



Enfoque actual en resistencia al tizón tardío de la papa

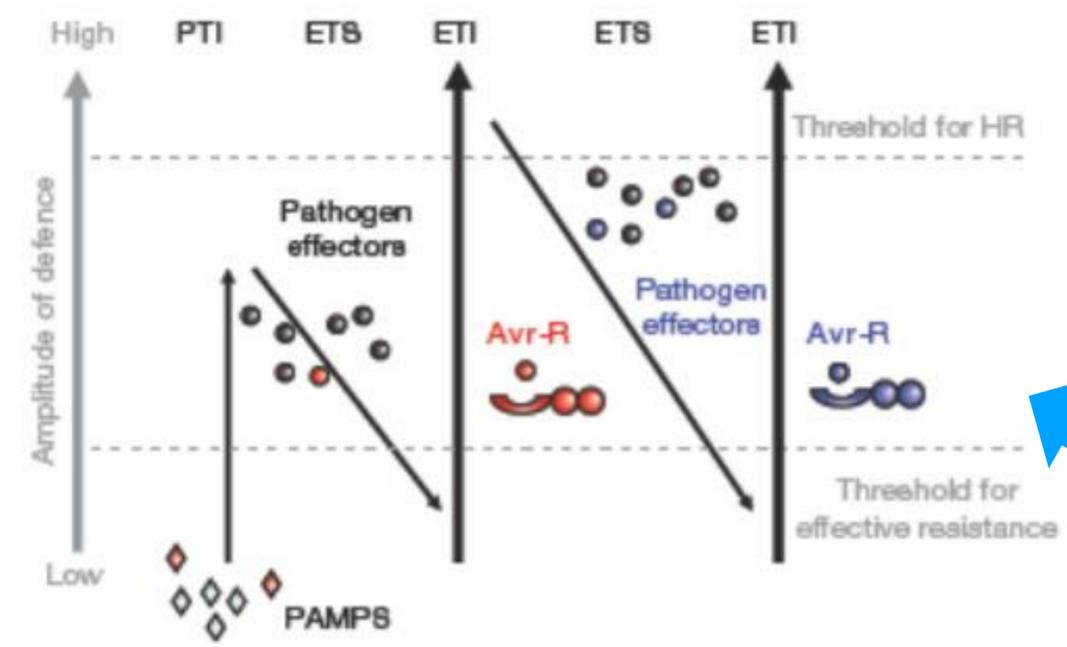
Manuel Muñoz¹, Hanelle Lindquitz-Kreuze², Carolina Folch¹

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA CRI Remehue,

²Centro Internacional de la Papa, CIP

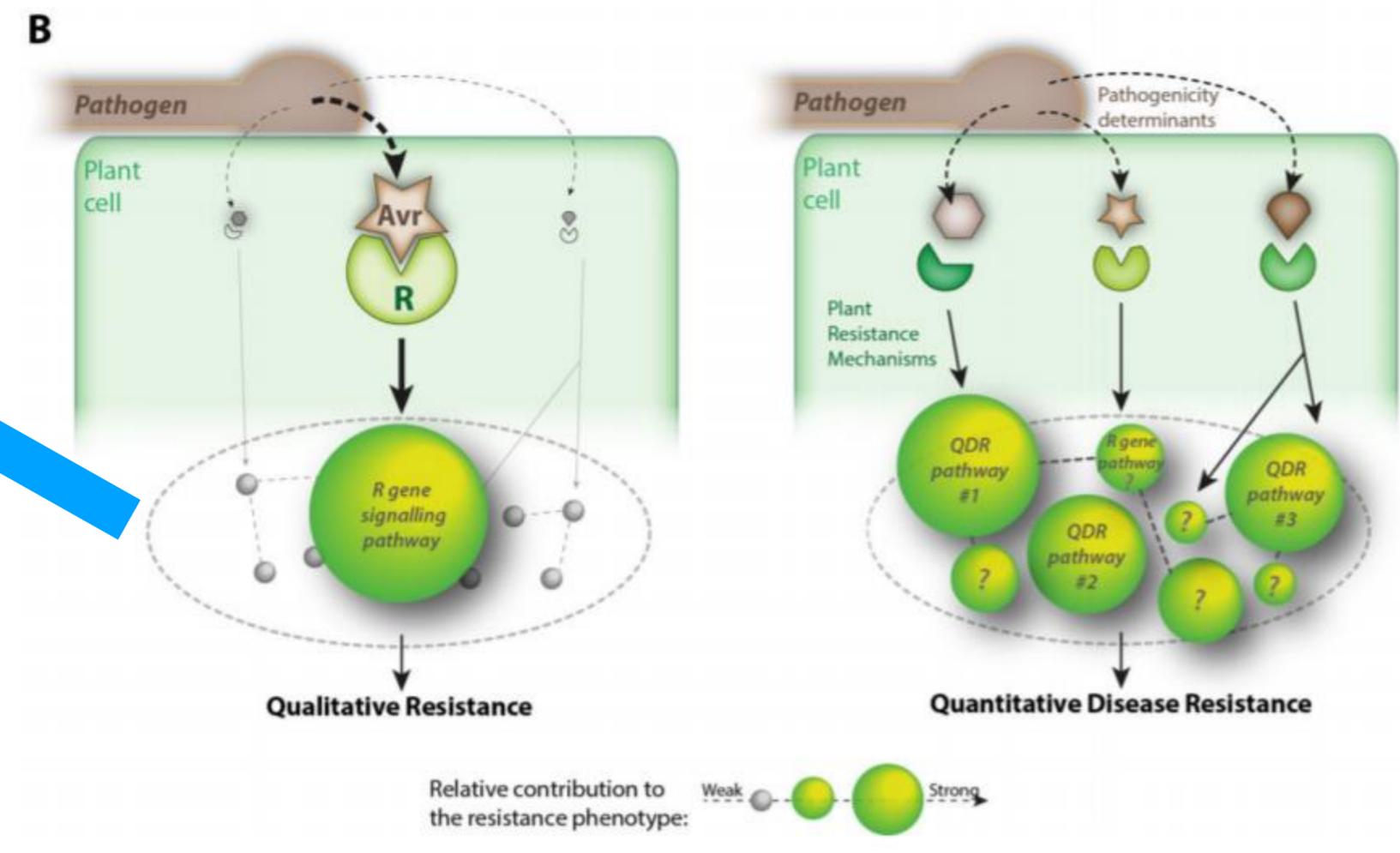
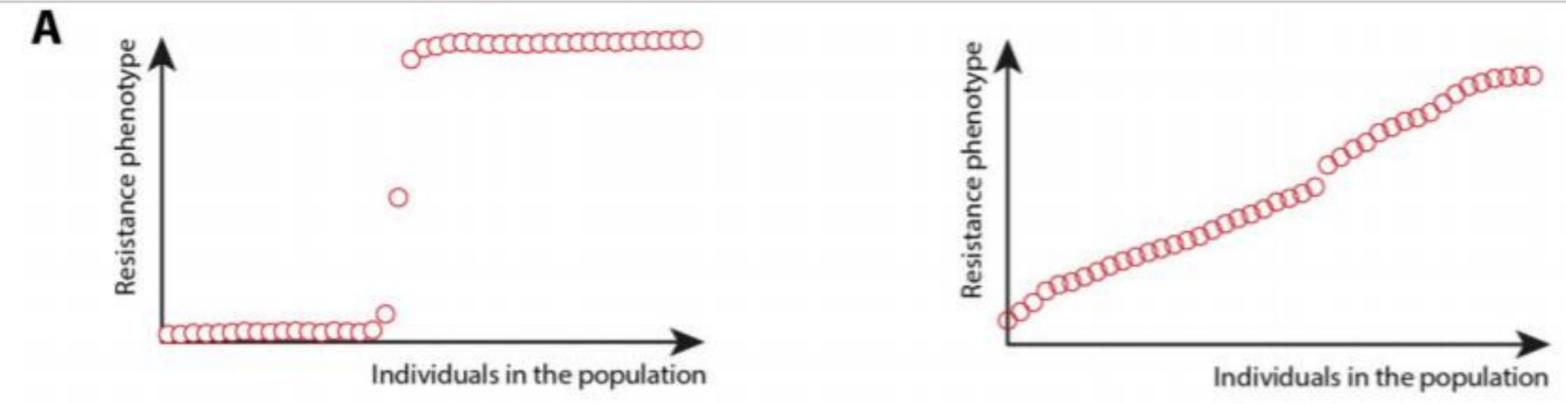
manuel.munozd@inia.cl

Tipos de resistencia a patógenos en plantas



Jones and Dangl. 2006.
Nature 444: 323-329

- Resistencia cualitativa versus cuantitativa en plantas



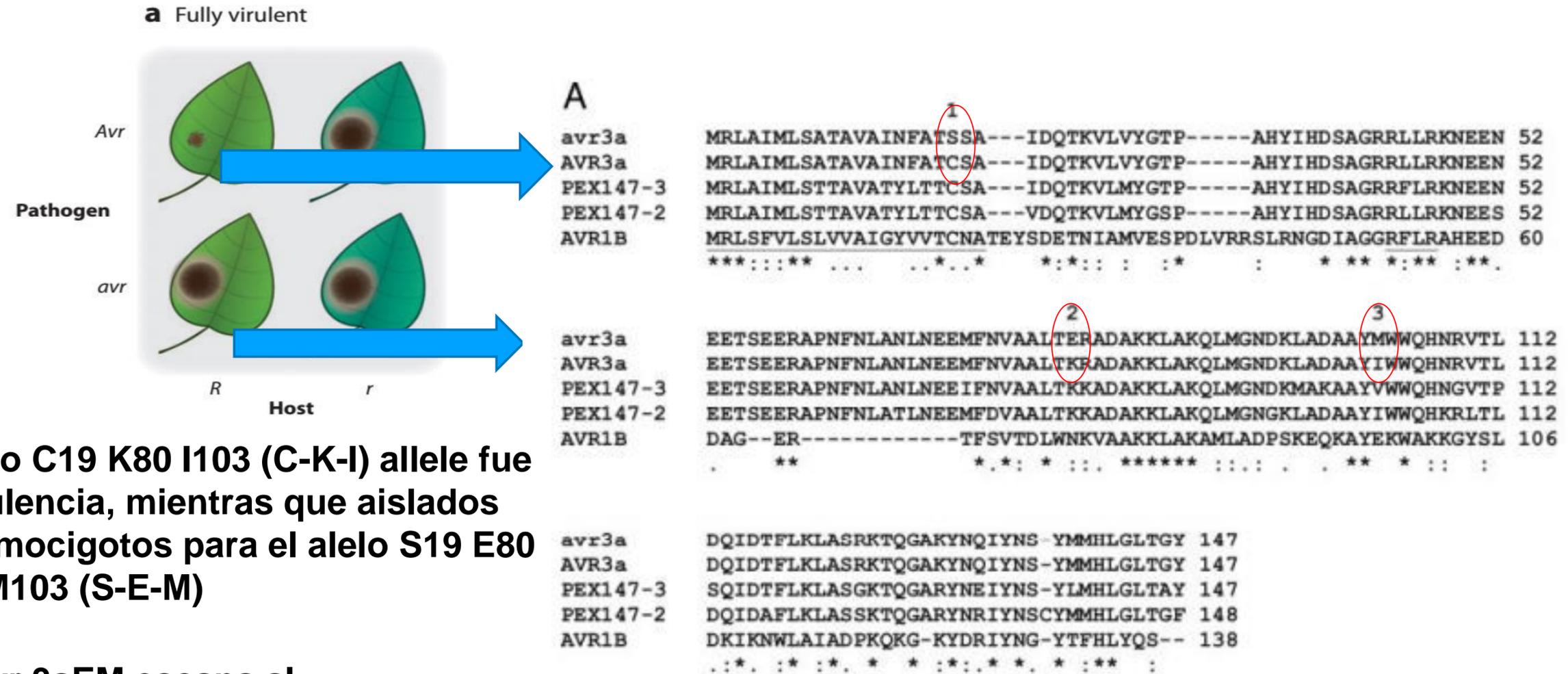
Cualitativa

Cuantitativa

Roux et al., 2014.
Molecular plant pathology



Genes R mayores (NB-LRR): El patógeno puede mutar y evadir la detección por los genes R



