



RALSTONIA SOLANACEARUM EN CHILE: ANÁLISIS
FILOGENÉTICO DE CEPAS AISLADAS Y SU PATOGENICIDAD
EN VARIEDADES NATIVAS DE PAPA

Tesis

Entregada por La
Universidad de Valparaíso
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De

Magister en Ciencias Biológicas Mención Biodiversidad y Conservación
Instituto de Biología
Facultad De Ciencias

Por
Vanessa Karina Ayala Espinoza

Agosto, 2024

Director de Tesis: Dr. Rodolfo Farlora Zapata

Co-guía de Tesis: Dra. Miryam Valenzuela Ormeño

INSTITUTO DE BIOLOGIA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE VALPARAISO

INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister
presentada por el candidato.

VANESSA KARINA AYALA ESPINOZA

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado
de Magister en Ciencias Biológicas mención Biodiversidad y Conservación, en el examen de
Defensa de Tesis rendido el día 20 de agosto de 2024.

Directores de Tesis:

Prof. Dr. Rodolfo Farlora Zapata

Prof. Dra. Miryam Valenzuela Ormeño

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Prof. Dr. Rodolfo Farlora Zapata

Prof. Dra. Miryam Valenzuela Ormeño

Prof. Dra. Carmen Gloria Ossa Barrientos

Dedicatoria:

A mis padres Patricia y Pedro, a mis hermanos Carla, Pablo, Lou y Nahuel, mis hermosos sobrinos Nahual, Yago y Mayna; y en especial agradezco a mi esposo y compañero de aventuras, Diego. Gracias por siempre creer en mí.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental (LMMBA) del Departamento de Química y al Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt” (CBDAL) de la Universidad Técnica Federico Santa María donde se realizó este trabajo de tesis. También a la colaboración con el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso en la obtención de aislados de *Ralstonia solanacearum* utilizados en este estudio. Además, agradecimiento al financiamiento otorgado a través del Fondecyt de Iniciación 11200593 de la Dra. Miryam Valenzuela, y al Núcleo Milenio de Bioproductos, Genómica y Microbiología Ambiental BioGEM NCN2023_054.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE DE CONTENIDOS	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. ANTECEDENTES.....	11
II.I Marchitez bacteriana y RSSC	11
II.II La papa, un cultivo de importancia en Chile y a nivel mundial.....	16
II.III <i>Ralstonia solanacearum</i> en Chile	21
II.IV Hipótesis y objetivos	23
II.IV.I Hipótesis.....	23
II.IV.II Objetivo general	23
II.IV.II Objetivos específicos.....	23
III. METODOLOGÍA	24
III.I Objetivo 1: Establecer las relaciones filogenéticas de cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i> aisladas en Chile y el mundo, analizando diversidad genética y distribución geográfica.....	24
III.I.I Cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i>	24
III.I.II Análisis Multi-locus VNTR (<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>) MLVA RSSC	26
III.II Objetivo 2: Evaluar la patogenicidad en variedades nativas papa de cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i> aisladas en Chile.	28
III.II.I Ensayos de cultivo de papas nativas (<i>in vitro</i> y sustrato directo).....	29
III.II.II Ensayo inoculación de papa nativas.....	31
III.II.III Ensayo de rodajas de papa	31
IV. RESULTADOS.....	33
IV.I Objetivo 1: Establecer las relaciones filogenéticas de cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i> aisladas en Chile y el mundo, analizando su diversidad genética y distribución geográfica.....	33
IV.I.I Cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i>	33
IV.I.II Resultados Análisis Multi-locus VNTR (<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>) MLVA RSSC	34
IV.II Objetivo 2: Evaluar la patogenicidad en variedades nativas papa de cepas de <i>Ralstonia solanacearum</i> aisladas en Chile.....	39
IV.II.I Resultados ensayos de cultivo de papas nativas (<i>in vitro</i> y sustrato directo)...	39

IV.II.II	Resultado ensayos inoculación de papas nativas	43
IV.II.III	Resultados de ensayo de rodajas de papas	46
V.	DISCUSIÓN.....	50
VI.	CONCLUSIONES	56
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
VIII.	ANEXOS.....	66
	ANEXO N°1: Detalle ensayos <i>in vitro</i> realizados.....	66
	ANEXO N°2: Detalles tamaño y peso de tubérculos de papa utilizados en ensayo.	68
	ANEXO N°3: Identificación papas utilizadas	69

RESUMEN

El complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* (RSSC) un patógeno devastador responsable de la enfermedad conocida como marchitez bacteriana representa una amenaza significativa para la producción de papas a nivel mundial, incluyendo las variedades de papa nativas chilenas, como también otros cultivos fundamentales para la seguridad alimentaria. La presente tesis investiga la diversidad genética de RSSC, enfocándose en aislados de Chile y su relación filogenética con cepas de otros países. A través del análisis MLVA (*Multi-Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis*), se estudiaron 22 aislados nacionales junto a otras 21 cepas internacionales para explorar la diversidad poblacional y establecer relaciones filogenéticas. Los resultados revelaron una diversidad genética dentro de las cepas chilenas y, además, entre éstas y otras cepas de distintas regiones del mundo, indicando una dispersión global extensa y una adaptabilidad notable del patógeno a diversos ambientes agrícolas, tanto nacional como internacionalmente. El análisis MLVA identificó siete agrupaciones principales en las cepas nacionales, demostrando variabilidad y la adaptabilidad a diferentes cultivos y se establecieron las conexiones evolutivas de las cepas locales que fueron independientes de su región de origen, en casos, pero aún asociado a un cultivo en particular (papa o tomate). Junto con lo anterior, el análisis MLVA incluyendo cepas internacionales mostró que se formaron 21 agrupaciones, y que, a pesar de las distancias geográficas *Ralstonia solanacearum* es una bacteria que afecta indistintamente en las zonas templadas del mundo.

Se realizaron ensayos de cultivo de papas nativas adquiridas en comercio nacional para tener una metodología para la obtención de material vegetal, estableciendo protocolos de desinfección para el establecimiento de cultivos *in vitro* y en sustrato directo, cuyos resultados fueron mejores para el caso de las condiciones *in vitro*. Adicionalmente, la investigación evaluó la susceptibilidad de diferentes variedades nativas de papas a la infección por *Ralstonia solanacearum* mediante ensayos de tubérculos en sustrato directo y en rodajas infectadas. Los resultados de estos ensayos mostraron una respuesta variable a la infección por *Ralstonia solanacearum*, destacando la importancia de desarrollar estrategias de control específicas que consideren la diversidad genética tanto del patógeno como de las distintas papas nativas y comerciales estudiadas. Este estudio proporcionó análisis preliminares cruciales para el manejo de la marchitez bacteriana en Chile, subrayando la necesidad de estrategias de manejo integrado y la importancia de la vigilancia continua para proteger la agricultura local y el comercio global frente a este fitopatógeno.

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum species complex (RSSC), a devastating pathogen responsible for the disease known as bacterial wilt, represents a significant threat to potato production worldwide, including Chilean native potato varieties, as well as other crops critical for food security. This thesis investigates the genetic diversity of RSSC, focusing on isolates from Chile and its phylogenetic relationship with other global strains. Through MLVA (Multi-Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis) analysis, 22 national isolates were studied along with another 21 international strains to explore the population structure and establish phylogenetic connections. The results reveal genetic diversity within the Chilean strains and, furthermore, between these and other strains from different regions of the world, indicating extensive global dispersion and notable adaptability of the pathogen to diverse agricultural environments, both nationally and internationally. The MLVA analysis identified seven major groups in national strains, demonstrating variability and adaptability to different crops and established evolutionary connections of local strains that were independent of their region of origin, in cases, but still associated with a particular crop (potato or tomato). While the MLVA analysis adding international strains showed twenty-one different groups showing that, despite geographical distances, RSSC is a bacterium that affects indiscriminately in temperate areas of the world.

