesiones se utilizaron ocho pares de cebadores, correspondientes a ocho genes de resistencia identificados en otras especies: *R1*, *R2*, *R3a*, *R8*, *Sto-448*, *Rpi-blb1*, *R1*, *Rpi-blb2* y *Rpi-ber1*. Se realizó un análisis de varianza para determinar significancia entre la relación de la cantidad de marcadores por plantas y el nivel de resistencia. De los ocho cebadores, siete pares mostraron amplificaciones observables en por lo menos una de las accesiones. Los pares *R1*, *R8*, *Ssto-448*, *R2* y *Rpi-ber1* amplificaron una única banda por muestra, mientras que los marcadores *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2* mostraron amplificación de múltiples bandas por muestra. El marcador *R3a* no amplificó para ninguna accesión. El gen *R1* fue exclusivamente encontrado en una especie resistente, siendo los otros marcadores encontrados tanto estas como en especies con diferentes grados de susceptibilidad. A pesar de no encontrar significancia entre la cantidad de marcadores y el nivel de resistencia, los homólogos de resistencia identificados resaltan la importancia de las especies silvestres como recursos importantes en los programas de mejoramiento, siendo importante continuar con la caracterización de los genes encontrados y la búsqueda de otros genes no evaluados.

Palabras clave: *Phytophthora infestans*, papas silvestres, genes R, recursos fitogenéticos, Región amplificada caracterizada por secuencia.

ABSTRACT

Potato late blight (*Phytophthora infestans*) is the most economically important disease for

this crop worldwide. To mitigate the damage caused by this pathogen, efforts are being made to obtain resistant cultivars, where the identification of resistance genes to *P. infestans* is essential to advance in breeding programs. Therefore, the objective of this work was to identify late blight resistance gene homologues in wild potato species (*Solanum* spp.) and associate their presence with field resistance. Twenty-three accessions from the Vavilov Institute of Plant Research were analyzed, representing 14 wild species of *Solanum* spp. with different resistance levels. For the characterization of the accessions, eight pairs of primers were used, corresponding to eight resistance genes identified in other species: *R1*, *R2*, *R3a*, *R8*, *Sto-448*, *Rpi-blb1*, *R1*, *Rpi-blb2* and *Rpi-ber1*. An analysis of variance was performed to determine significance between the relationship between the number of markers per plant and the level of resistance. Of the eight primers, seven pairs showed observable amplifications in at least one of the accessions. The *R1*, *R8*, *Ssto-448*, *R2*, and *Rpi-ber1* pairs amplified a single band per sample, while the *Rpi-blb1* and *Rpi-blb2* markers showed amplification of multiple bands per sample. The *R3a* marker did not amplify for any accession. The *R1* gene was exclusively found in a resistant species, the other markers being found both in these and in species with different degrees of susceptibility. Despite not finding significance between the number of markers and the level of resistance, the resistance homologues identified highlight the importance of wild species as important resources in breeding programs, being important to continue with the characterization of the genes found and the search for other unassessed genes.

Keywords: *Phytophthora infestans*, wild potatoes, R genes, plant genetics resources, Sequence Characterized Amplified Region.

Introducción

El tizón tardío de la papa, causado por el oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, es la principal enfermedad del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en todo el mundo (Grunwald & Flier, 2005). Para combatir esta enfermedad se recurre principalmente a la aplicación de fungicidas, sin embargo, su uso reiterado, y la aparición de mutaciones que vuelven a los patógenos insensibles a los diferentes ingredientes

activos, las cuales son seleccionados al usar reiteradamente el producto, se observa una disminución de la eficacia de control de los fungicidas (Grunwald & Flier, 2005). Por lo tanto, el uso de cultivares resistentes al tizón tardío es una de las estrategias más interesantes para reducir la densidad de inoculo en el ambiente y para disminuir la tasa de infección por parte del patógeno (Haverkort et al., 2016).

La papa cultivada cuenta con una base genética estrecha y carece de genes *R* activos contra *P. infestans*, debido a que la propagación vegetativa excluye la selección natural de loci *R* funcionales bajo los ataques recurrentes de patógenos, por lo tanto, no se ha podido obtener cultivares resistentes a través de cruzas intraespecíficas (Pankin et al., 2011). Debido a ello, dentro del mejoramiento genético de la papa se contempla el uso de genes de resistencia contenidos dentro de sus parientes silvestres (*Solanum* spp.) (Paluchowska et al., 2022), los cuales han evolucionado en regiones con las poblaciones más diversas de *P. infestans* y han adquirido numerosos loci *R* funcionales contra el tizón tardío y son recursos genéticos esenciales para el mejoramiento de la papa (Wang et al., 2008). El ejemplo más conocido es el de la especie mexicana *S. demissum*, en la cual se han identificado 11 genes *R* que confieren resistencia vertical al tizón tardío. Esta especie ha sido utilizada por más de 100 años en programas de mejoramiento genético, en donde, a través de cruzas interespecíficas con *S. tuberosum* se han obtenido genotipos prometedores, resistentes a la enfermedad. Sin embargo, la resistencia obtenida a través de estas cruzas ha sido quebrada continuamente por el patógeno (Fryet al., 2015).