La presencia del alelo C19 K80 I103 (C-K-I) allele fue asociada con avirulencia, mientras que aislados virulentos fueron homocigotos para el alelo S19 E80 M103 (S-E-M)

avr 3aEM escapa al reconocimiento de R3a

Armstrong *et al.*, 2005

Incorporación de un gen R mayor como estrategia de resistencia fue abandonada temporalmente



Table 1. Significance¹ of the effect of marker loci on foliage and tuber blight resistance, vigour and earliness (maturity).

Chrom.	Marker locus	Foliage Blight	Tuber Blight	Vigour	Earliness (maturity)
II	STM2022	–	–	–	*
III	GP25	***	–	–	–
IV	GP180	–	–	–	*
V	GP21	***	**	***	***
	STpto	***	**	***	***
	GP179	***	**	***	***
	STM0013	***	**	***	***
VI	GP79	*	–	–	–
	STM0001	*	–	–	–
	STM0019	*	–	–	–
	STM1100	**	–	–	–
	wun-2	*	–	*	–
VII	STM3009	–	–	–	*
	STM2013	–	–	–	*
	STM1003	–	*	–	–
VIII	STM3015	–	–	–	*
	STM1056	–	–	–	**
	STM0024	–	–	–	**
IX	prp	*	–	–	–
	STM1102	*	–	–	–
XI	GP250	–	–	*	–

¹Significance of marker association determined on genotypic classes using the Kruskal-Wallis K-test where: – not-significant; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Estrategia: Acumulación de Genes menores de efecto aditivo

Difícil de lograr un nivel de resistencia que se aproxime al que brindan los genes R mayores (que no han sido superados)

Resistencia de campo depende de :

- 1) Estado de desarrollo y condición fisiológica (madurez, vigor)
- 2) Dinámica de población del patógeno a lo largo del ciclo de la planta en un ambiente
- 3) Alelos de genes R y alelos supresores de genes R
- 4) Capacidad de respuesta a estrés general

Difícil interpretar el aporte real a la resistencia de campo de regiones del genoma con efecto menor, difícil integrar numerosos genes en un clon o variedad



Re valoración de genes R con efecto mayor

- Piramidar genes R de amplio espectro y teóricamente más durables

- EJ: R1 + R2 + R3 + R8 + R9 

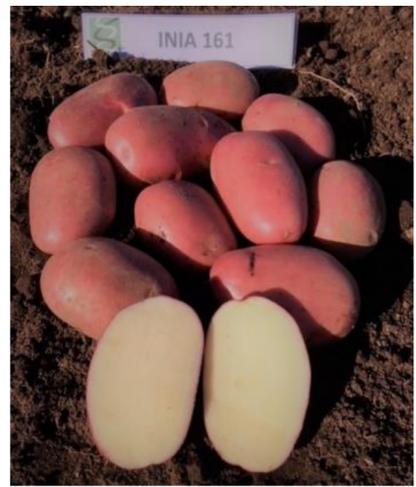


Table 1 Classification of cloned *R* genes based on their genomic location, recognition specificity and resistance spectrum

<i>R</i> gene	Chromosome	Cluster ^a	Avr	Spectrum ^b
<i>Rpi-blb3</i>	4	C12	<i>Avr2</i>	Intermediate
<i>R2</i>	4	C12	<i>Avr2</i>	Intermediate
<i>Rpi-abpt</i>	4	C12	<i>Avr2</i>	Intermediate
<i>Rpi-edn1</i>	4	C12	<i>Avr2</i>	Intermediate
<i>R1</i>	5	C24	<i>Avr1</i>	Narrow
<i>Rpi-blb2</i>	6	C28	<i>Avrblb2</i>	Broad
<i>Rpi-blb1</i>	8	C40–C41	<i>Avrstol</i>	Broad
<i>Rpi-pta1</i>	8	C40–C41	<i>Avrstol</i>	Broad
<i>Rpi-sto1</i>	8	C40–C41	<i>Avrstol</i>	Broad
<i>Rpi-vnt1.1</i>	9	C42	<i>Avrvnt1</i>	Broad
<i>Rpi-edn2</i>	9	C42	<i>Avrblb2</i>	Broad
<i>R9a</i>	9	C42	<i>Avrblb2</i>	Broad
<i>Rpi-mcq1</i>	9	C42	<i>Avr2</i>	Intermediate
<i>R8</i>	9	C43	<i>Avr8</i>	Broad
<i>Rpi-smira2</i>	9	C43	<i>Avr8</i>	Broad
<i>Rpi-chc1</i>	10	C46	<i>Avrchc1</i>	Broad
<i>Rpi-tar1</i>	10	C46	<i>Avrchc1</i>	Broad
<i>Rpi-ber</i>	10	C46	<i>Avrchc1</i>	Broad
<i>Rpi-chc2</i>	10	C46	<i>Avrchc2</i>	Narrow
<i>R3a</i>	11	C53–C54	<i>Avr3a</i>	Narrow
<i>R3b</i>	11	C55	<i>Avr3b</i>	Narrow

^a Strongest homology to clusters as described by Jupe et al. (2013)

^b Broad-spectrum resistance = plants harbouring this *R* gene are resistant to over 80% of the *P. infestans* isolates from the Netherlands. Narrow-spectrum resistance = plants harbouring this *R* gene are resistant to less than 10% of the *P. infestans* isolates from the Netherlands

**Algunos genes R otorgan
resistencia de alto
espectro para aislados
en Países Bajos**

Haverkort et al., 2016



MaR8 y MaR9: Genotipos portadores de múltiples genes R, son interfértiles con material tetraploide

Theor Appl Genet (2012) 124:923–935
DOI 10.1007/s00122-011-1757-7

ORIGINAL PAPER

Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants *MaR8* and *MaR9* is conferred by multiple stacked *R* genes

Hyoun-Joung Kim · Heung-Ryul Lee · Kwang-Ryong Jo ·
S. M. Mahdi Mortazavian · Dirk Jan Huigen · Bert Evenhuis ·
Geert Kessel · Richard G. F. Visser · Evert Jacobsen · Jack H. Vossen

**MaR8 aporta genes *R3a*, *R3b*, *R4* y *R8*
MaR9 aporta genes *R1*, *R2*, *R3a*, *R3b*, *R4*, *R8* y *R9***

Kim et al., 2012

Table 2 On site *Pi* virulence monitoring

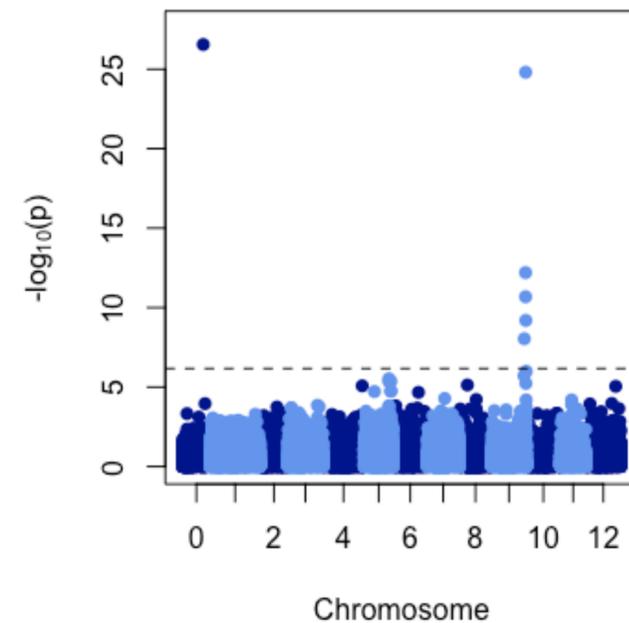
Year	Genotype	<i>R</i> gene content	Calculated delay in <i>Pi</i> symptoms (days)	Relative delay in <i>Pi</i> symptoms*	
2006	Bintje	–	4	a . .	
	MaR1	1	4	a . .	
	MaR2	2	8	a b .	
	MaR3	3a, 3b	4	a . .	
	MaR4	4	7	a b .	
	MaR8	3a, 3b, 4, 8	37	. b .	
	MaR9	1, abpt1, 3a, 3b, 4, 8, 9	66	. . c	
	2007	Bintje	–	1	a . . .
		MaR1	1	2	a b . .
MaR2		2	2	a b . .	
MaR3		3a, 3b	2	a b . .	
MaR4		4	1	a . . .	
MaR8		3a, 3b, 4, 8	13	. . c d	
MaR9		1, abpt1, 3a, 3b, 4, 8, 9	No lesions**	. . . d	
2008		Bintje	–	3	a b . .
		MaR1	1	1	a . . .
	MaR2	2	3	a b . .	
	MaR3	3a, 3b	2	a b . .	
	MaR4	4	2	a b . .	
	MaR8	3a, 3b, 4, 8	24	. . c d	
	MaR9	1, abpt1, 3a, 3b, 4, 8, 9	15	. . c .	
	2009	Bintje	–	1	a . .
		MaR8	3a, 3b, 4, 8	113	. b .
MaR9		1, abpt1, 3a, 3b, 4, 8, 9	No lesions**	. . c	
Sarpo mira		3a, 3b, 4, smira1, 2	No lesions**	. . c	
2010	Bintje	–	3	a . . .	
	R8-18	8	50	. b . .	
	MaR8	3a, 3b, 4, 8	50	. b . .	
	Sarpo mira	3a, 3b, 4, smira1, 2	51	. b . .	
	R9-53	3a, 3b, 4, 8, 9	193	. . c .	
	MaR9	1, abpt1, 3a, 3b, 4, 8, 9	No lesions**	. . . d	

* The onset of *Pi* symptoms was compared between different genotypes using *T* test. Significant differences in delay between different genotypes are represented by different letters. If ranges of letters are overlapping there was no significant difference observed between the genotypes in this particular year
 ** In case no lesions were found on the tested plants during the course of the experiment, calculations for delay according to censor showed an unrealistic figure, which was replaced by “no lesion”