Additionally, tests were carried out on native potatoes acquired in national commerce to have a robust methodology for obtaining plant material, establishing disinfection protocols for the establishment of cultures in *in vitro* format and in direct substrate, whose results were robust in the case of *in vitro* conditions. Additionally, the research evaluated the susceptibility of different native varieties of potatoes to RSSC infection through tuber tests in direct substrate and in infected slices. The results of these trials showed a variable response to RSSC, highlighting the importance of developing specific control strategies that consider the genetic diversity of both the pathogen and the different native and commercial potatoes studied. This study provides crucial preliminary analyzes for the management of bacterial wilt in Chile, underscoring the necessity for integrated management strategies and the importance of continued surveillance to protect local agriculture and global trade against this important phytopathogen.

I. INTRODUCCIÓN

Con el actual crecimiento poblacional y las amenazas del cambio climático, preservar la salud de los cultivos vegetales adquiere mayor relevancia en los ámbitos de agricultura y seguridad alimentaria. Esto se suma a la preocupación creciente sobre las especies nativas y la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la población podría alcanzar los 9,6 mil millones para 2050, provocando un aumento considerable en la demanda de alimentos. Se estima que la producción global debe crecer aproximadamente un 70% para satisfacer estas nuevas demandas, y que el rendimiento de los cultivos necesita incrementar entre un 80% y 110% para sostener este crecimiento poblacional. La pérdida de cultivos debido a enfermedades y patógenos transmitidos por el suelo ha cobrado relevancia debido al impacto devastador que pueden significar pudiendo ser altamente destructivas y catastróficas a gran escala. Cada año, se estima que las enfermedades en las plantas causan pérdidas directas e indirectas en todo el mundo de alrededor de 40 mil millones de dólares, y al menos entre el 20% y el 40% de los cultivos se pierden por infecciones patógenas (Syed Ab Rahman et al., 2018). Los principales patógenos que afectan a las plantas incluyen plantas parásitas, oomicetos, nemátodos, virus, hongos y bacterias. Se han reportado al menos 200 bacterias patógenas que afectan a las plantas, entre las que destacan los géneros *Ralstonia*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Xylella*, *Pectobacterium* y *Dickeya* (Buttimer et al., 2017). Es fundamental entonces, reducir el impacto de las enfermedades en los cultivos y entender que, para que se desarrolle una enfermedad, deben estar presentes una planta hospedera susceptible, un patógeno virulento y un ambiente adecuado para su crecimiento; estos son los tres componentes del modelo del “triángulo de la enfermedad,” clave en la fitopatología (Francl, 2001). Un ejemplo de esto es *Ralstonia solanacearum*, una bacteria Gram negativa que habita el suelo y afecta los sistemas vasculares de las plantas. Cuando se encuentra con una planta hospedera susceptible y un ambiente propicio, la bacteria libera sustancias que le permiten adherirse a su hospedero y prosperar en distintas etapas de la patogénesis, produciendo marchitez y muerte en los cultivos (Carter et al., 2023). El complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* (RSSC), llamado así porque involucra más de una especie del género *Ralstonia*, es un grupo de especies heterogéneo y ha sufrido cambios en su sistema de clasificación hasta la determinación hace pocos años de tres especies principales *Ralstonia solanacearum*, *Ralstonia pseudosolanacearum* y *Ralstonia syzygii* (Sharma et al., 2022). RSSC tiene la capacidad de ser hospedero en diversas especies de plantas, como el

tomate (*Solanum lycopersicum*), la papa (*Solanum tuberosum*), el maní (*Arachis hypogaea*), el tabaco (*Nicotiana tabacum*) y bananas (*Musa paradisiaca*), entre otras (Hayward, 1991; Huang et al., 2013). Es una enfermedad devastadora para cultivos agronómicos esenciales en la alimentación humana, como papa, tomate, plátano, ají, pimentón y berenjena, y afecta también algunas especies forestales como eucalipto, tabaco y rosas ornamentales. La base de datos global de la Secretaría de la Organización Europea y Mediterránea de Protección Fitosanitaria (EPPO), cuyo objetivo es proporcionar toda la información específica sobre plagas que ha sido producida o recopilada por la EPPO (<https://gd.eppo.int/>), reporta a *Ralstonia solanacearum* (codificada como RALSSO) afectando al menos 175 cultivos hospederos. Nuevos cultivos susceptibles incluyen arándanos, calabazas y moras. Dependiendo del huésped afectado, la enfermedad tiene distintos nombres: en plátano, "enfermedad del moko"; en geranio, "marchitez del sur"; en tabaco, "enfermedad de Granville"; y en papa, "podredumbre parda" o "marchitez bacteriana." (Cao, 1982; E. F. Smith, 1896; EPPO, 2024). Las actuales y futuras presiones sobre los cultivos debido al cambio climático pueden significar que zonas cosechables dejen de serlo por aumentos de la temperatura global, afectaciones en los suministros de agua, acrecentamiento de niveles de carbono atmosférico y también por aumento de plagas y enfermedades (mayor propagación de áfidos, insectos y fitopatógenos) en áreas previamente muy frías para su sobrevivencia, ocasionando disminuciones de tasas de crecimiento y bajas producciones. Chile, siendo un país donde la agricultura es primordial, el estudio de la patogenicidad y diversidad genética de RSSC, así como su interacción con las papas comerciales y nativas y otros cultivos de interés agronómico como el de tomate, es clave para promover y desarrollar prácticas agrícolas sostenibles. La papa, siendo parte esencial de la red alimentaria, economía local y patrimonio agrícola del sur de Chile –un posible lugar de origen de este cultivo– enfrenta una amenaza significativa por la incidencia de la enfermedad producida por *Ralstonia solanacearum* (Pérez D, 2004; Osdaghi, 2020). Dentro de este contexto, la papa es un alimento importante para la seguridad alimentaria, siendo consumido mundialmente y en Chile por sus grandes virtudes en las áreas de producción, rendimiento y calidad nutricional, como también es un cultivo arraigado y asociado a la agricultura rural en el sur de Chile, donde la agricultura, en particular de agricultoras campesinas es esencial en el mantenimiento de los cultivos de papa nativa (Bahamonde, 2017). Este patógeno no sólo pone en riesgo la diversidad de variedades nativas y su biodiversidad, sino que también, desafía la eficiencia en la utilización de recursos, en particular, en los sistemas de cultivo y procesos agronómicos importantes como la familia de las solanáceas.