Actualmente, los esfuerzos en investigación, dentro del mejoramiento genético de la papa, se enfocan en la introducción de genes *Rpi* de especies silvestres de *Solanum* en papas cultivadas (Park, 2013) y en la piramidización de genes de resistencia de amplio espectro de varias fuentes de papas silvestres, con diferente especificidad para las razas de patógenos en el genoma de la papa (Tan et al., 2010).

Para estimar el potencial genético, se requiere identificar marcadores moleculares diagnóstico (Ballesteros et al., 2010). Para tal fin, gracias a técnicas como la minería de alelos, la cual facilita el descubrimiento de nuevos genes de resistencia (*R*) que pueden usarse en programas de mejoramiento (Wang et al., 2008). Además, ayuda a rastrear la

evolución de los alelos, la identificación de nuevos haplotipos y el desarrollo de marcadores específicos de alelos para su uso en la selección asistida por marcadores (Kumar et al. 2010). Por otro lado, la exploración de genes R homólogos entre especies puede ser una actividad muy prometedora para el mejoramiento genético de la papa.

En el presente estudio, el objetivo fue identificar homólogos de genes de resistencia al tizón tardío en especies silvestres de papa (*Solanum* spp.) utilizando cebadores específicos de genes reportados en la literatura para otras especies co genéricas, y posteriormente asociarlo con la categoría de resistencia previamente reportada.

Materiales y métodos

Material vegetal

Fueron analizadas 23 accesiones que representan 14 especies silvestres de *Solanum* spp. con diferentes niveles de resistencia (Cuadro 1), reportados previamente por Enciso-Maldonado et al. (2022).

Cuadro 1. Accesiones de *Solanum* seleccionadas para el estudio.

Especie	ID	Accesión	Ploidía	Origen	Categoría de resistencia
<i>S. acaule</i>	3	631194	4x	Bolivia, Perú	Muy susceptible
<i>S. acaule</i>	9	653788			Susceptible
<i>S. albicans</i>	21	631198	6x	Perú	Susceptible
<i>S. albicans</i>	22	631199			Susceptible
<i>S. berthaultii</i>	23	653801	2x	Argentina	Muy susceptible
<i>S. berthaultii</i>	25b	653829			Resistente
<i>S. brevicaule</i>	27	473378	2x	Bolivia	Muy susceptible
<i>S. brevicaule</i>	28	631209			Resistente
<i>S. chacoense</i>	35	631200	2x	Argentina, Bolivia, Paraguay	Muy susceptible
<i>S. chacoense</i>	47	653781			Muy susceptible
<i>S. demissum</i>	54	653770	6x	México	Resistente
<i>S. guerreroense</i>	64	653828	6x	México	Resistente
<i>S. juzepzuckii</i>	65	631201	3x	Perú, Bolivia	Muy susceptible
<i>S. microdontum</i>	67	631212	2x	Argentina	Resistente
<i>S. microdontum</i>	68	631211			Susceptible
<i>S. michoacanum</i>	69	653810	2x	México	Susceptible
<i>S. pinnatisectum</i>	72b	275234	2x	México, USA, Canadá	Moderadamente Resistente
<i>S. pinnatisectum</i>	75	653808			Muy susceptible
<i>S. stoloniferum</i>	87	653771	4x	México	Muy susceptible
<i>S. stoloniferum</i>	100b	653823			Resistente
<i>S. verrucosum</i>	102b	653784	2x	México	Muy susceptible
<i>S. vernei</i>	104	473306	2x	Argentina	Muy susceptible
<i>S. demissum</i>	168	225652	6x	México	Moderadamente Resistente

Extracción de ADN y reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El ADN genómico total se extrajo a partir de muestras foliares utilizando la técnica CTAB (Doyle, 1991). A partir del ADN extraído se realizaron diluciones para llevarlo a la concentración de trabajo [50 ng/μL]. Las 23 accesiones seleccionadas fueron analizadas utilizando los 8 pares de cebadores específicos para genes de resistencia al tizón tardío reportados previamente en la literatura para otras especies del género *Solanum* (Cuadro 2).