En teoría, varios genes R en un mismo genotipo ofrecen resistencia de amplio espectro

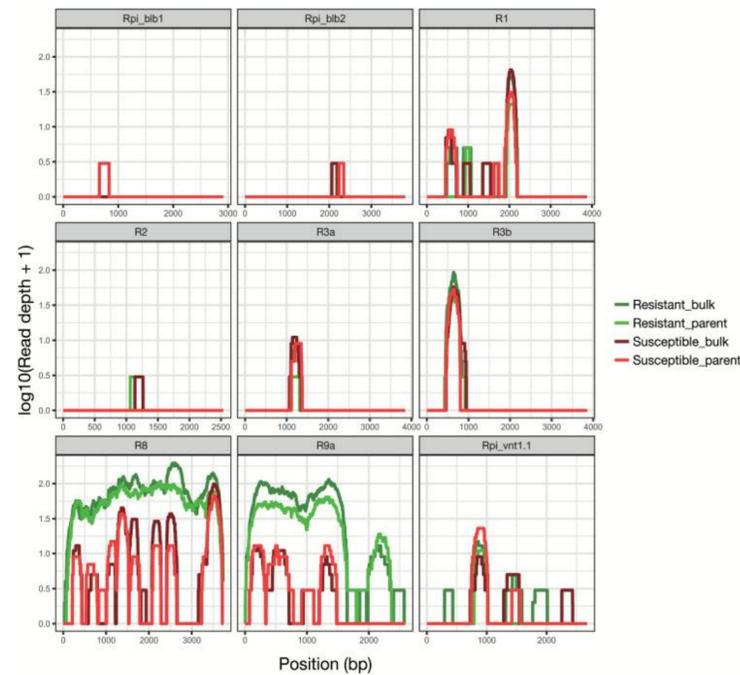
Kim et al., 2012

Late blight resistance in CIP breeding lines largely explained by a large effect QTL in chromosome 9

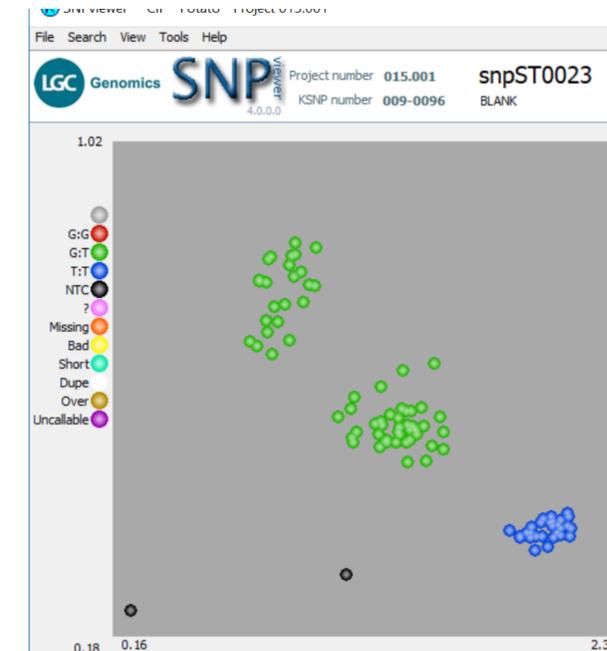


QTL in chromosome 9 in 4x breeding lines:

- Detected in Peru 2001-2006, 2014
- Also functional in China



Resistance gene R8 was identified in this QTL



KASP assay was developed for marker assisted selection

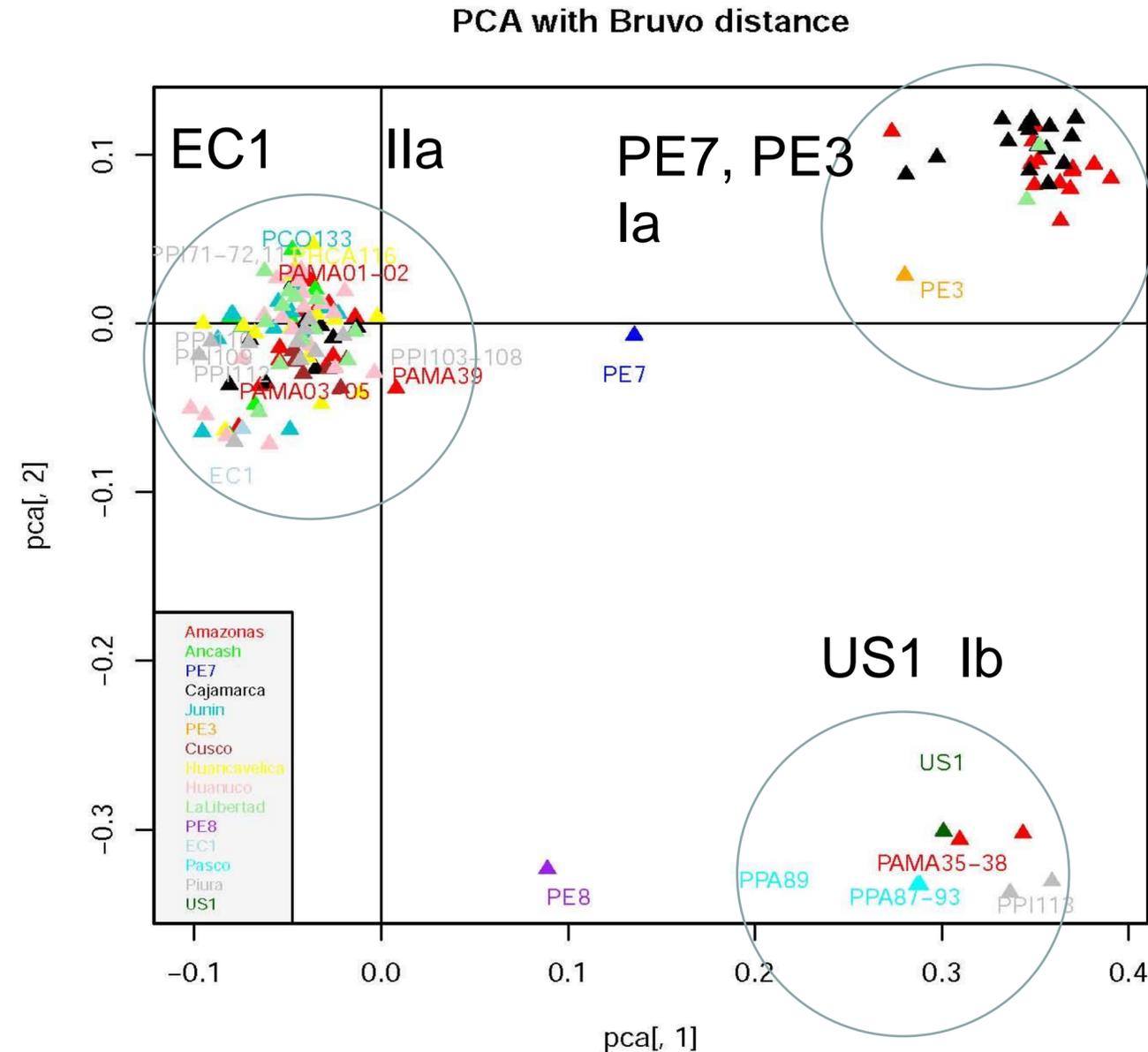
Lindqvist-Kreuze et al., 2014. *Phytopathology*. Phenotypic stability and genome-wide association study of late blight resistance in potato genotypes adapted to the highland tropics

Rui et al., 2018. *J. Exp. Bot.* Potato late blight field resistance from QTL dPI09c is conferred by NBS LRR gene R8.

Lindqvist-Kreuze et al., 2020. *BiorXiv*. Global multi-environment resistance QTL for foliar late blight resistance in tetraploid potato with tropical adaptation

Fuente: Hanelle Lindqvist-Kreuze, Centro Internacional de la Papa (CIP)

P. infestans population in Peru: survey 2016-2017



116 isolates tested for virulence to R1-R11 in DLA



15 isolates of EC1 lineage were virulent to R8

Lindqvist-Kreuze et al., 2019. Plant Pathology. Population structure and host range of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in Peru spanning two decades.

Fuente: Hanelle Lindqvist-Kreuze, Centro Internacional de la Papa (CIP)

Summary

- Field Resistance to late blight in CIP tetraploid breeding lines can be attributed to a QTL in chromosome 9
- *S. demissum* resistance gene R8 identified in this QTL suggesting that a single major gene may explain a large proportion of the field resistance
- Virulence to R8 detected in relatively low frequency in Peruvian *P. infestans* population

Fuente: Hanelle Lindqvist-Kreuze, Centro Internacional de la Papa (CIP)



RESEARCH
PROGRAM ON
Roots, Tubers
and Bananas





Marcadores asociados a genes R en variedades usadas en Chile

Variety	Golden nematode resistance	PVX resistance	Late blight resistance	PVY resistance	Light yellow flesh/ white flesh
Karú-INIA	<i>H1; Gro VI</i>				<i>Allele 3 BCH 2</i>
Patagonia-INIA	<i>Gro VI</i>				<i>Allele 3 BCH 2</i>
Pukará-INIA	<i>Gro VI; Gro 1-4</i>	<i>RX2</i>			<i>Allele 3 BCH 2</i>
Puyehue-INIA	<i>H1; Gro VI; Gro 1-4</i>		<i>R3a</i>		<i>Allele 3 BCH 2</i>
Yagana-INIA	<i>H1; Gro VI</i>	<i>RX2</i>			<i>Allele 3 BCH 2</i>
Fueguina-INIA	—		<i>R3a-R3b</i>		—
Ona-INIA	—		<i>R1</i>		<i>Allele 3 BCH 2</i>
Pehuenche-INIA	<i>Gro VI; Gro 1-4</i>		<i>R3a</i>		<i>Allele 3 BCH 2</i>
Purén-INIA	<i>Gro VI</i>		<i>R1; R3a; R3b</i>		—
Kuyén-INIA	—	<i>RX2</i>	—		
Rayún-INIA	<i>H1; Gro VI</i>		<i>R3b</i>		
R87009-28				<i>Ry_{adg}</i>	

Table 4. Molecular markers associated with resistance genes and light yellow flesh color present in the released varieties.

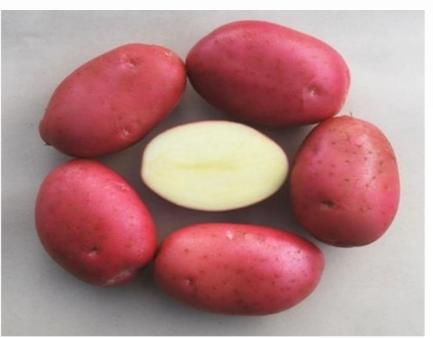
Muñoz, Folch, et al., 2018.