II. ANTECEDENTES

II.I Marchitez bacteriana y RSSC

El agente causante de la enfermedad marchitez bacteriana, el complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* (RSSC) es capaz de afectar diversas especies agrícolas. *Ralstonia solanacearum* es una bacteria móvil Gram negativa con forma de bacilo con longitud entre 0.5-1.5 μm , de carácter aerobio que no produce esporas. En medios de cultivo generales los aislados virulentos desarrollan colonias de color perla blanco-crema planas, irregulares y fluidas a menudo con espirales en el centro, las formas avirulentas forman colonias pequeñas, redondas, color blanco-crema. En el medio de cultivo de Kelman con TZC (con Cloruro de Tetrazolio), los espirales son de color rojo sangre, las formas avirulentas forman colonias pequeñas, redondas de color rojo oscuro. Al igual que en el medio de cultivo Phi (Φ) donde el medio se torna más oscuro en presencia de *Ralstonia solanacearum* (Kelman, 1954; Champoiseau et al., 2009). Esta bacteria es mesófila, sus síntomas más severos se encuentran entre los 27-35°C, con condiciones de pH entre 5,5 y 8 (6,5 óptimo) y es capaz de crecer en medios salinos con 1% de NaCl (Osdaghi, 2020).

El complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* tiene una amplia distribución mundial y está distribuida en zonas tropicales, subtropicales y cálida-templadas del mundo con una gran diversidad genética y fenotípica existente, lo que la ubica dentro de los principales de patógenos de plantas y además, es considerado un patógeno cuarentenario, regulado por ejemplo, bajo la Ley de Proyección contra el Bioterrorismo Agrícola para el Departamento de Agricultura de EEUU (USDA) (Champoiseau et al., 2009). Una de las primeras descripciones de esta enfermedad en papas, tomates y berenjenas fue hecha por E. F. Smith en el año 1896 (E. F. Smith, 1896), sin embargo, su origen y posterior dispersión aún sigue indeterminada por la complejidad de su expansión y distribución entre sus diversos hospederos. Los primeros reportes remontan a fines de siglo XIX en zonas de Asia, Estados Unidos, Australia y América del Norte, pero ya contando con una presencia establecida. Brasil y Perú son considerados uno de los centros ancestrales del origen del patógeno, de más específicamente, el filotipo II. Uno de los primeros reportes en América Latina fue en Rio Grande do Sul, Brasil en el año 1922 por Von Parseval (Santiago et al., 2020). Las amazonas han sido sugeridas como centro del origen del filotipo II (Santiago et al., 2017, 2020; Wicker et al., 2012).

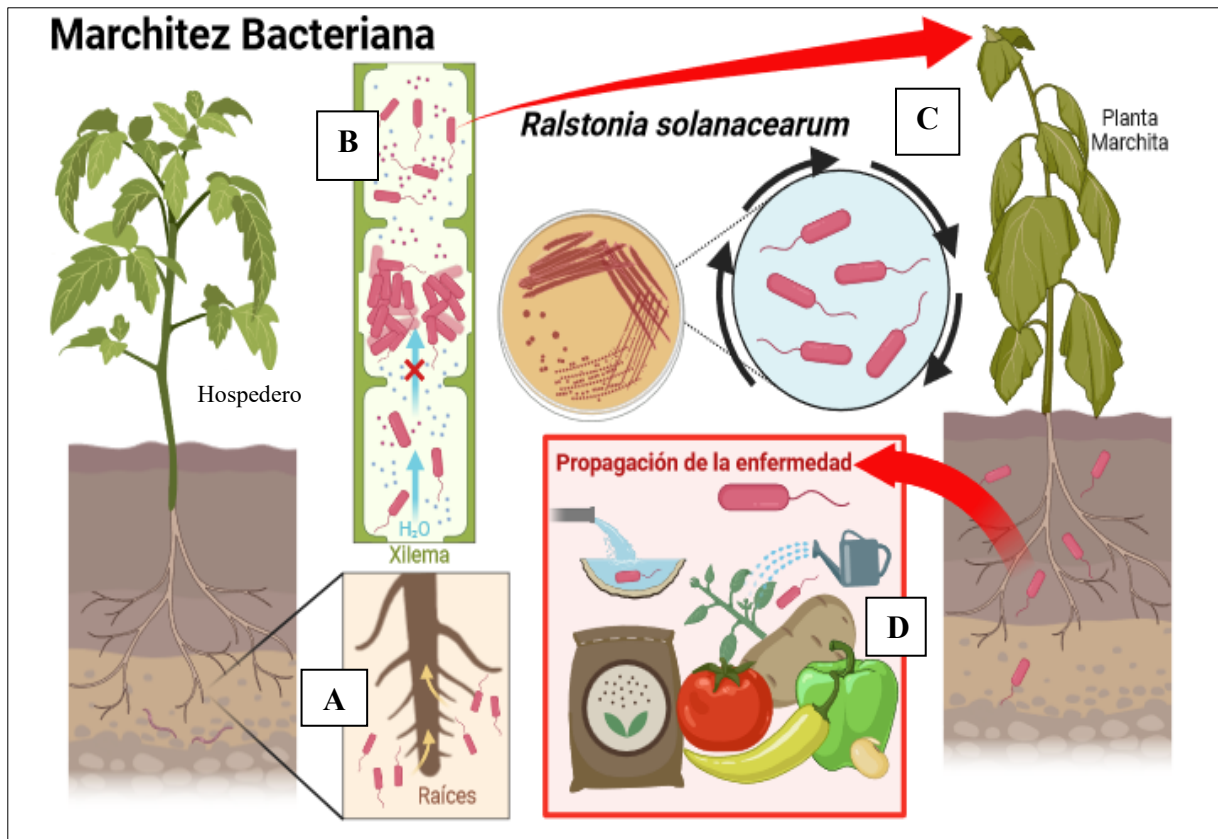


Figura 1: Ciclo de infección de *Ralstonia solanacearum*. (A) Ingreso de bacteria por las raíces de un hospedero susceptible (B) Propagación de la bacteria en xilema (C) Marchitez del hospedero (D) Mecanismos de propagación de la bacteria.

Reconocida por ser un patógeno bacteriano altamente destructivo, esta bacteria ingresa desde el suelo a las raíces por heridas de la planta, Figura 1 (A), invade los vasos de la xilema y se propaga rápidamente a las partes aéreas de las plantas a través de su sistema vascular Figura 1 (B). Sus síntomas incluyen: hojas débiles y tempranamente flácidas, con clorosis, retraso en el crecimiento de la planta, marchitamiento en hojas y tallos (cambio de color del xilema a rojizo pardo oscuro), epinastia foliar (curvatura hacia abajo) y la presencia de un exudado bacteriano en tallos y tubérculos, síntomas que terminan siendo altamente letal para su hospedero, Figura 1 (C) (Genin, 2010; Mansfield et al., 2012; EPPO, 2024). Con la muerte de la planta, la bacteria retorna al suelo donde es capaz de sobrevivir hasta el próximo hospedero y completar un nuevo ciclo de patogenicidad, Figura 1 (D) (T. M. Lowe-Power et al., 2018).