Todas las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen final de 25 μL, en todos los casos se incluyó un testigo negativo en cada corrida de PCR, las concentraciones de los reactivos fueron las siguientes: 1X de Buffer (Green GoTaq Reaction Buffer), 0,5 U de taq (GoTaq G2 DNA Polimerasa, Promega), 0,2 mM de dNTPs (Promega), 0,2 μM de cada uno de los *primers* y 100ng de ADN templado. En cuanto a las condiciones de ciclado, se inició con una desnaturalización inicial de 5 min a 94 °C, seguida por 35 ciclos que incluyeron, desnaturalización de 45 s a 94 °C, hibridación de 45 s a T_M , alargamiento de 1 min a 72 °C, alargamiento final de 8 min a 72 °C. Las T_M específicas para cada par de cebador se encuentran en la Cuadro 2. En principio fueron utilizadas T_M calculadas para cada par de primer, no obteniendo buenos resultados se probaron T_M utilizadas por Tiwari et al. (2015), con las que se pudieron obtener amplicones. La verificación de las amplificaciones fue realizada mediante electroforesis (5 V/cm) en geles de agarosa al 2 % (p/v), utilizando como buffer de corrida TBE al 0.5 × (Sambrook et al., 1989), los geles fueron teñidos con Diamond™ Nucleic Acid Dye (1:10.000), y las bandas fueron visualizadas en un transiluminador de luz azul. El marcador de peso molecular utilizado como referencia fue el 100 pb DNA Ladder (Invitrogen).

Análisis de datos

Se realizó la observación de las corridas electroforéticas para identificar la presencia/ausencia de amplicones en cada una de las muestras.

Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) para detectar diferencias significativas en la cantidad de fragmentos amplificados teniendo en cuenta las diferentes categorías de susceptibilidad ($P < 0.05$), con la finalidad de detectar si la asociación entre ambas fue

significativa.

Cuadro 2. Regiones analizadas en las accesiones de papa

Marcador	Cromosoma	Tamaño (pb)	Primers (5' à 3')	Cita	Tm (°C)
<i>Rpi-blb1</i>	8	300, 500, 800, 1000	F: AACCTGTATGGCAGTGGCATG R: GTCAGAAAAGGGCACTCGTG	Wang et al. (2008)	53
<i>R1</i>	5	1205	F: CACTCGTGACATATCCTCACTA R: GTAGTACCTATCTTATTTCTGCAAGAAT	Sokolova et al. (2011)	50
<i>Rpi-blb2</i>	8	300, 500, 700, 976	F-GGACTGGGTAACGACAATCC R-ATTTATGGCTGCAGAGGACC	van der Vossen et al. 2005	52
<i>R2</i>	4	1142	F: ATGGCTGATGCCTTCTATCATTTGC R: TCACAACATATAATTCCGCTTC	Kim et al. (2012)	50
<i>R3a*</i>	11	1380	F: TCCGACATGTATTGATCTCCCTG R: AGCCACTTCAGCTTCTTACAGTAGG	Sokolova et al. (2011)	52
<i>R8</i>	9	1276	F-AACAAGAGATGAATTAAGTCGGTAGC R-GCTGTAGGTGCAATGTTGAAGGA	Vossen et al., 2016	50
<i>Ssto-448</i>	5	448	F - GTGGAACGCCGTCATCCTTAG R - GCATAGGTGGTTAGATGTATGTTTGATTA	Sokolova et al. (2011)	50
<i>Rpi-ber1</i>	10	366	F: GAACGCGAAAGAGTGCTGATAG R: CCCGCTGCCTATGGAGAGT	Tan et al. (2010)	50

*La amplificación del gen R3a no mostró amplificación en ninguna muestra.

Resultados y Discusión

De los 8 cebadores, 7 pares mostraron amplificaciones observables en por lo menos una de las accesiones (Cuadro 3). Únicamente los pares *R1*, *R8*, *Ssto-448*, *R2* y *Rpi-ber1* no mostraron amplificación de múltiples bandas por muestra (Figuras 1 y 2). El tamaño de los productos de amplificación de cada región (a excepción de *R3a*) se encontró dentro de la amplitud esperada (Cuadro 2). Las múltiples bandas amplificadas de las regiones *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2* en cada individuo podrían corresponder a polimorfismo de la región de interés también a bandas inespecíficas amplificadas en el proceso de PCR (disminución de la restricción por utilizar TM bajas); para caracterizar los fragmentos obtenidos y confirmar la existencia de polimorfismo se debería realizar la clonación de los fragmentos amplificadas y posterior secuenciación de los mismos (Solokova et al., 2011; Ballesteros et al., 2010).

El cebador *R1* amplificó únicamente en la especie *S. demissum* con número de accesión 653770 y resistente al tizón tardío (Cuadro 3, Figura 1a). Mientras que el cebador *Sto-*

amplificó en accesiones de *S. demissum*, *S. guerreroense*, *S. stoloniferum* y *S. verrucosum* con diferentes niveles de resistencia (Cuadro 3, Figura 2a). La amplificación de los marcadores *R1* y *Sto-448* en especies mexicanas era de esperarse debido a que ambas forman parte del gen *R1*, el cual confiere resistencia horizontal a *P. infestans*, y anteriormente fueron encontradas en diferentes grupos de papas silvestres mexicanas (Sokolova et al., 2011). El menor grado de resistencia observado en la accesión 225652 de *S. demissum* podría estar asociado a la ausencia de amplificación del marcador *R1*.