Resistencia varietal al tizón tardío de la papa



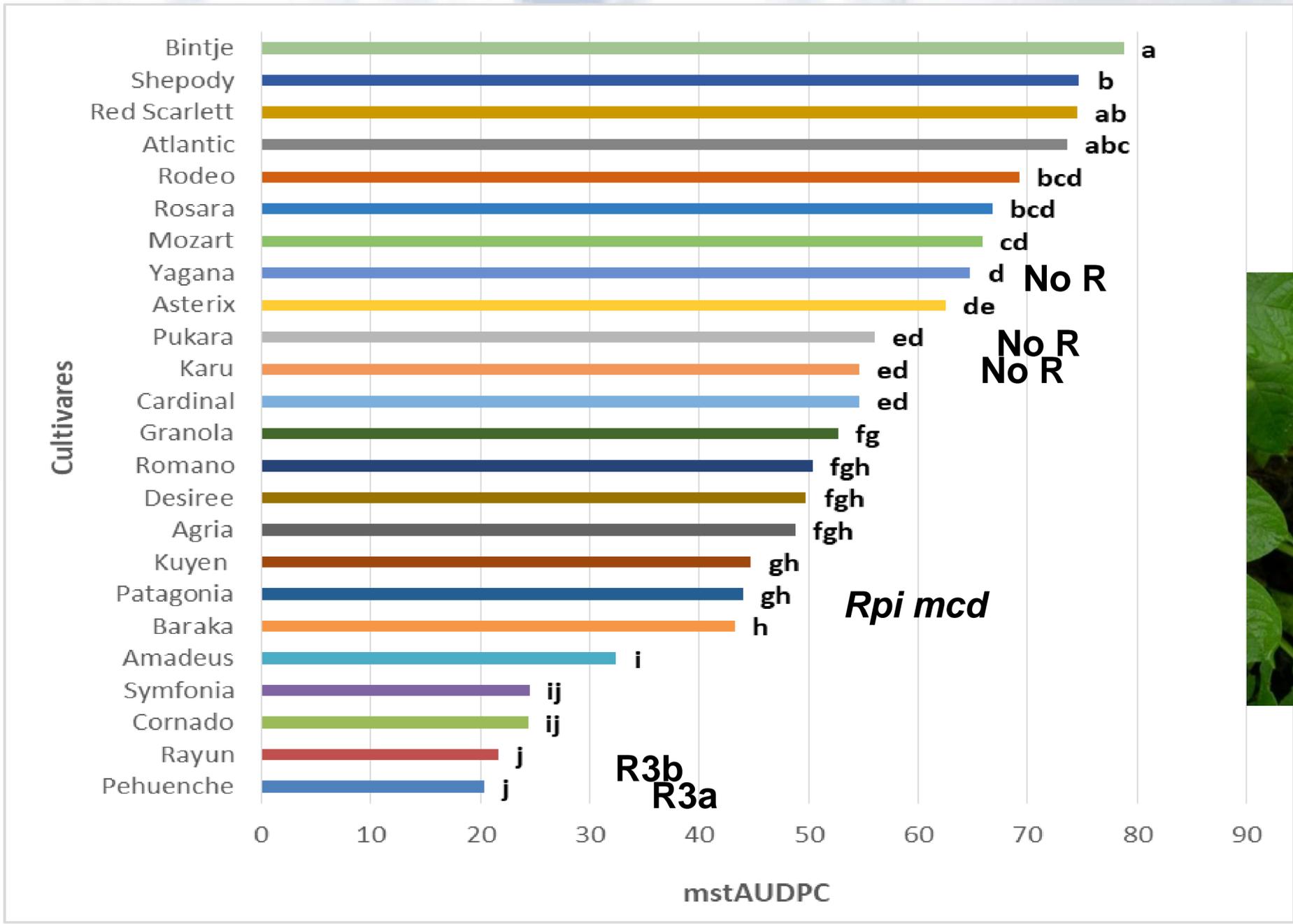
Yagana-INIA



Patagonia-INIA



Rayún-INIA



Resistencia varietal a Tizón tardío

Fuente: Ivette Acuña, 2018



Cruzamientos controlados para integrar múltiples genes R



Female parent		Male parent
MaR9	X	Karú
MaR9	X	Ona
MaR9	X	Pukará
MaR9	X	Rodeo
MaR9	X	Yagana
Karú	X	MaR8
Pukará	X	MaR8
Puyehue	X	MaR8
Yagana	X	MaR8



MaR8



MaR9

Donantes de genes R para tizón tardío

Se utilizaron los genotipos MaR8 y MaR9 como donantes de múltiples genes R hacia individuos segregantes obtenidos desde cruzamientos controlados con otras variedades, de manera de generar líneas experimentales mejoradas portadoras de múltiples genes R.



Resistencia de segregantes portadores de distintos genes R para resistencia a tizón tardío

a. **Combinar múltiples genes R** que confieren resistencia al tizón tardío en nuevas líneas de programa de mejoramiento genético de papa de INIA Remehue, Chile.

b. **Evaluar el nivel de Resistencia a *P. infestans* en genotipos portadores de diferentes genes R** heredados de la hibridación entre MaR8 y MaR9 con variedades de buen desempeño agronómico



Donante de 7 genes R de *Solanum demissum*

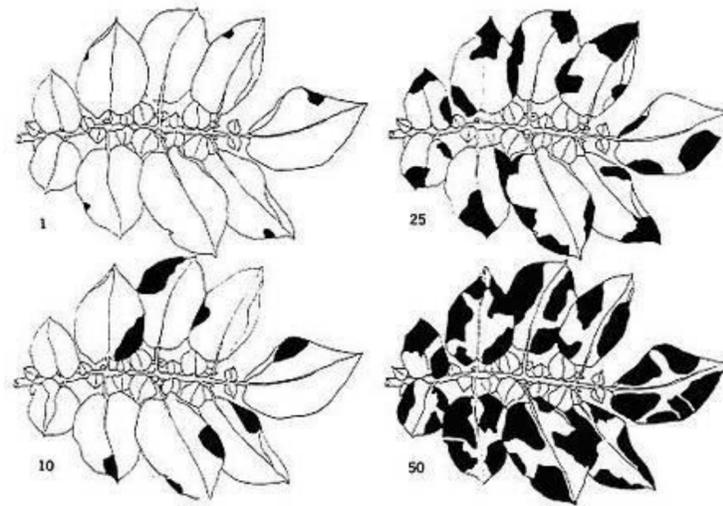
	Female parent		Male parent
10	MaR9	X	Karú
	MaR9	X	Ona
	MaR9	X	Pukará
	MaR9	X	Rodeo
	MaR9	X	Yagana
	Karú	X	MaR8
	Pukará	X	MaR8
	Puyehue	X	MaR8
	Yagana	X	MaR8

Donante de 4 genes R de *Solanum demissum*

90 segregantes fueron seleccionados para extracciones de ADN y evaluaciones fenotípicas en una primera temporada.



Implementación de marcadores moleculares y evaluaciones fenotípicas



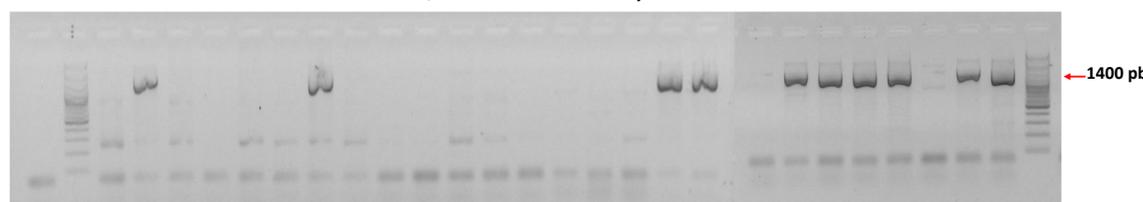
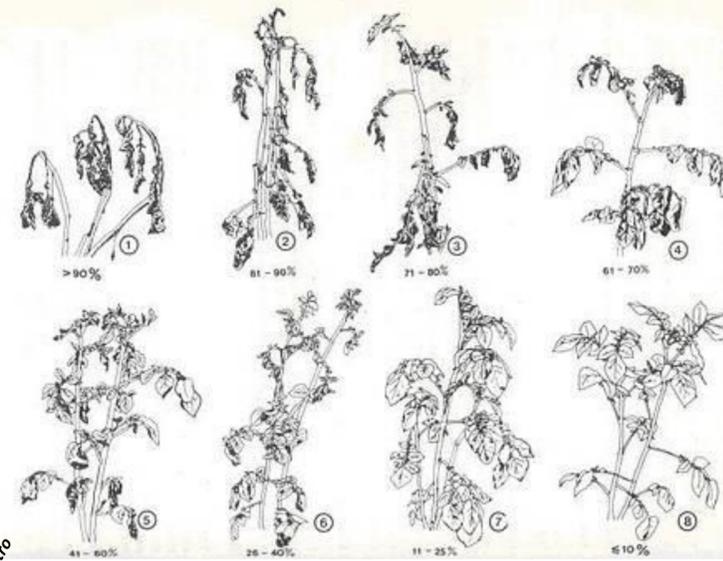
Las lecturas de la enfermedad fueron tomadas en base al porcentaje del follaje infectado durante el desarrollo.

Estimación visual comparando partes verdes y no verdes de la planta

Las lecturas son integradas a un área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC)



C. Marcador INIA Karu-INIA Ona-INIA Yagana-INIA Patagonia-INIA Pukará-INIA Purén-INIA Puyehue-INIA Fueguite-INIA Desiréé Craig's Royal Bintje laerla Monalisa Volumia Salline WR1 campo WR1 in vitro WR1.2.3 in vitro WR2.3.4 in vitro SR1.2.3 in vitro SR1.3 in vitro SR1.3.4 in vitro WR9 campo WR9 in vitro



Gel de agarosa al 1.5% en TBE 0.5X para el marcador molecular Rpi_{dmc}R1. Se observa la amplificación de un fragmento de aproximadamente 1400 pb, tamaño correspondiente a la amplificada por este marcador para el gen de resistencia _{dmc}R1 de resistencia a tizón tardío

Reconocer la presencia de marcadores, sus genes asociados y las combinaciones en cada clon derivado de la cruce



Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC)

El valor AUDPC es calculado usando la siguiente fórmula, donde t=tiempo de cada lectura; y=porcentaje de follaje afectado en cada lectura y n=número de lecturas

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Amin et al., 2013. Journal of Plant Pathology and microbiology