En el año 1995 esta bacteria se estableció dentro del género *Ralstonia* (Yabuuchi et al., 1995), también fue previamente designada dentro del género *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Phytomonas* y *Burkholderia* (I. Buddenhagen & Kelman, 1964; Yabuuchi et al., 1992) y en su primera descripción como *Bacillus solanacearum* (E. F. Smith, 1896). Históricamente las cepas de este fitopatógeno se agruparon en 5 razas según su rango de hospederos susceptibles (I. Buddenhagen & Kelman, 1964; I. W. Buddenhagen, 1962) y en 6 biovares en base a sus

propiedades químicas (Hayward, 1964, 1994). El sistema de biovar propuesto por Hayward (1964) clasifica las cepas según su capacidad de producir ácido a partir de la oxidación de tres disacáridos (celobiosa, lactosa y maltosa) y tres alcoholes hexosa (dulcitol, manitol y sorbitol). La diversidad de este complejo de especies ha aumentado con los años y este sistema basado en rango de hospederos ha demostrado ser ambiguo y poco fiable para predecir el potencial patogénico de *R. solanacearum* (Denny, 2006). No existe una correlación general entre biovars y razas, excepto si se considera la raza 3 que corresponde con el biovar 2 y las de raza 5 que son generalmente biovar 5. La raza 3 de *Ralstonia solanacearum* se distribuye en todo el mundo, y crece en zonas cálidas tropicales, con un crecimiento óptimo entre temperaturas 25°C a 30°C (Hayward, 1991). No obstante, la raza 3 también tiene la capacidad de producir la enfermedad de marchitez bacteriana en climas fríos a diferencia de otras cepas y razas de *Ralstonia solanacearum* (Swanson et al., 2005). Este sistema no es predictivo sobre la biología y potencial patogénico de las cepas pues los hospederos pueden ser muy variados, sin embargo, este método se ha adoptado por ser fácil y reproducible por lo que se sigue utilizando en algunos laboratorios (Denny, 2006).

La actual clasificación para *Ralstonia* se basa en secuencias genéticas, y como se muestra en la tabla 1, es una bacteria del filo *Proteobacteria*, clase *Gammaproteobacteria*, orden *Burkholderiales* y familia *Burkholderiaceae* estado taxonómico actual propuesto por Sharma et al., 2022. El género *Ralstonia* es considerado un complejo de especies (RSSC, por su sigla en inglés “*Ralstonia solanacearum* species complex”), es decir, un grupo bacteriano que está estrechamente interrelacionado, agrupando a cepas con alto grado de diversidad genética y fenotípica. Los filotipos reflejan verdaderos linajes evolutivos que probablemente surgieron a partir del aislamiento geográfico de los progenitores y su posterior adaptación. Esta distribución ha sido confirmada a través de distintos enfoques metodológicos que muestran la solidez y relevancia biológica de este sistema de clasificación (Denny, 2006). El complejo de especies se divide en cuatro grupos monofiléticos, los filotipos designados del I al IV en base al análisis de la secuencia del espaciador interno transcrito (ITS) localizado entre los genes 16S-23S del ARNr, que usualmente se asocian al origen geográfico de las cepas. El filotipo I agrupa cepas aisladas de Asia y Australia, el filotipo II, que también se divide en IIA y IIB, contiene cepas originarias de América, mientras que los miembros del filotipo III son de origen africano, y los aislamientos del filotipo IV son originarios de Indonesia, Japón y Australia. Actualmente el flujo de genes entre los filotipos indica que la especiación no ha sido alcanzada (Lefeuvre et al., 2013). A su vez, cada filotipo está conformado por

“secuevares” (*sequevar* -en inglés-) definidos como un grupo de cepas que presentan una secuencia altamente conservada dentro de una región determinada del genoma, los secuevares generalmente se definen en base a secuencias particulares del gen de la endoglucanasa (*egl*) fundamental para la habilidad de RSSC para degradar la pared celular de los huéspedes. Cada secuevar también puede tener distintas líneas clonales identificadas mediante marcadores moleculares, a la fecha se han identificado al menos 60 secuevares (T. Lowe-Power et al., 2020). La clasificación actualizada identifica dentro de RSSC a *Ralstonia solanacearum*, *Ralstonia pseudosolanacearum* y *Ralstonia syzygii*. En la tabla 2, se resumen los distintos filotipos, secuevares, biovares y razas descritos hasta ahora y, además, el ecotipo que presenta la enfermedad causada por esta bacteria junto con sus especies representativas, descritas por García et al., 2019.

Tabla 1: Estado taxonómico actual de *Ralstonia* propuesto por (Sharma et al., 2022)

Rango	Nombre
Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Burkholderiales</i>
Familia	<i>Burkholderiaceae</i>
Género	<i>Ralstonia</i>
Especies	<i>R. solanacearum</i> , <i>R. pseudosolanacearum</i> , <i>R. syzygii</i>

Tabla 2: Filotipos de *Ralstonia solanacearum* descrito por (García et al., 2019)

Filotipo	Sequevar	Biovar	Ecotipo	Raza	Especie
I	12, 14, 16, 18	3, 4, 5	Marchitez bacteriana en plantas solanáceas, jengibre y mora	1, 4, 5	<i>Ralstonia pseudosolanacearum</i>
IIA	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, CIP10, CIP223, NCPPB398 7	2-T, 1, 2	Marchitez bacteriana en plantas solanáceas, <i>Musa</i> spp (plátano)	1, 2, 3	<i>Ralstonia solanacearum</i>
IIB	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, CIP10, CIP223, NCPPB398 7	2-T, 1, 2	Enfermedad del moco en plátano, marchitez bacteriana en papa, tomate y geranio, no patogénico en banana, pero si en <i>anthurium</i> , heliconia y calabaza	1, 2, 4	<i>Ralstonia solanacearum</i>

III	19, 20, 21, 22, 23	2-T, 1	Marchitez bacteriana en plantas solanáceas	1	<i>Ralstonia pseudosolanacearum</i>
IV	8, 9, 10, 11	2-T, 1, 2	Marchitez bacteriana en plantas solanáceas, <i>Musa</i> spp. (plátano), enfermedad de Sumatra en clavo de olor.	1	<i>Ralstonia syzygii</i>

El primer genoma secuenciado de *Ralstonia solanacearum* (cepa GMI1000) determinó un genoma de 5.8 Mb organizado en 2 replicones, un cromosoma de 3,7 Mb y un mega plásmido de 2,1 Mb, el contenido G+C de ambos es de 67% con regiones con alta probabilidad de haber sido adquiridos vía transferencia horizontal de genes (Salanoubat et al., 2002). La expresión de genes de virulencia de este patógeno es controlada por una red sofisticada y de varios factores que responden a condiciones ambientales, la detección de las células huésped y la densidad bacteriana (Peyraud et al., 2016; Prakasha et al., 2017). Su cromosoma contiene genes de funciones básicas, mientras que el mega plásmido codifica los principales genes de patogenicidad y genes que pueden estar relacionados con la capacidad de sobrevivencia de la bacteria (Salanoubat et al., 2002; Guidot et al., 2009).

El complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* se reproduce rápidamente originando grandes cantidades de exopolisacáridos (EPS), excretados extracelularmente cuya acumulación produce la obstrucción de los sistemas vasculares de las plantas impactando en el transporte de agua desde las raíces a las partes aéreas de las plantas produciendo una marchitez con resultado letal para el huésped (Ingel et al., 2021). Adicionalmente, el sistema de secreción tipo II (T2SS) es también esencial para el transporte extracelular de alrededor de 30 enzimas degradadoras de pared celular incluyendo enzimas pectolíticas y celulolíticas que contribuyen en la infección de plantas hospederas. Otros factores de virulencia incluyen elementos de movilidad y apéndices (pili o flagelo), mecanismos para desintoxicación de especies reactivas al oxígeno (ROS) y otros componentes estresantes y la producción de fitohormonas (Genin & Denny, 2012). Muchas bacterias Gram negativas, tienen además sistemas de secreción tipo III (T3SS), apéndices tipo jeringuilla relacionados con componentes móviles como el flagelo, que son capaces de inyectar proteínas al citosol de las células huésped para promover la infección (Büttner & He, 2009). Estos efectores están asociados a elementos genéticos móviles, frecuentemente adquiridos por transferencia horizontal de genes (Gophna et al., 2003).