El marcador *R2* amplifico únicamente para la accesión 653771 de *S. stoloniferum*. Mientras que el marcador *R8* amplificó para siete accesiones. Al igual que el gen *R1*, los genes *R2* y *R8* son raza específicos de poca durabilidad. El par de cebadores *R3a* no mostró amplificación en ninguna de las accesiones analizadas. El marcador *R3a* ha sido reportados en especies mexicanas y sudamericanas (Sokolova et al., 2011), sin embargo, en las especies evaluadas en este trabajo no se pudieron identificar homólogos de este marcador.

Los cebadores *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2* mostraron en la mayoría de las muestras múltiples fragmentos amplificados (Figura 3a y 3b, Cuadro 3). Los genes *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2* confieren resistencia de amplio espectro y fueron identificados en la especie diploide mexicana *S. bulbocastanum* (Song et al., 2003; van der Vossen et al., 2003), ambos codifican proteínas CC-NB-LRR (Vleeshouwers et al., 2011). Pankin et al. (2011) encontraron homólogos de estos genes en *S. cardiophyllum* ssp. *ehrenbergii*, *S. demissum*, *S. hjertingii*, *S. hougasii*, *S. iopetalum*, *S. pinnatisectum*, *S. polyadenium*, *S. polytrichon*, *S. stenophyllidium*, *S. stoloniferum* y *S. verrucosum*). Además, observaron que el marcador *Rpi-blb1* estuvo universalmente presente en cada accesión analizada, lo que sugiere una distribución ubicua de los homólogos de *Rpi-blb1* en los genomas de *Solanum*. Mientras que El marcador *Rpi-blb2* estaba presente en varias copias (1-3 copias por accesión) y variaba mucho en tamaño (~800 a 1300 pb). Al igual que lo obtenido en este trabajo, Pankin et al. (2011) observaron bandas polimórficas de estos marcadores en varias accesiones de *Solanum* y consideran que corresponden a loci de parálogos similares al gen *Rpi-blb1*, y que esta variación de tamaño observada se debe principalmente a los polimorfismos en el intrón.

De manera similar a los marcadores *Rpi-blb1* y *Rpi-blb2*, la región *Rpi-ber1* (Figura 1c, Cuadro 3) amplificó en la mayoría de las accesiones evaluados, mostrando bandas únicas. El gen *Rpi-ber1* fueron identificados por primera vez en dos accesiones de *S. berthaultii* y están íntimamente ligados en el brazo largo del cromosoma 10 (Park et al., 2009). Posteriormente se identificaron genes homólogos a *Rpi-ber1* en las especies *Solanum albicans*, *Solanum alandiae*, *Solanum berthaultii*, *Solanum pinnatisectum*, *Solanum sparsipilum*, *Solanum spegazzinii*, *Solanum arnezii*, *Solanum avilesii*, *Solanum tuberosum ssp. andigena*, *Solanum demissum* y *Solanum cardiophyllum* (Srivastava et al., 2018). Se ha informado que el gen *Rpi-ber1* es capaz de reconocer moléculas efectoras, PexRD12 durante la infección por *P. infestans* (Monino-López et al., 2021).

Cuadro 3. Especie, identificador de la accesión (ID), número de accesión (ACNO), categoría de resistencia, presencia del marcador y total de marcadores amplificados por especie de *Solanum*.

Especie	ID	ACNO	Categoría	RI	<i>Rpi-ber1</i>	R8	R2	<i>Rpi-blb1</i>	<i>Rpi-blb2</i>	Sto-448	Total de marcadores
<i>S. acaule</i>	3	631194	MS		X			X	X		3
<i>S. acaule</i>	9	653788	MS		X			X	X		3
<i>S. albicans</i>	21	631198	MS		X			X	X		3
<i>S. albicans</i>	22	631199	S		X	X		X	X		4
<i>S. berthaultii</i>	23	653801	MS								0
<i>S. berthaultii</i>	25b	653829	R								0
<i>S. brevicaule</i>	27	473378	MS		X	X		X	X		4
<i>S. brevicaule</i>	28	631209	R		X						1
<i>S. chacoense</i>	35	631200	MS								0
<i>S. chacoense</i>	47	653781	MS		X	X		X	X		4
<i>S. demissum</i>	54	653770	R	X	X	X		X	X	X	6
<i>S. guerreroense</i>	64	653828	R		X			X	X	X	4
<i>S. juzepzuckii</i>	65	631201	MS								0
<i>S. microdontum</i>	67	631212	S		X			X	X		3
<i>S. microdontum</i>	68	631211	R		X	X		X	X		4
<i>S. michoacanum</i>	69	653810	S		X			X	X		3
<i>S. pinnatisectum</i>	72b	275234	MR		X			X	X		3
<i>S. pinnatisectum</i>	75	653808	MS		X			X	X		3