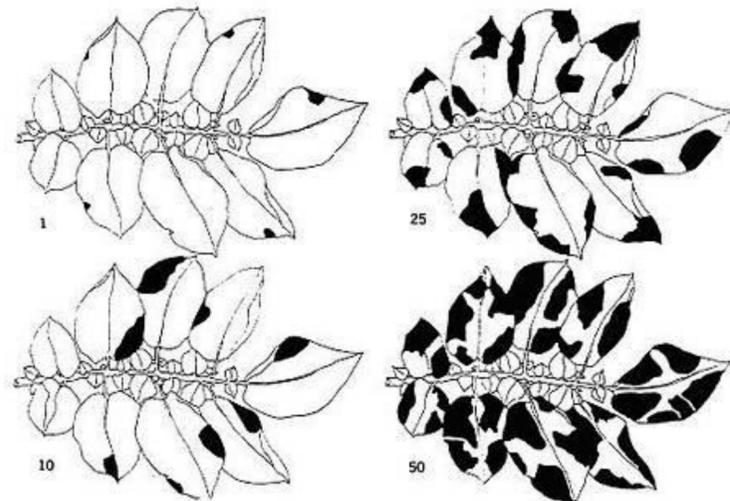
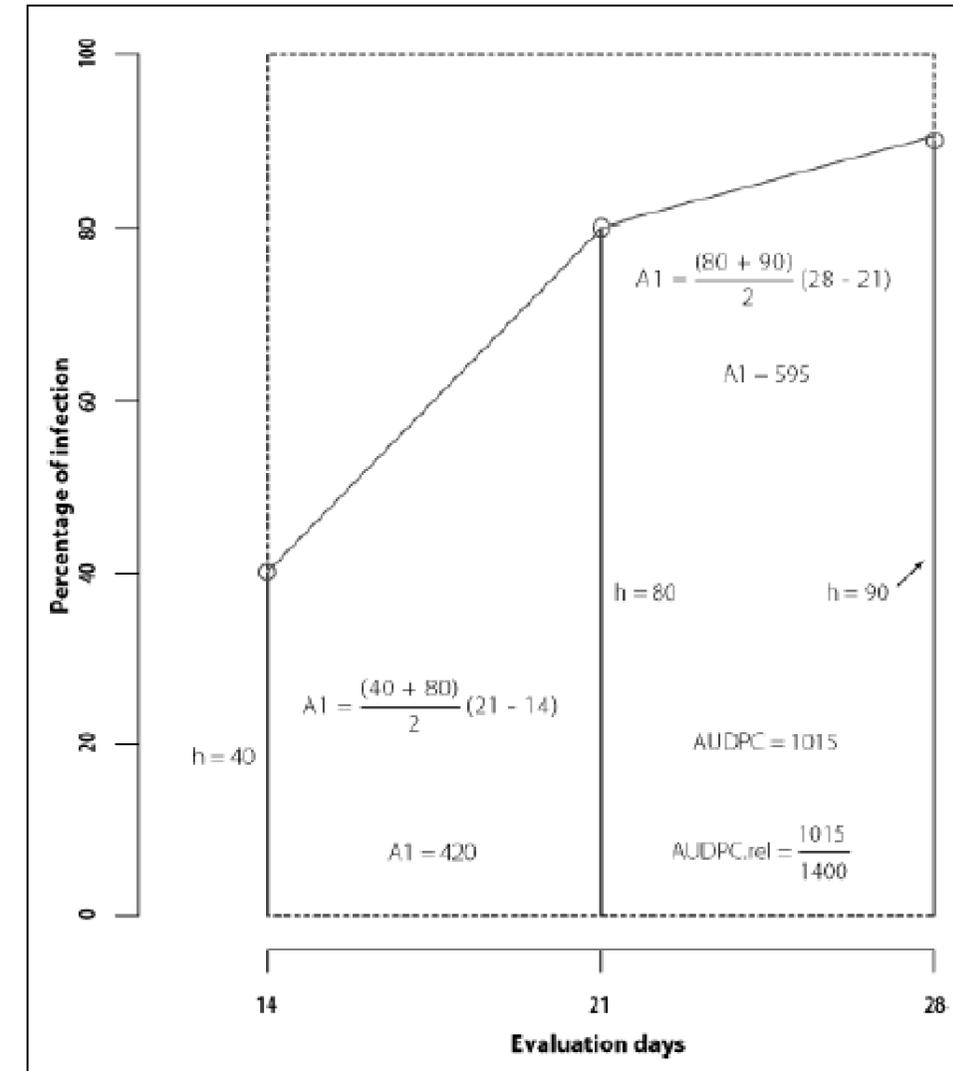


Figure 1. Graphic representation of the AUDPC.



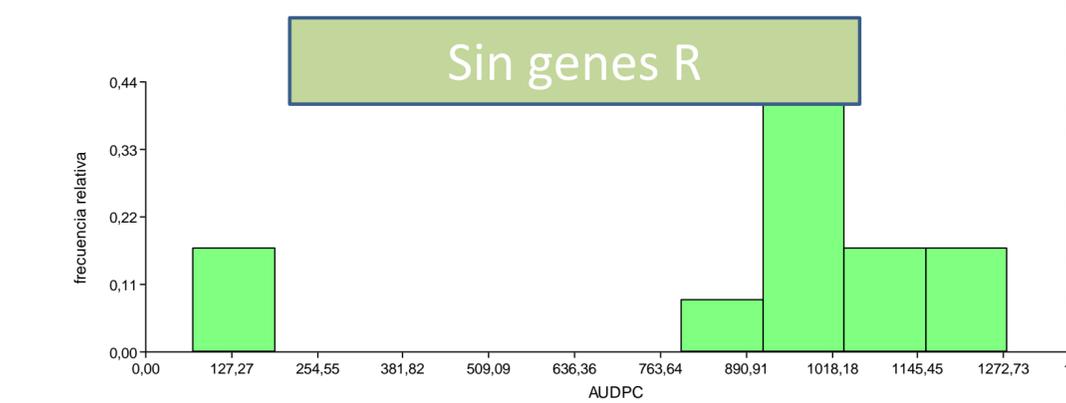
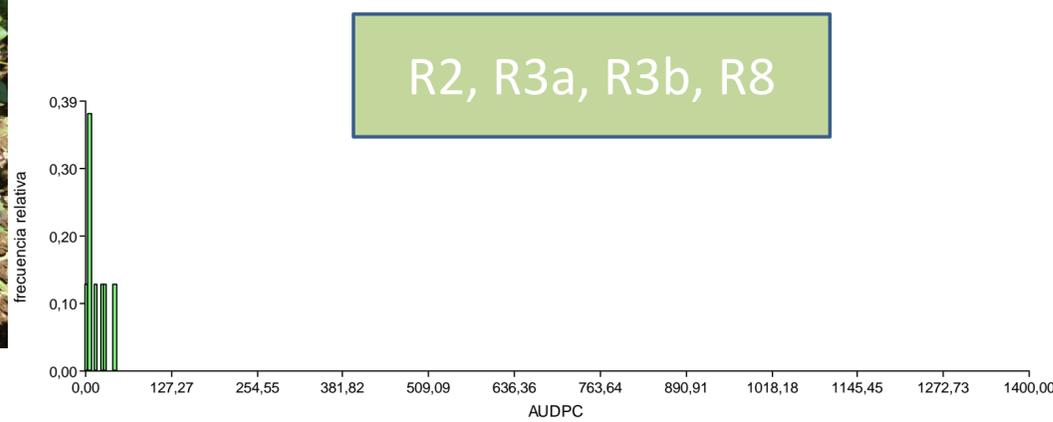
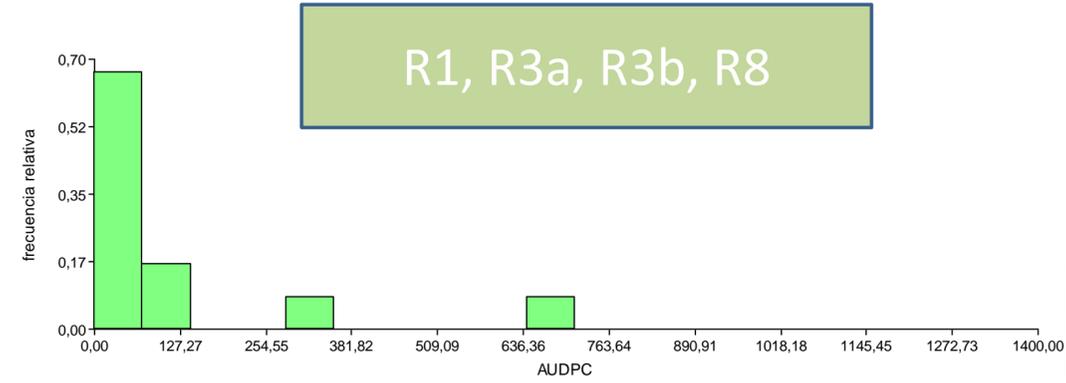
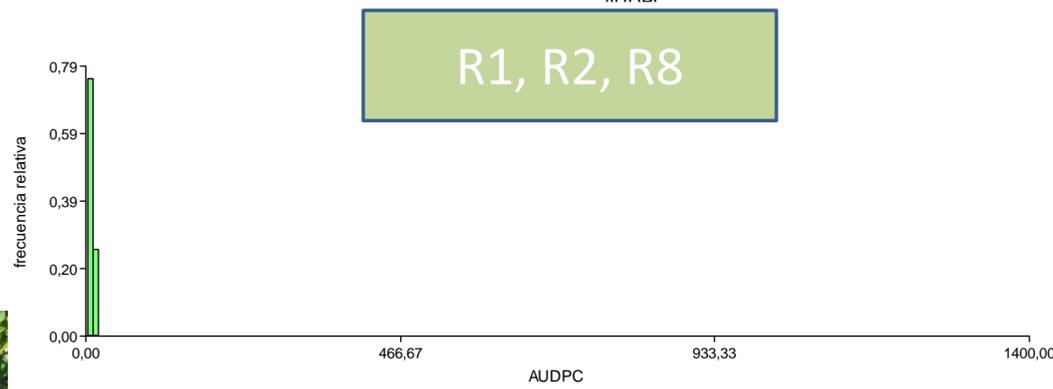
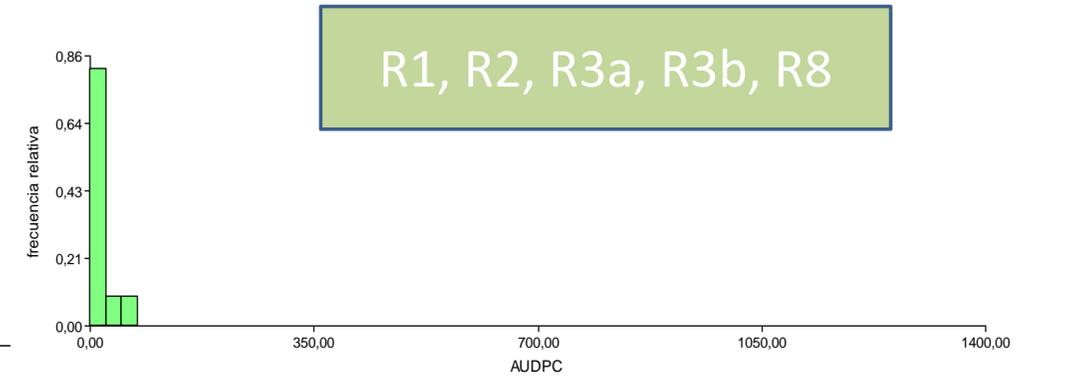
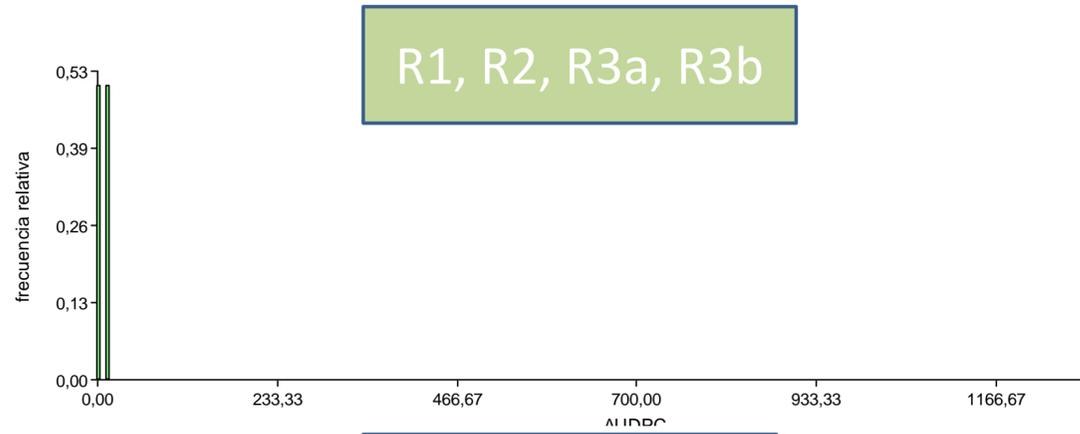
Data analysis

AUDPC or percent of infection values can be analyzed using variance analysis (ANOVA) after exploration of the data through simple statistics such as means, standard errors, frequency distributions and box plots.