Comprender la virulencia de *Ralstonia solanacearum* (RSSC) en zonas de clima templado y desarrollar estrategias efectivas para controlar su propagación son esenciales para el futuro. Debido a la notable adaptabilidad del complejo de especies, especialmente en el contexto del calentamiento global. La marchitez bacteriana, que es exacerbada por el incremento de las temperaturas, podría permitir que este patógeno se expanda a nuevas áreas templadas del mundo. Esto representa una amenaza potencial no sólo para las especies hospederas conocidas, sino también para aquellas que no han sido reportadas como hospederas hasta ahora (Lopes & Rossato, 2018; Schachterle & Huang, 2021). Además, la invasión de RSSC, podría alterar las comunidades bacterianas de la rizosfera que conduciría a una reducción en diversidad y abundancia de bacterias no-patógenas, este cambio podría afectar la probabilidad de futuras invasiones en los siguientes cultivos pues las comunidades microbianas menos diversas son más susceptibles a invasiones de patógenos (Wei et al., 2018). El cultivo de especies resistentes se ha presentado como una de las mejores estrategias para controlar la marchitez bacteriana, sin embargo, la alta variabilidad genética del patógeno obstaculiza el desarrollo efectivo de cultivos resistentes; por ejemplo, tomates resistentes a RSSC en una región pueden ser susceptibles al fitopatógeno cuando se trasladan a otra área.

Estudios filogenéticos y filogeográficos utilizando herramientas basadas en genómica permiten dilucidar las estructuras poblacionales, la ascendencia evolutiva y las posibles rutas de transmisión de los agentes causales de enfermedades. Marcadores moleculares se han utilizado eficazmente para investigar la variabilidad y la estructura genética de las poblaciones de *Ralstonia solanacearum* a escala locales y regionales (Santiago et al., 2020). Una de las herramientas moleculares utilizadas para el monitoreo de RSSC incluye el *multi-locus variable number tandem repeat analysis* (MLVA), que permite una mejor y fina discriminación entre cepas, analizando VNTR (repetición en tándem de número variable) de loci múltiple aprovechando el polimorfismo de las secuencias genéticas repetidas en tándem dentro de los genomas. Diferentes esquemas de MLVA han sido publicados. (Guinard et al., 2017; N'Guessan et al., 2013; Parkinson et al., 2013).

II.II La papa, un cultivo de importancia en Chile y a nivel mundial

Sin duda, una de las familias de cultivos más importantes a nivel mundial son la familia de las solanáceas, que incluyen cultivos tan significativos como el tomate, papa y berenjenas. Dentro de esta familia, la papa son uno de los cultivos fundamentales en áreas de producción y el tercer cultivo más importante en la alimentación mundial. La papa, perteneciente al género *Solanum* subgénero *Potatoe* sección *Petota*, reúne 19 series que incluyen especies

formadoras de tubérculos (serie tuberosa), la especie *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* y *S. tuberosum* spp. *Andigena*, también llamado *Solanum tuberosum*, grupo *Chilotanum* y grupo *Andigenum*, son los principales representantes de este cultivo y representan los mayores aportes a la dieta actual (Fernández et al., 2022).

Respecto de su distribución geográfica de la papa se reconocen dos centros de dicha diversidad, la región central de México y otro, que abarca la zona andina (Perú, Chile, Bolivia y Argentina), las especies silvestres se extienden por América, con una zona de distribución alta que contempla distintos contextos biogeográficos, sin embargo, la mayoría se encuentran restringidas a una zona ecológica determinada (Hawkes, 1991; Liao, 2005). Por miles de años, los nichos ecológicos presentes en la zona de la Cordillera de Los Andes han sido el hábitat natural y el centro de la diversidad genética de especies silvestres de papas y un gran número de variedades nativas. Largos procesos de evolución permitieron la expresión de diferencias morfológicas entre los cultivos y la acumulación de componentes genéticos que son recursos valiosos para su mejoramiento continuo, tales como la capacidad de perdurar en condiciones bióticas adversas (aparición de enfermedades y/o plagas) y condiciones abióticas hostiles y expresan distintas morfologías entre tubérculos, sin embargo su material genético se encuentra amenazado por la domesticación de especies junto con la urbanización, cambios y pérdidas en uso de suelo y la destrucción de áreas naturales ricas de biodiversidad (Hijmans & Spooner, 2001; Ellis et al., 2020).

Chile es considerado como un subcentro del origen del cultivo de papas, con especies nativas y endémicas distribuidas en territorio continental e insular, en perspectiva, casi todos los cultivos europeos de papa actuales presentan antecedentes genéticos chilenos (Berg & Groendijk-Wilders, 2014; Spooner et al., 2005). *Solanum tuberosum* en su última instancia tendría su origen en variedades locales andinas y chilenas desarrolladas por culturas andinas en épocas prehispánicas. La colección, movimiento e intercambio de especies silvestres de papas ha ocurrido durante milenios, sin embargo, confinado al continente de América hasta la conquista española cuando ocurrieron las primeras expansiones al continente europeo donde sufrió futuras selecciones. Por ejemplo, Charles Darwin en uno de sus viajes alrededor del año 1830 recolectó papas desde Chiloé que nombró *Solanum. maglia*, conocida en la actualidad como *Solanum tuberosum* subespecie *tuberosum* (Ristaino & Pfister, 2016). Otro interesante lugar de especies nativas de papas es la Isla Robinson Crusoe del Archipiélago de Juan Fernández, donde se encuentra la especie *Solanum tuberosum* var *fernandezianum*, clasificada en peligro de extinción (Solano et al., 2011).

Desde el punto de vista botánico, las papas nativas del sur de Chile corresponden a *Solanum tuberosum* grupo *Chilotanum* (*S. tuberosum* subespecie *tuberosum*) que se caracterizan por formar tubérculos con días largos a diferencia del grupo del altiplano andino *S. tuberosum* grupo *Andigenum*. Estas especies nativas han sido mantenidas en el tiempo por agricultoras locales principalmente del archipiélago de Chiloé. Se han descrito oficialmente 211 variedades de papa nativa (Contreras & Castro Urrutia, 2008), pero investigaciones considerando secuencias genéticas moleculares podría elevar este número a más de 300 variedades (Muñoz et al., 2016). Existe una gran diversidad de variedades en los cultivos tradicionales, mantenidos por generaciones de agricultoras chilenas en los campos, de diversas formas, colores y sabores que forman el grupo de variedades tradicionales nativas, de cultivo menos frecuente respecto a las variedades con mayor rendimiento en producción masiva, y que no figuran en las estadísticas oficiales de producción nacional, pero constituyen un patrimonio genético, alimentario y cultural de alto valor. Las papas nativas chilenas se caracterizan por sus niveles de proteínas, de fibras y minerales, como también en el contenido de antocianinas y polifenoles. En estudios de análisis medicinal en células endoteliales, los genotipos de papas nativas chilenas poseen mayor efecto antioxidante y antiinflamatorio que los controles demostrando que las papas nativas presentan un gran aporte en salud alimentaria (Behn & Muñoz, 2023). Estas variedades nativas de papa se caracterizan por una rica diversidad en forma de tubérculos, tamaños y colores, como también otras características fenotípicas de interés y también algunas especies nativas podrían presentar casos mayor resistencia a virus, bacterias y condiciones heladas, pero también hipersensibilidad en otras ocasiones. Conociendo que el cambio de temperatura, junto con la pérdida de hábitat, es la mayor amenaza para las especies de papa silvestre. En estudios con datos climáticos actuales y futuros proyectados para el año ~2055, y un modelo de distribución de especies para predecir el impacto del cambio climático en los parientes silvestres del maní (*Arachis*), la papa (*Solanum*) y la leguminosa caupí (*Vigna*) muestran que para el año 2050 hasta 13 especies de papa silvestre podrían extinguirse y podría llegar a perderse hasta el 52% del área de su distribución (Jarvis et al., 2008). Las variedades nativas que se encuentran con mayor frecuencia en los mercados nacionales son: Viscocha, Clavela Lisa (cáscara color rosado), Guadacho (cáscara color azulado, blanco y negro), Lengua de Vaca (cáscara beige y pulpa amarilla), Cabra (cáscara rosada) y Bruja (pulpa morada) (Muñoz et al., 2021).