<i>S. stoloniferum</i>	87	653771	MS		X	X	X	X	X	X	6
<i>S. stoloniferum</i>	100b	653823	R		X				X	X	3
<i>S. verrucosum</i>	102b	653784	MS		X			X	X	X	4
<i>S. vernei</i>	104	473306	MS		X			X	X		3
<i>S. demissum</i>	168	225652	MR		X	X			X	X	4

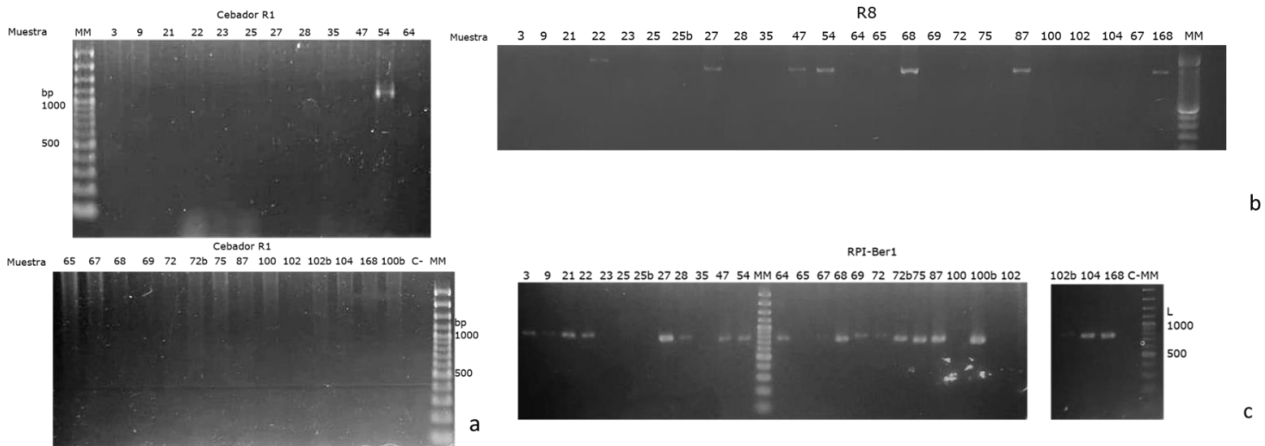


Figura 1. Verificación de las PCR de los cebadores R1, R8 y Rpi-ber1 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %. a) Cebador R1. b) Cebador R8 y c) Cebador Rpi-ber1. Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base.

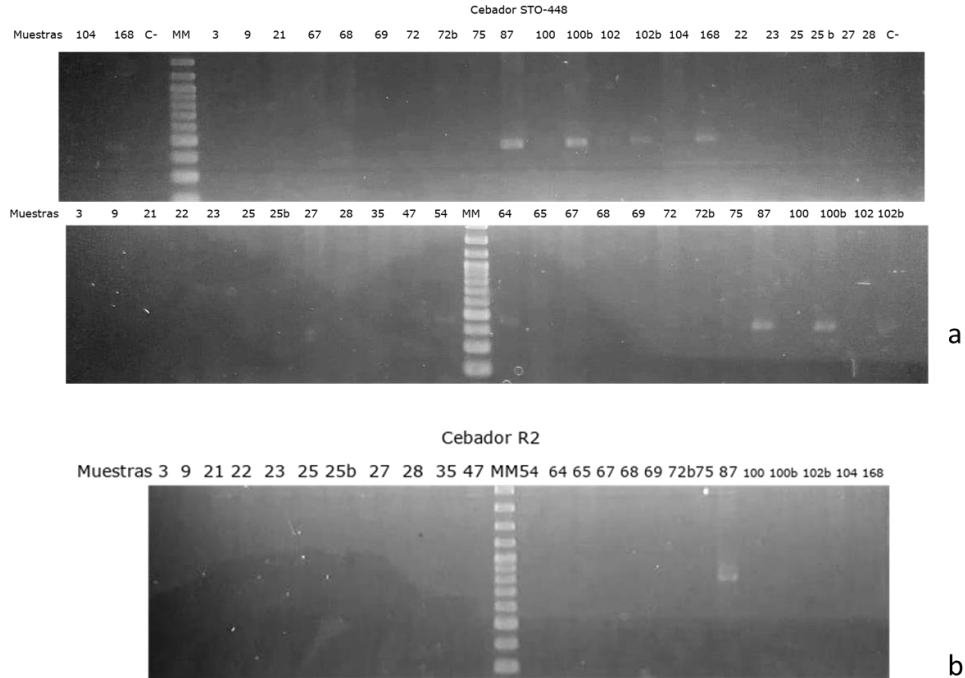


Figura 2. Verificación de las PCR de los cebadores STO-448 y R2 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %. a) Cebador STO-448. b) Cebador R2 Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base.