International Potato Center, 2007



Histogramas de frecuencias de valores AUDPC para distintas combinaciones de genes R en segregantes





Valores de AUDPC relativos susceptibles no portadores de genes R y categorías de resistencia

Combinación	Promedio RAUDPC	SD AUDPC	Categoría*
R1, R3a, R8	0,000	0,000	Muy resistente
R2	0,000	0,000	Muy resistente
R2, R8	0,003	0,003	Muy resistente
R1, R2, R3a, R3b	0,008	0,011	Muy resistente
R1, R2, R8	0,009	0,007	Muy resistente
R1, R2, R3a, R3b, R8	0,013	0,003	Muy resistente
R2, R3a, R3b, R8	0,017	0,015	Muy resistente
R1, R3a, R3b, R8	0,110	0,209	Muy resistente
R3a, R3b, R8	0,111	0,124	Muy resistente
R8	0,184	0,238	Resistente
R3a , R8	0,271	0,000	Resistente
R3a, R3b	0,672	0,530	Susceptible
R3a	1,307	0,000	Muy susceptible

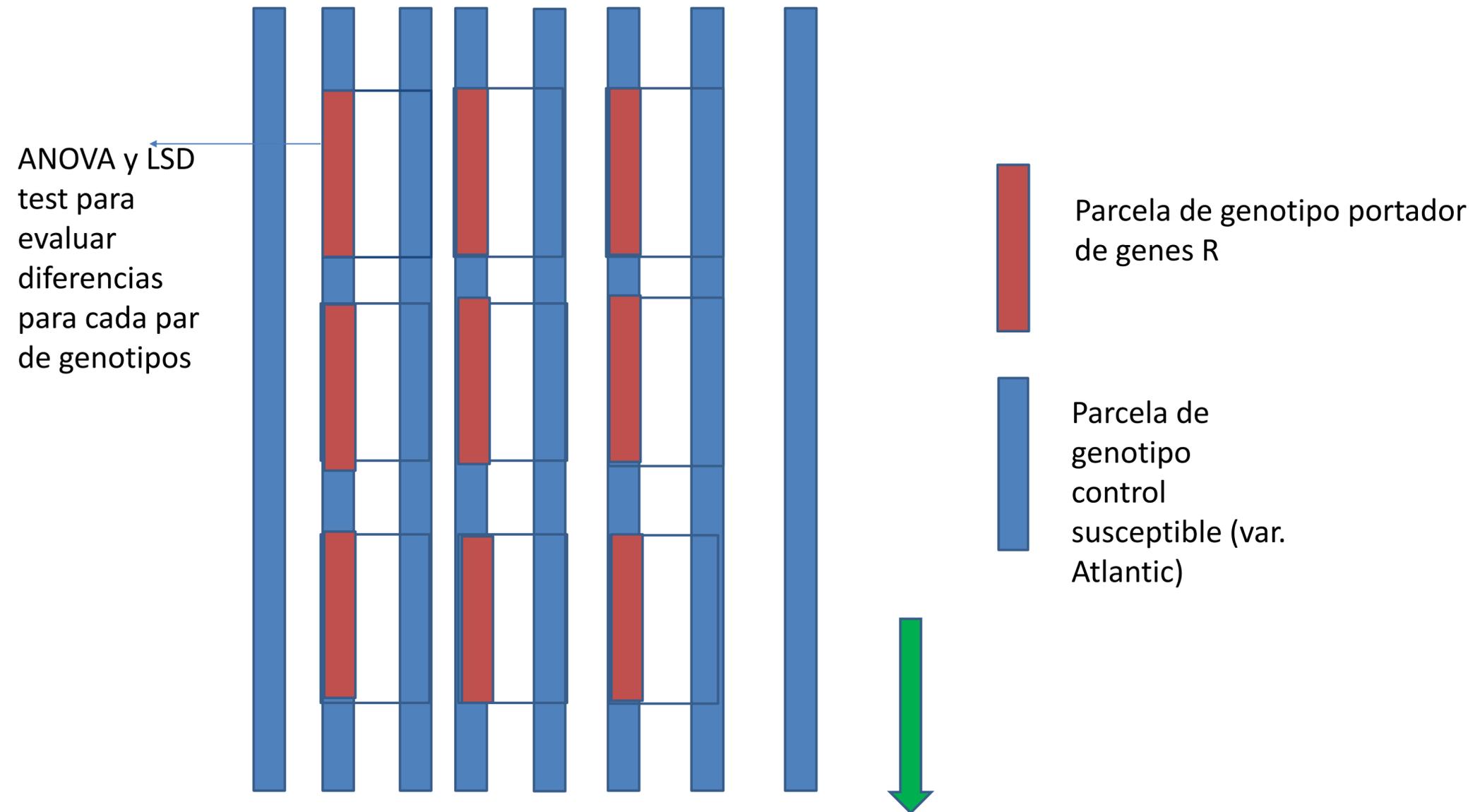
* Criterio según Mendoza (2010)

AUDPC portadores R/AUDPC controles sin genes R



Segunda temporada de evaluaciones fenotípicas

Tubérculos descendientes de 71 genotipos segregantes se multiplicaron y fueron dispuestos en parcelas dispuestas frente a una parcela de una variedad control susceptible, en tres réplicas



En ambas temporadas, se indujo condiciones predisponentes para el ataque de la enfermedad y no se aplicaron fungicidas.



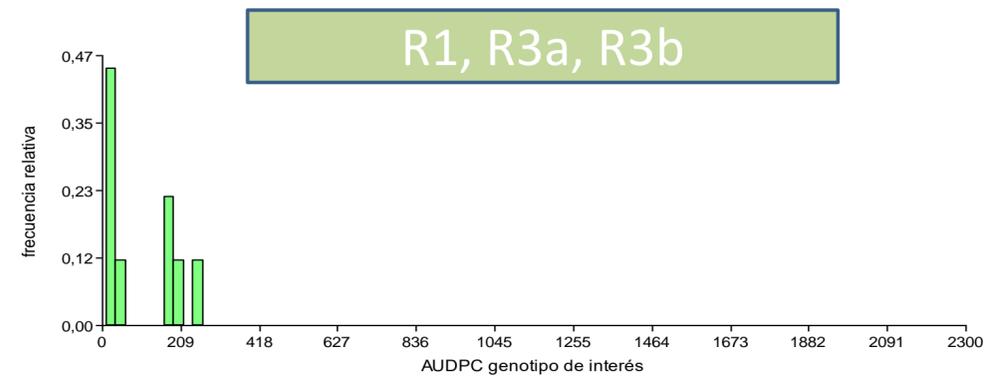
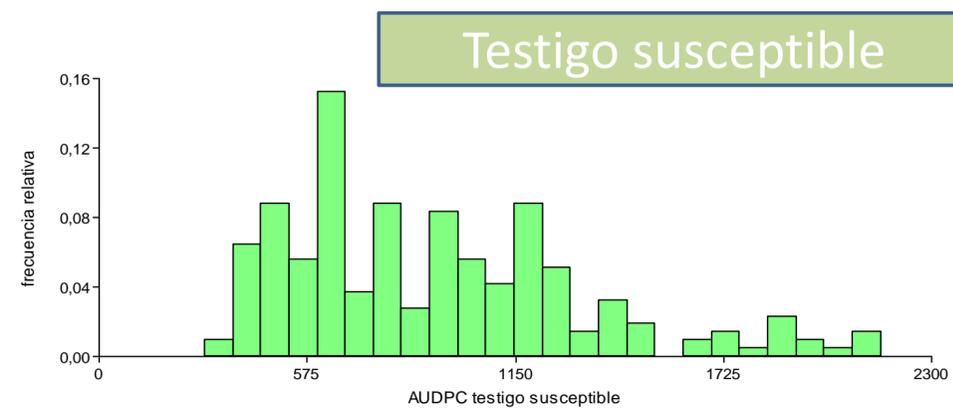
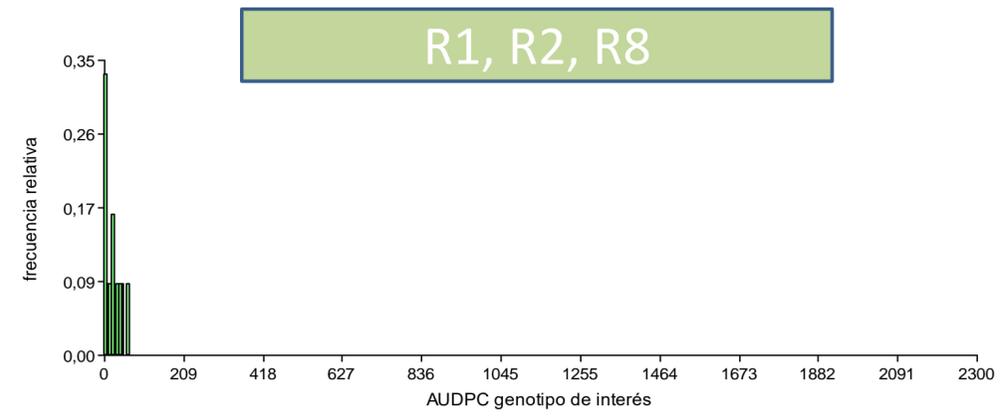
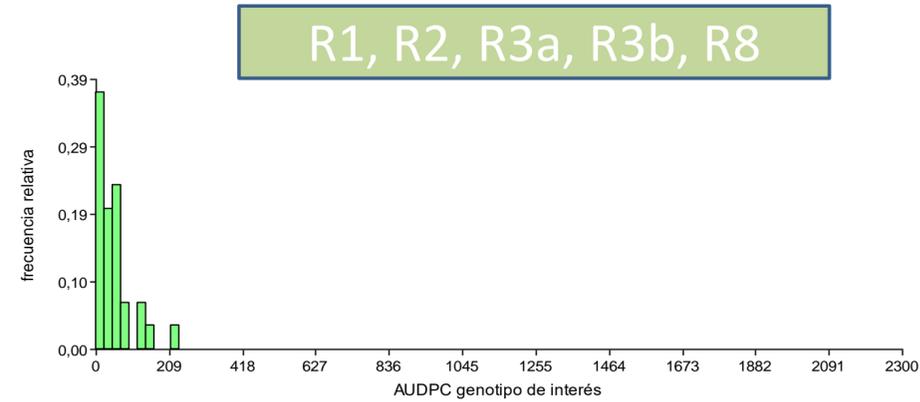
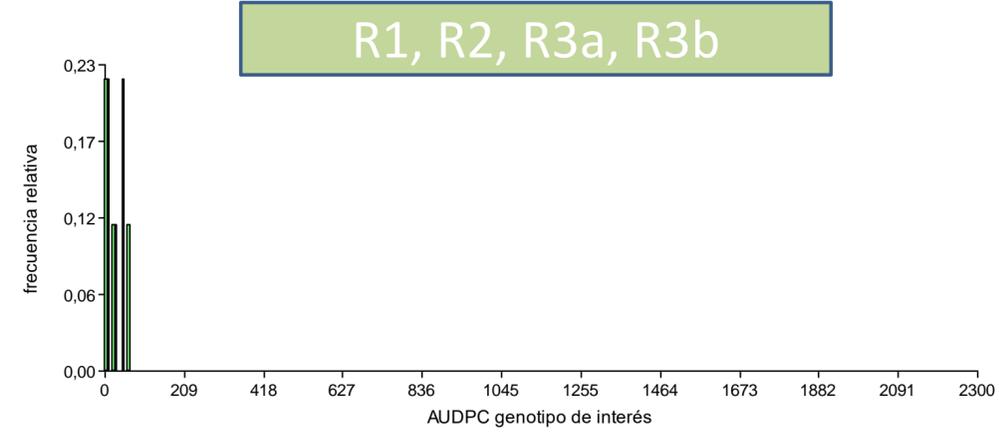
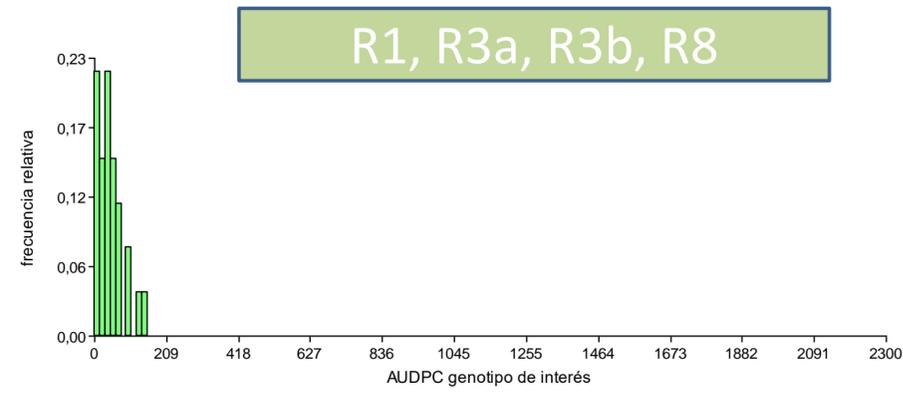