En Chile, la papa, ocupa el segundo lugar como el alimento más consumido, y el quinto lugar en superficie entre los cultivos anuales, con alrededor de 29.000 hectáreas plantadas y cerca

de 30.000 productores, con rendimientos promedio por hectárea de alrededor de 28 toneladas. La superficie de producción de papa en Chile se concentra en la Región de La Araucanía y la Región de Los Lagos, en la temporada 2023 representaron el 31% y 25% de la producción nacional, respectivamente, como se presenta en la Figura 3. La Región de La Araucanía tuvo una producción de alrededor de 264.000 toneladas de papas, mientras que la Región de Los Lagos alrededor de 253.000 mil toneladas, como se muestra en la Figura 4. Respecto del uso de semilla certificada en la temporada 2022/2023 la producción correspondió a un área de 1225 hectáreas, donde las variedades “Asterix”, “Rodeo” y “Rosi” tienen mayor participación, dentro de esta producción se destaca la Región de Los Lagos que concentra el 89% del total de superficie nacional registrada para la producción de semilla certificada. (ODEPA & Muñoz Villagrán, 2024; Vallejo G. & Martínez T., 2023).

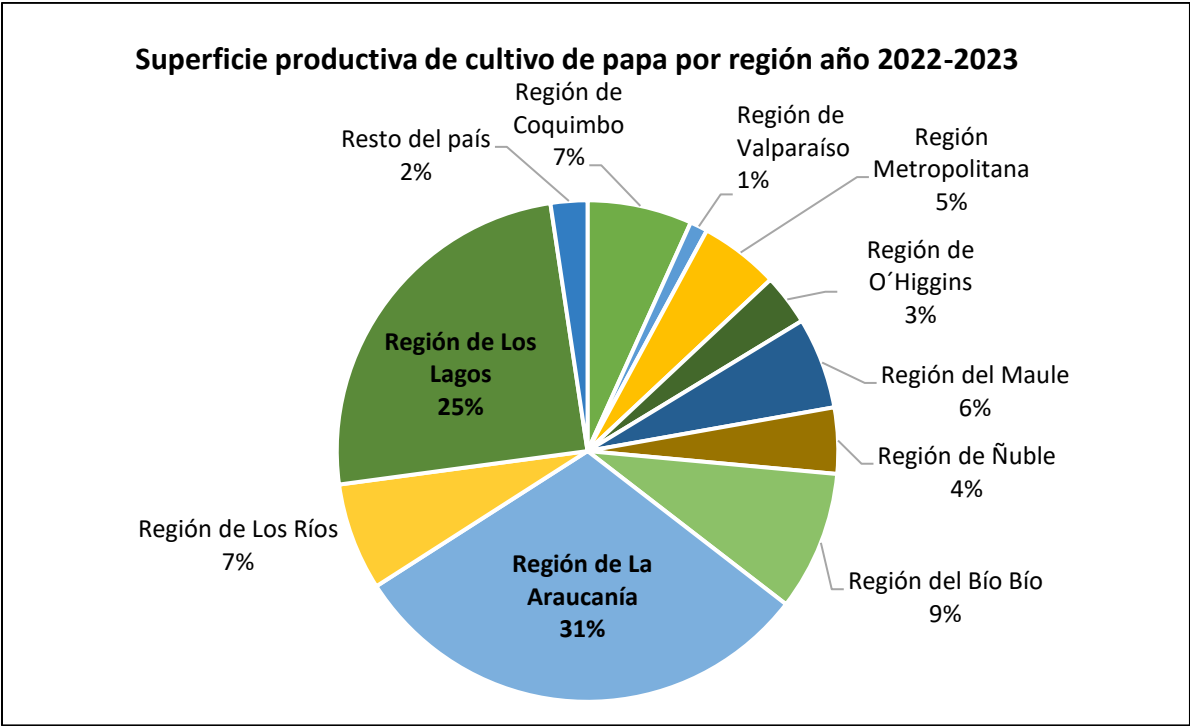


Figura 2: Superficie productiva de papa por región chilena en año agrícola 2022-2023. Las regiones más significativas en la producción de papas es la Región de La Araucanía y la Región de Los Lagos.

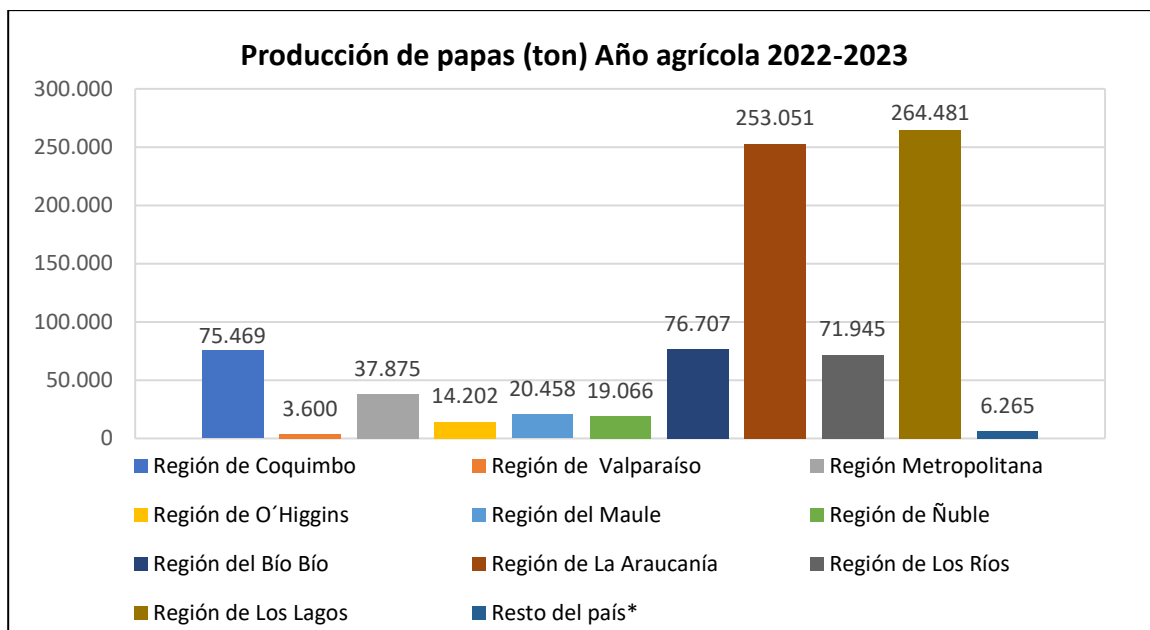


Figura 3: Producción de papas en toneladas por región chilena, año agrícola 2022-2023.