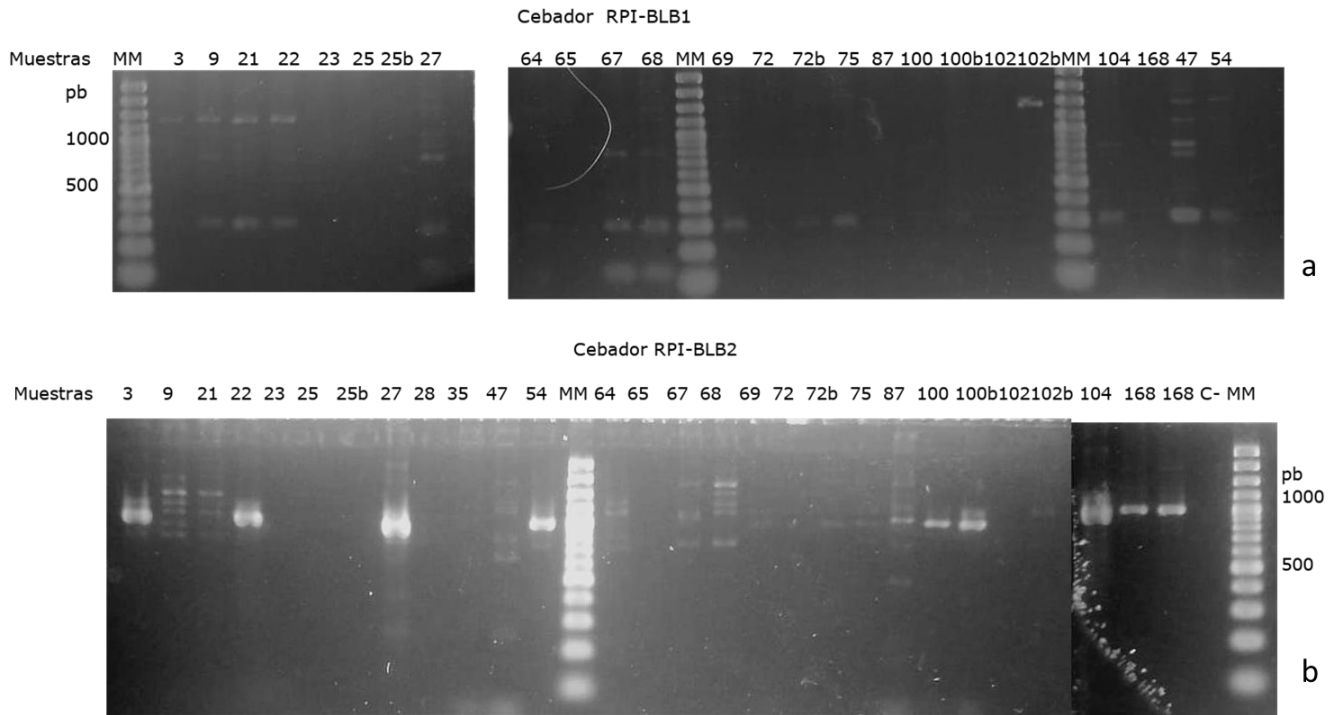


Figura 3. Verificación de las PCR de los cebadores RPI-BLB1 y RPI-BLB2 por electroforesis en geles de agarosa al 2 %. a) Cebador RPI-BLB1. b) Cebador RPI-BLB2 Muestras: indicadas con su respectivo ID. MM: Marcador de peso molecular. bp: pares de base.

Algunas accesiones como 653784 de *S. verrucosum*, 653781 de *S. chacoense* y 473378 de *S. brevicaule* fueron muy susceptibles al tizón tardío, sin embargo, se detectó la presencia de cuatro marcadores amplificados. Mientras que, la accesión 631209 de *S. brevicaule* fue resistente y en ella se detectó un solo marcador asociado a la resistencia. En otros casos se observó que plantas muy susceptibles no amplificaron regiones asociadas a la resistencia (accesión 631200 de *S. chacoense*, accesión 653801 de *S. berthaultii* y la accesión 631201 de *S. juzepzuckii*), y en el caso de *S. demissum* (653770) se observó que fue inmune en el campo y amplificó seis marcadores asociados a la resistencia al tizón tardío. Sin embargo, tras realizar el ANAVA no detectó diferencias significativas entre la cantidad de marcadores contenidos en cada accesión y su relación con la categoría de la resistencia ($P < 0.05$), por lo tanto, no se refleja una asociación entre la carga genética de cada accesión con la categoría de resistencia observada (Figura 4), lo cual coincide con Pankin et al. (2011), quienes observaron que la presencia de marcadores y haplotipos particulares no se asociaron inmediatamente con una alta

resistencia al tizón. Mientras que Fadina et al. (2017) encontraron una relación positiva entre la cantidad de marcadores por plantas con el nivel de resistencia observado.