AUDPC
Calculado desde la
estimación del
porcentaje de follaje
afectado





Histogramas de frecuencias de valores AUDPC para distintas combinaciones de genes R





Valores de AUDPC relativos a controles susceptibles y categorías de resistencia

Combinaciones de genes R	Media RAUDPC	Grupos estadísticamente homogéneos	Categoría*
R1, R2, R8	0,025	def	muy resistente
R2	0,030	def	muy resistente
R1,R2,R3a,R3b	0,036	def	muy resistente
R1, R3a, R3b, R8	0,060	def	muy resistente
R1,R2,R3a,R3b,R8	0,061	def	muy resistente
R2, R3a,R3b,R8	0,095	cdef	muy resistente
R8	0,097	bcdef	muy resistente
R2, R8	0,110	cdef	muy resistente
R3a, R3b, R8	0,130	a b c d e f	muy resistente
R1, R3a, R3b	0,160	abcdef	resistente
R3a, R8	0,190	c d e f	resistente
R3a, R3b	0,200	a b c d e f	resistente
R3a	0,540	a	moderadamente susceptible

* Criterio según Mendoza (2010)

AUDPC portadores R / AUDPC controles susceptibles sin genes R



Frecuencia de clones significativamente más resistentes que el control susceptible para cada combinación de genes R detectada

Combinación	% de clones significativamente distintos del testigo
R3a	0,0
R3a, R3b, R8	61,5
R2,R8	66,7
R3a, R3b	66,7
R1, R3a, R3b, R8	88,9
R8	88,9
R1,R2,R3a,R3b,R8	90,0
R1,R2,R3a,R3b	100,0
R1,R2,R8	100,0
R1,R3a,R3b	100,0
R2	100,0
R2, R3a,R3b,R8	100,0
R3a, R8	100,0



Frecuencia de cada gen R y porcentaje de clones significativamente más resistentes que el control susceptible

Clones en cada categoría/Genes R	R1	R2	R3a	R3b	R8
Total portadores de cada gen R	29	28	53	51	56
% de clones con menor AUDPC que testigo susceptible*	93,1	92,9	81,1	82,4	83,9

* diferencia estadística $p < 0,05$

Progenitor donante de genes R	N° de clones evaluados en la progenie	% de clones con menor AUDPC que el testigo
Dif MaR8	23	69,6
Dif MaR9	47	89,4

Esquema operacional del PMG de papa

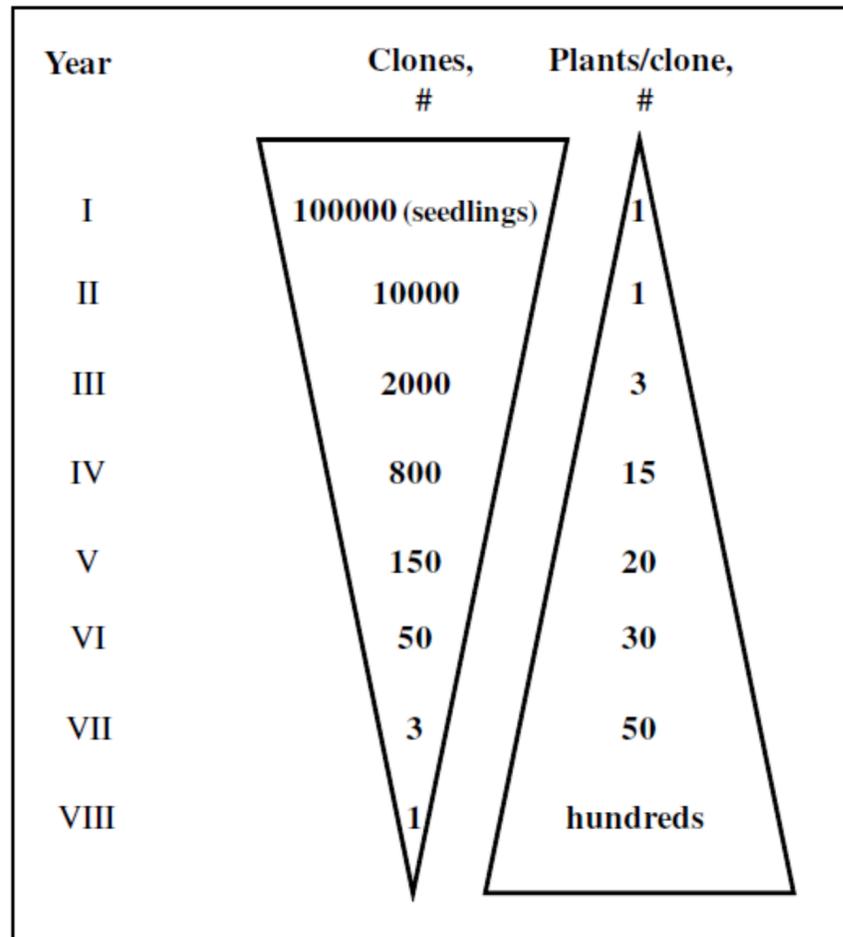
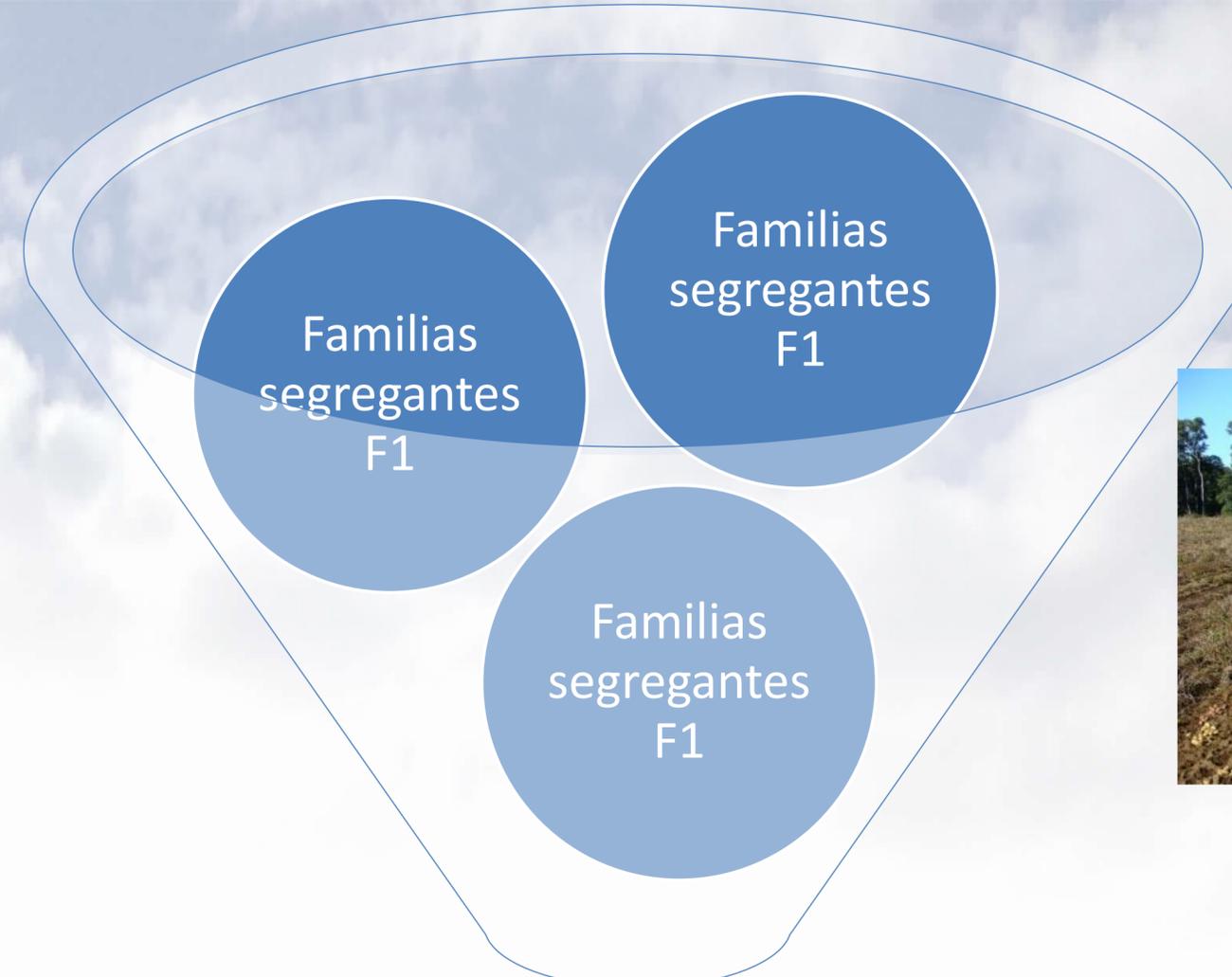


Figure 2-4 Schematic representation of a traditional potato breeding scheme. A hypothetical number of clones are evaluated each year and a hypothetical number of plants are grown for each clone. Following crosses between selected parental lines, each year a decreasing number of selected clones is evaluated in increasingly sophisticated field/laboratory trials.