La papa normalmente es propagada vegetativamente, y el método de crecimiento mínimo *in vitro* es utilizado como alternativa de las técnicas de cultivo tradicional para la mantención de plántulas en mejores condiciones sanitarias. Se obtiene material confinado en un microambiente donde el control de plagas y enfermedades pueda realizarse más fácilmente (De Cásares & González, 2001). Los tubérculos de papa contienen grandes cantidades de almidón, azúcares, vitaminas, minerales y proteínas de alta calidad, lo que lo hace apetecible a microorganismos invasoras, cualquier herida o daño en los tubérculos facilita la entrada de patógenos que pueden generar infecciones (Orena & Santos Rojas, 2012). Debido a esta gran presencia de carga bacteriana en los tubérculos de papa por su entorno de crecimiento en el suelo, es necesario también establecer mecanismos de esterilización de brotes y tubérculos para realizar cultivos en sustrato directo y a través de mantención *in vitro* que permita más material vegetal en menor tiempo para cultivo y estudios fitopatológicos en laboratorio. Para la obtención de material vegetal de rápido crecimiento antes de trasplantes masivos hacia invernaderos el medio Murashige & Skoog (MS) puede ser utilizado y puede ser mejorado, adicionando sorbitol y manitol en el medio que ayuda a reducir la tasa de crecimiento de *Solanum tuberosum* grupo *Chilotanum* en caso de querer mayor tiempo de mantención (Muñoz et al., 2019).

Por otro lado, la preocupación sobre la pérdida de diversidad genética asociada al cultivo de papa ha sido respaldada por la creación de diversos bancos genéticos para su conservación, el más grande ubicado en Perú, el Centro Internacional de la Papa (CIP - <https://cipotato.org/>)

que mantiene 3.800 papas tradicionales andinas cultivadas como también muestras de especies silvestres de países de América Latina. Según la CIP hay 151 especies conocidas de papas silvestres, cuya expresión fenotípica se caracteriza por tubérculos pequeños, con una gran variedad de formas y colores, que podrían presentar fuentes de rasgos fenotípicos interesantes para la generación de variedades con mejores características nutricionales y con resistencia a enfermedades, ya que las papas cultivadas comercialmente han perdido continuamente su variación genética debido a su domesticación. Además, existen asociaciones como la asociación de colaboradores entre bancos de germoplasma de papa (Association of Potato Inter-genebank Collaborators - APIC) que construyó una base de datos de 11.819 accesiones de papas silvestres conservadas en siete bancos de germoplasma de papas de Europa, Estados Unidos, Perú y Argentina (Huamán et al., 2000). En Chile, también existe esfuerzos en este ámbito, como el Banco de Germoplasma Chileno de Papas de la Universidad Austral de Chile (UACH) creado en el año 1958, una colección netamente nacional ubicada en Valdivia con alrededor de 270 clones cultivados que junto con semillas sexuales alcanzan más de 500 accesiones colectadas por todo el territorio nacional y que también forma parte de la Red Nacional de Bancos de Germoplasma junto con el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Corporación Nacional Forestal (CONAF), Instituto Forestal de Chile (INFOR), entre otras organizaciones y universidades (UACH, 2017).

II.III *Ralstonia solanacearum* en Chile

Brasil y Perú son considerados uno de los centros ancestrales del origen del patógeno de RSSC, de más específicamente, el filotipo II. Uno de los primeros reportes en América Latina fue en Rio Grande do Sul, Brasil en el año 1922. La zona del Amazonas ha sido sugerido como centro putativo del origen del filotipo II (Santiago et al., 2017, 2020; Wicker et al., 2012). La raza reportada como 3 y biovar 2 de *Ralstonia solanacearum*, clasificación actual como: filotipo IIB sequevar 1, es la reportada por lograr afectar los cultivos de papa y otras especies, descubierta en la región andina de Sudamérica cuya dispersión al norte del continente europeo, aumentó la incidencia y severidad de la enfermedad, causando grandes daños (Chávez et al., 2012; Fegan & Prior, 2005).

En Chile, RSSC fue reportada por primera vez afectando tubérculos de papas en la localidad de Lonquén en el año 1982. Reportes de infecciones fueron reportadas posteriormente en las regiones de Valparaíso, del Maule y la Región del Bio-Bío. Además, RSSC afectando otras

especies como el ají (*Capsicum annuum* L. var. *longum* Sendt.), el pimentón (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt.) y el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fueron incorporadas en el Compendio de Fitopatógenos de Cultivos Agrícolas de Chile del SAG (Acuña, 2008). Adicionalmente, en el año 2009 fue detectada en papas en la región de La Araucanía y en el año 2013 ocurrieron las primeras apariciones en la región de Los Ríos. En el año 2014 se confirmaron las detecciones en la Región de Los Ríos, con apariciones infecciosas también los años 2017 y 2018. Además, por primera vez, el año 2020 se ha reportado RSSC (filotipo IIB sequevar 1) afectando tomates en diferentes regiones de Chile, con aislados analizados del Valle de Azapa de la Región de Arica (clima desértico) y de localidades centrales, Quillota y Olmué de la Región de Valparaíso y de Pichidegua de la Región de O'Higgins (clima templado) (Ciampi-Panno, 1984; Galdames & Gutiérrez, 2020; Vásconez et al., 2020; INIA, 2023).

El Servicio Agrícola Ganadero (SAG) de Chile mantiene un Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa inmerso en un Programa Nacional de Sanidad de dicho cultivo, con el fin de proteger el patrimonio fitosanitario de la zona productora de semillas de papa ubicada en el sur del país y establece la prohibición de ingreso de papas desde fuera del área libre. Esta es la única zona designada por ley para la producción y exportación de semilla de papa en Chile (Resolución N°3.276 de 2016 declara Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la papa, al área comprendida por la Provincia de Arauco, Región del Biobío y las Regiones de La Araucanía al Sur, SAG). Además, incluye la prohibición de sembrar cultivos hospederos (papa, tomate, ají, pimentón y berenjena) de las plagas cuarentenarias de *Ralstonia solanacearum* (raza 3, biovar2) por 4 años de cultivo, luego de cumplido el plazo se levanta la prohibición siempre que se confirme la ausencia del patógeno por análisis de laboratorio de acuerdo con los protocolos del Servicio Agrícola Ganadero (SAG – Ministerio de Agricultura). Algunos de los consejos que el SAG entrega a los productores de tubérculos son: realizar la trazabilidad y registro de las producciones, con respaldo documental que acredite el origen de las semillas en el caso de los productores, la autorización de movimiento o comprobante de fraccionamiento si es un transportista o comerciante donde se acredite el origen de la carga o producto. Según el Listado de predios bajo cuarentena del año 2021, en el Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa, el SAG identificó 51 predios afectados por *Ralstonia solanacearum* que corresponde a una superficie de 586,6 hectáreas afectadas (“Listado de predios bajo cuarentena, en el Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa (ALPCP) SAG 2021”, 2021).

II.IV Hipótesis y objetivos

II.IV.I Hipótesis

Cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile presentan diversidad genética, se asocian con cepas de otras partes del mundo, y varían en su virulencia, cuando afectan diferentes variedades de papas nativas chilenas.

II.IV.II Objetivo general

Determinar relaciones filogenéticas de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile con otras del mundo, y evaluar su virulencia en especies nativas de papa.