La resistencia al tizón tardío en especies del género *Solanum*, generalmente es el resultado de la interacción de varios genes. Para comprender con mayor profundidad la relación entre la resistencia observada a campo, es necesario ampliar el número de marcadores moleculares asociados a la resistencia al tizón tardío para caracterizar el perfil de las accesiones estudiadas, ya que, la resistencia puede estar mediada por otros genes o por la interacción entre genes (Beketova et al., 2021). Además, es posible que los genes identificados no sean funcionales, por lo tanto, podrían no estar expresándose y en consecuencia la resistencia no se manifiesta fenotípicamente, es por ello importante realizar una caracterización a nivel de secuencia de los marcadores identificados, y posteriormente la expresión génica de los mismos. En cuanto a las secuenciaciones, considerando la identificación de múltiples fragmentos en algunas de las muestras, así como la posible presencia de polimorfismos en las bandas únicas identificadas, y la utilización de primers no específicos para cada especie, es recomendable en aquellos casos en donde no se pueda obtener secuencias de buena calidad a partir del producto de PCR directamente, realizar la clonación de los fragmentos, lo que permitirá utilizar para la secuenciación cebadores universales de los plásmidos e independizarse de la secuenciación a partir de los cebadores heterólogos que se utilizaron para la amplificación, y que al no ser específicos, en muchas ocasiones producen secuencias de baja calidad.

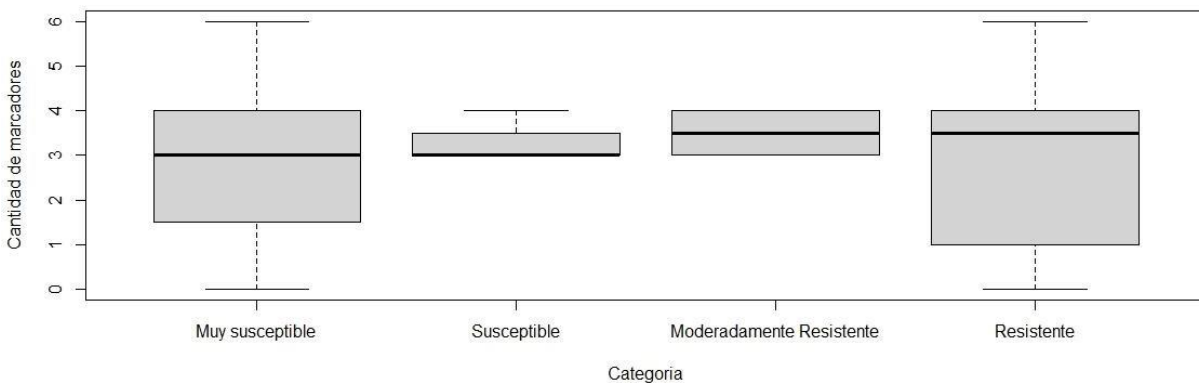


Figura 4. Diagrama de caja en el cual se observa la cantidad de marcadores identificados en las distintas especies de *Solanum* evaluadas según categoría de resistencia al tizón tardío.

Conclusión

Se identificaron genes homólogos asociados a marcadores moleculares en distintas accesiones de papas silvestres. Sin embargo, no hubo significancia entre la cantidad de marcadores y el nivel de resistencia, por lo que la resistencia observada en el campo puede estar asociada a otros marcadores no evaluados, como también a la presencia o no de pseudogenes, diferencias a nivel de secuencia o de expresión de los marcadores identificados. En plantas que mostraron ser susceptibles en el campo, en las cuales se identificó la presencia de marcadores relacionados a resistencia, podrían tratarse pseudogenes, o alguna mutación de pérdida de función, y como consecuencia la no funcionalidad de los marcadores identificados. Se impone poner foco, además, en aquellos marcadores identificados únicamente en especies resistentes como el *R1*. Futuros estudios podrían enfocarse a evaluar la funcionalidad de los genes homólogos identificados en este trabajo, así como la caracterización de otros posibles genes de resistencia.

Referencias

- Ballesteros, D. C., Delgado, M. C., Alvarez, M. F., Juyo, D., Cuellar, D., & Mosquera, T. (2010). Posible presencia de un gen R1 en germoplasma de *Solanum tuberosum* Grupo Phureja. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 137-146.
- Doyle, J. 1991. DNA protocols for plants—CTAB total DNA isolation. In G.M. Hewitt & A. Johnston (Eds.), *Molecular techniques in taxonomy* (pp. 283-293). Springer.
- Enciso-Maldonado, G. A., Lozoya-Saldaña, H., Colinas-Leon, M. T., Cuevas-Sanchez, J. A., Sanabria-Velázquez, A. D., Bamberg, J., & Raman, K. V. (2022). Assessment of wild *Solanum* species for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Toluca Valley, Mexico. *American Journal of Potato Research*, 99(1), 25-39.
- Fadina, O. A., Beketova, M. P., Sokolova, E. A., Kuznetsova, M. A., Smetanina, T. I., Rogozina, E. V., & Khavkin, E. E. (2017). Preemptive breeding: the use of molecular markers in the creation of late blight resistance donors for potato

(*Solanum tuberosum* L.) based on complex interspecific hybrids. *Agricultural Biology*, 52 (1), 84-94.