Bradeen et al., 2011



Clones con tubérculos bien conformados, atractivos al consumidor para el mercado en fresco

Evaluación en ensayos y selección de líneas que presenten las características de mejora deseadas





Conformación de tubérculo en clones evaluados

Combinaciones de genes R	Clones por combinación	Media RAUDPC	Grupos estadísticamente homogéneos	Categoría*	% con conformación de tubérculo aceptable
R1, R2, R8	4	0,025	def	muy resistente	25
R2	1	0,03	def	muy resistente	0
R1,R2,R3a,R3b	3	0,036	def	muy resistente	0
R1, R3a, R3b, R8	9	0,06	def	muy resistente	11
R1,R2,R3a,R3b,R8	10	0,061	def	muy resistente	30
R2, R3a,R3b,R8	7	0,095	cdef	muy resistente	0
R8	9	0,097	bcdef	muy resistente	33
R2, R8	3	0,11	cdef	muy resistente	0
R3a, R3b, R8	13	0,13	a b c d e f	muy resistente	30
R1, R3a, R3b	3	0,16	abcdef	resistente	0
R3a, R8	1	0,19	c d e f	resistente	100
R3a, R3b	6	0,2	a b c d e f	resistente	0
R3a	1	0,54	a	moderadamente susceptible	0
Total	70				20

Conformación aceptable: Conformación regular, ovalada o redonda, ojos no profundos y ausencia de defectos externos o internos

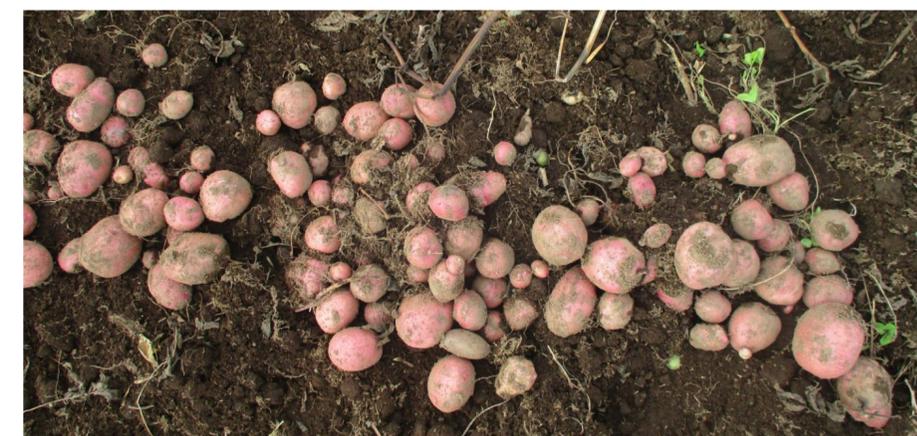


Nota de conformación de tubérculo en progenies de primera y segunda generación de cruzamientos con donante de genes R

% Genoma donante de genes R	Variable	N° de clones	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
0 (Testigos)	Conformación de tubérculo	2	9	0	0	9	9	9
25 (Segunda Generación)	Conformación de tubérculo	52	4,1	1,68	41,1	1	9	4
50 (primera generación)	Conformación de tubérculo	42	3,76	1,61	42,66	1	8	3,5

Ranking de conformación de tubérculo en clones con combinaciones de genes R para tizón tardío + nemátodo dorado + PVY

Combinación de marcadores	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
No presentes	22	4,77	2,27	47,49	1	9	4,5
R8, Gro1-4	11	4	1,9	47,43	2	9	3
Gro1-4	9	4,22	2,11	49,93	2	8	4
Ryadg	6	4,5	1,52	33,7	3	7	4,5
R8	8	4,25	1,49	35,01	3	7	4
R3a, R3b, R8	5	4	2	50	2	7	3
R1, Gro1-4	2	5	1,41	28,28	4	6	5
Ryadg, H1	2	5	1,41	28,28	4	6	5
R1, R8, Gro1-4	3	4,67	1,15	24,74	4	6	4
R3a, R3b, R8, H1	1	5	0	0	5	5	5
R3a, R3b	3	4	1	25	3	5	4
R1, R3a, R3b	1	4	0	0	4	4	4
R1, R3b	1	4	0	0	4	4	4
R3a, R8	1	4	0	0	4	4	4
R1, R2, R3a, R3b, R8	2	3,5	0,71	20,2	3	4	3,5
R2, R3a, R3b, R8	4	3	1,41	47,14	1	4	3,5
R3a	4	3,5	0,58	16,5	3	4	3,5
R1	1	3	0	0	3	3	3
R2, R3b, Gro1-4	1	3	0	0	3	3	3
R3a, R8, Gro1-4	1	3	0	0	3	3	3
R2, R3a, R3b	2	2	1,41	70,71	1	3	2
R1, R3a, R3b, R8	2	2	0	0	2	2	2
R3a, R3b, R8, Gro1-4	2	2	0	0	2	2	2
R3b	1	2	0	0	2	2	2
R8, R1, Gro1-4	1	2	0	0	2	2	2





Variables de tubérculo y planta en clones portadores y no portadores de genes R

Gen R	Variable Ausencia/ Presencia	N	Aspecto de tubérculo			Madurez a los 100 días			Vigor de planta		
			Medias	D.E.	Medianas	Medias	D.E.	Medianas	Medias	D.E.	Medianas
R1	A	80	4,01 ± 1,7		4	6,99 ± 1,4		7	6,11±	2,1	6
	P	14	3,57 ± 1,3		4	6,64 ± 1,2		7	5,50±	2,0	6
R2	A	85	4,06 ± 1,7	a	4	7,02 ± 1,4		7	5,94±	2,1	6
	P	9	2,89 ± 1,2	b	3	6,11 ± 1,3		6	6,33±	1,7	6
R3a	A	66	4,21 ± 1,7	a	4	6,86 ± 1,5		7	5,70±	2,1	6
	P	28	3,32 ± 1,3	b	3	7,11 ± 1,3		7	6,64±	1,7	7
R3b	A	69	4,20 ± 1,7	a	4	6,90 ± 1,5		7	5,70±	2,2	6
	P	25	3,24 ± 1,4	b	3	7,04 ± 1,3		7	6,80±	1,5	7
R8	N	53	4,11 ± 1,7		4	7,06 ± 1,4		7	6,00±	2,2	7
	P	41	3,73 ± 1,6		3	6,73 ± 1,4		7	5,90±	1,9	6

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, test de Kruskal-Wallis 5%

% genoma donante	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
0 (Testigos)	Nota de madurez a 120 días	2	7,5	0,71	9,43	7	8	7,5
25	Nota de madurez a 120 días	52	6,9	1,45	20,93	3	9	7
50	Nota de madurez a 120 días	42	7,0	1,37	19,64	4	9	7

- ¿Edición génica?

Hoy se enfoca en genes que determinan la susceptibilidad (S genes)

La pérdida de función de genes S podría incrementar la resistencia a *P. infestans*

OPEN

Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes

Nam Phuong Kieu¹, Marit Lenman¹, Eu Sheng Wang¹, Bent Larsen Petersen² & Erik Andreasson^{1✉}

The use of pathogen-resistant cultivars is expected to increase yield and decrease fungicide use in agriculture. However, in potato breeding, increased resistance obtained via resistance genes (R-genes) is hampered because R-gene(s) are often specific for a pathogen race and can be quickly overcome by the evolution of the pathogen. In parallel, susceptibility genes (S-genes) are important for pathogenesis, and loss of S-gene function confers increased resistance in several plants, such as rice, wheat, citrus and tomatoes. In this article, we present the mutation and screening of seven putative S-genes in potatoes, including two DMR6 potato homologues. Using a CRISPR/Cas9 system, which conferred co-expression of two guide RNAs, tetra-allelic deletion mutants were generated and resistance against late blight was assayed in the plants. Functional knockouts of *StDND1*, *StCHL1*, and DMG400000582 (*StDMR6-1*) generated potatoes with increased resistance against late blight. Plants mutated in *StDND1* showed pleiotropic effects, whereas *StDMR6-1* and *StCHL1* mutated plants did not exhibit any growth phenotype, making them good candidates for further agricultural studies. Additionally, we showed that DMG401026923 (here denoted *StDMR6-2*) knockout mutants did not demonstrate any increased late blight resistance, but exhibited a growth phenotype, indicating that *StDMR6-1* and *StDMR6-2* have different functions. To the best of our knowledge, this is the first report on the mutation and screening of putative S-genes in potatoes, including two DMR6 potato homologues.

Kieu et al., 2021



Conclusiones

- Los segregantes portadores de genes R presentaron valores AUDPC significativamente menor que testigos y segregantes no portadores
- En los segregantes pertenecientes al grupo que mostró mayor susceptibilidad, se encontraba presente el gen R3, indicando que éste sería menos efectivo en otorgar resistencia, debiendo preferirse la incorporación de otros genes del genotipo donante.
- Genotipos donantes de múltiples genes R son útiles para generar clones portadores de estos genes con características de tubérculo y planta mínimas para ser evaluados en etapas avanzadas de mejoramiento genético
- Se busca piramidar genes de resistencia a *P. infestans* y combinarlos con genes de resistencia a *G. rostochiensis* y PVY mediante la implementación de marcadores moleculares



MUCHAS GRACIAS

Agradecimientos: Subsecretaria de agricultura. Fitomejoramiento de papa



Equipo de trabajo:

- Marco Uribe**
- Carolina Folch**
- Annelore Winkler**
- Cecilia Iglesias**
- Segundo Gonzalez**
- José Orena**
- Jaime Pérez**
- Manuel Muñoz**