Fry, W. E., Birch, P. R. J., Judelson, H. S., Grünwald, N. J., Danies, G., Everts, K. L., ... & Smart, C. D. (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, 105(7), 966-981.

Grünwald, N. J., & Flier, W. G. (2005). The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 171-190.

Haverkort, A. J., Boonekamp, P. M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L. A. P., Kessel, G. J. T., ... & Visser, R. G. F. (2016). Durable late blight resistance in potato through dynamic varieties obtained by cisgenesis: scientific and societal advances in the DuRPh project. *Potato Research*, 59(1), 35-66.

Kim, H. J., Lee, H. R., Jo, K. R., Mortazavian, S. M., Huigen, D. J., Evenhuis, B., ... & Vossen, J. H. (2012). Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked R genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(5), 923-935.

Kumar, G. R., Sakthivel, K., Sundaram, R. M., Neeraja, C. N., Balachandran, S. M., Rani, N. S., ... & Madhav, M. S. (2010). Allele mining in crops: prospects and potentials. *Biotechnology Advances*, 28(4), 451-461.

Monino-Lopez, D., Nijenhuis, M., Kodde, L., Kamoun, S., Salehian, H., Schentsnyi, K., ... & Vossen, J. H. (2021). Allelic variants of the NLR protein Rpi-chc1 differentially recognize members of the *Phytophthora infestans* PexRD12/31 effector superfamily through the leucine-rich repeat domain. *The Plant Journal*, 107(1), 182-197.

Paluchowska, P., Śliwka, J., & Yin, Z. (2022). Late blight resistance genes in potato breeding. *Planta*, 255(6), 1-20.

Pankin, A. A., Sokolova, E. A., Rogozina, E. V., Kuznetsova, M. A., Deahl, K. L., Jones, R. W., & Khavkin, E. E. (2010). Searching among wild *Solanum* species for

homologues of RB/Rpi-blb1 gene conferring durable late blight resistance. *PPO-Special Report*, 14, 277-284.

Pankin, A., Sokolova, E., Rogozina, E., Kuznetsova, M., Deahl, K., Jones, R., & Khavkin, E. (2011). Allele mining in the gene pool of wild *Solanum* species for homologues of late blight resistance gene RB/Rpi-blb1. *Plant Genetic Resources*, 9(2), 305-308.

Park, T. H., Foster, S., Brigneti, G., & Jones, J. D. (2009). Two distinct potato late blight resistance genes from *Solanum berthaultii* are located on chromosome 10. *Euphytica*, 165(2), 269-278.

Park, T. H. (2013). Genetic diversity of resistance to *Phytophthora infestans* derived from *Solanum venturii*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 54(5), 422-429.

Song, J., Bradeen, J. M., Naess, S. K., Raasch, J. A., Wielgus, S. M., Haberlach, G. T., ... & Jiang, J. (2003). Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America*, 100(16), 9128-9133.

Sokolova, E., Pankin, A., Beketova, M., Kuznetsova, M., Spiglazova, S., Rogozina, E., & Khavkin, E. (2011). SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Genetic Resources*, 9(2), 309-312.

Srivastava, A. K., Singh, B. P., Kaushik, S. K., Bhardwaj, V., Tiwari, J. K., & Sharma, S. (2018). Identification of late blight resistance gene homologues in wild *Solanum* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88(2), 789-796.

Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America*, 101(30), 11030-11035.

- Tan, M. Y., Hutten, R. C., Visser, R. G., & van Eck, H. J. (2010). The effect of pyramiding *Phytophthora infestans* resistance genes R Pi-mcd1 and R Pi-ber in potato. *Theoretical and applied genetics*, 121(1), 117-125.
- Tiwari, J. K., Devi, S., Sharma, S., Chandel, P., Rawat, S., & Singh, B. P. (2015). Allele mining in *Solanum* germplasm: cloning and characterization of RB-homologous gene fragments from late blight resistant wild potato species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 33(5), 1584-1598.
- Van Der Vossen, E., Sikkema, A., Hekkert, B. T. L., Gros, J., Stevens, P., Muskens, M., ... & Allefs, S. (2003). An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *The Plant Journal*, 36(6), 867-882.
- van der Vossen, E. A., Gros, J., Sikkema, A., Muskens, M., Wouters, D., Wolters, P., & Allefs, S. (2005). The Rpi-blb2 gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi-1 gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *The Plant Journal*, 44(2), 208-222.
- Vleeshouwers, V. G. A. A., Raffaele, S., Vossen, J. H., Champouret, N., Oliva, R., Segretin, M. E., & Kamoun, S. (2011). Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 507-531.
- Vossen, J. H., van Arkel, G., Bergervoet, M., Jo, K. R., Jacobsen, E., & Visser, R. G. (2016). The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is an Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(9), 1785-1796.
- Wang, M., Allefs, S., van den Berg, R. G., Vleeshouwers, V. G., van der Vossen, E. A., & Vosman, B. (2008). Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of Rpi-blb1 are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(7), 933-943.