II.IV.II Objetivos específicos

1. Establecer las relaciones filogenéticas de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile y el mundo, analizando su diversidad genética y distribución geográfica.
2. Evaluar la patogenicidad y susceptibilidad en variedades nativas de papa de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile.

III. METODOLOGÍA

Este trabajo fue realizado asociado al Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental (LMMBA) del Departamento de Química y en las dependencias Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt” (CBDAL) de la Universidad Técnica Federico Santa María.

III.I Objetivo 1: Establecer las relaciones filogenéticas de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile y el mundo, analizando diversidad genética y distribución geográfica.

III.I.I Cepas de *Ralstonia solanacearum*

Los aislados de *Ralstonia solanacearum* utilizados fueron obtenidos e identificados en trabajos previos realizados en el Centro de Biotecnología (CBDAL), en colaboración con el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, adicionalmente se colaboró en la toma de muestras, aislamiento e identificación de nuevas cepas de *Ralstonia solanacearum* afectando cultivos agrícolas de papa y tomate durante el desarrollo de esta tesis. A todas las cepas se les realizó, previamente a este estudio, una amplificación parcial del gen 16S rRNA. Los protocolos de PCR, temperaturas y tiempos utilizados para 16S son descritos en la Tabla 3. Las 22 cepas fueron recolectadas entre junio 2017 y noviembre 2021, provenientes de diversas regiones de Chile, hospedantes de suelo y de cultivo de tomate y papas afectadas por marchitez bacteriana identificadas en primera instancia por inspección visual y corroboradas por PCR con los partidores 759/650 específico para *Ralstonia solanacearum* descritos en la tabla 4.

Tabla 3: Protocolo RSSC PCR 16S (Lane, 1991; Claverías et al., 2015).

Protocolo RSSC PCR 16S		
Primers	27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')	
	1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')	
Desnaturalización inicial	95°C	5 min
30 ciclos		
- Desnaturalización	95°C	1 min
- Alineación	55°C	1 min
- Extensión	72°C	1,5 min
Final Extensión	72°C	10 min

Tabla 4: Protocolo RSSC PCR 759/760 (Opina et al., 1997).

Protocolo RSSC PCR 759/760	
Primers	759F (5'-GTCGCCGTCAACTCACTTTCC-3')

	760R (5'-GTCGCCGTCAGCAATGCGGAATCG-3')	
Desnaturalización inicial	94°C	3 min
Alineación	53°C	1 min
Extensión	72°C	1,5 min
30 ciclos de		
- Desnaturalización	94°C	15 s
- Alineación	60°C	15 s
- Extensión	72°C	15 s
Final Extensión	72°C	5 min

Los aislados fueron mantenidos en medio CPG en el cepario del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental (LMMBA) del Departamento de Química y el Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt” (CBDAL) de la Universidad Técnica Federico Santa María. El almacenamiento de las cepas para la realización de los experimentos se realizó en agua destilada estéril, tomando una colonia pura desde el medio sólido CPG con un asa en loop, y la biomasa suspendida en 500 µL de agua destilada estéril en tubos eppendorf de 2 mL, y almacenados a temperatura ambiente. Los medios de cultivo utilizados en este estudio para *Ralstonia solanacearum* son detallados en la Tabla 5, descritos por Kelman, 1954. Las cepas utilizadas, junto con los hospederos, fecha y zona geográfica del aislamiento junto con los síntomas de la enfermedad son presentadas en la Tabla 6.

Tabla 5: Medios de cultivo para RSSC (Kelman, 1954).

Medios de cultivos para <i>Ralstonia solanacearum</i>					
Medio CPG		Medio TZC		Medio Fi Φ	
Ácido casamino	1 g/L	Ácido casamino	1 g/L	Ácido casamino (Hidrolizado de caseína)	1 g/L
Peptona	10 g/L	Peptona	10 g/L	Peptona	10 g/L
Glucosa	5 g/L	Glucosa	5 g/L	Extracto de levadura	1 g/L
Agar	17 g/L	Agar	17 g/L	Agar	15 g/L
		Cloruro de tetrazolio (2,3,5-trifeniltetrazolio)	5 mL		

Para placas Petri, medio TZC se debe enfriar luego de esterilización y agregar 5 mL del stock de solución 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1%. El stock se puede almacenar congelado o a 4°C y ser esterilizado por filtrado u autoclave.

Tabla 6: Aislados de RSSC de origen nacional utilizados en este trabajo.

Nombre Cepa	Hospedero	Comuna	Región De Origen	Fecha Aislamiento	Síntomas
637A	Tomate	Quillota	Valparaíso	Abril 2019	Sin información
AT7.2	Tomate	Valle de Azapa	Arica y Parinacota	Junio 2017	Marchitez generalizada, exudación color blanco
M1AN	Tomate	Pichidegua	O'Higgins	Diciembre 2019	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema
M1bAN-2	Tomate	Pichidegua	O'Higgins	Diciembre 2019	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema

M4MP-2	Tomate	Pichidegua	O'Higgins	Diciembre 2019	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema
OS1	Suelo cultivo tomate	Olmué	Valparaíso	Octubre 2021	No aplica, aislamiento desde suelo
OS2	Suelo cultivo tomate	Olmué	Valparaíso	Octubre 2021	No aplica, aislamiento desde suelo
OS3	Suelo cultivo tomate	Olmué	Valparaíso	Octubre 2021	No aplica, aislamiento desde suelo
OTM1	Tomate	Olmué	Valparaíso	Enero 2021	Marchitez generalizada, necrosis, canchales abiertos. Daño severo.
OTR1	Tomate	Olmué	Valparaíso	Octubre 2021	Leve marchitez de la planta
OTR3A	Tomate	Olmué	Valparaíso	Octubre 2021	Planta dañada en haces vasculares
SCP1B1	Papa	San Javier	Maule	Mayo 2022	Marchitez, necrosis severa en el cuello de la planta, necrosis haces vasculares en tubérculos
SCP1B2	Papa	San Javier	Maule	Mayo 2022	Marchitez, necrosis severa en el cuello de la planta, necrosis haces vasculares en tubérculos
SNP1A	Papa	San Javier	Maule	Mayo 2022	Marchitez, muy leve necrosis haces vasculares en tubérculos
SNP1B	Papa	San Javier	Maule	Mayo 2022	Marchitez, muy leve necrosis haces vasculares en tubérculos
SNP2A	Papa	San Javier	Maule	Mayo 2022	Marchitez, muy leve necrosis haces vasculares en tubérculos
TL-1.1A	Tomate	Olmué	Valparaíso	Mayo 2019	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema
TL-2.0B	Tomate	Olmué	Valparaíso	Mayo 2019	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema
TPM4	Suelo cultivo papa	Temuco	Araucanía	Noviembre 2021	No aplica, aislamiento desde suelo
TTE2	Tomate	Colin, Talca	Maule	Enero 2021	Marchitez, necrosis generalizada. Severa necrosis en el cuello, pardeamiento en el tallo decreciendo hacia el ápice.
VAT16B	Tomate	Valle de Azapa	Arica y Parinacota	Agosto 2021	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema
VAT17B	Tomate	Valle de Azapa	Arica y Parinacota	Agosto 2021	Marchitez generalizada, decaimiento y necrosis de xilema

III.I.II Análisis Multi-locus VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) MLVA RSSC

Para el análisis MLVA se realizaron PCR utilizando partidores para amplificar seis RSSC VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) (L504, L539, L540, L563, RS2BL21, RS2BL24) seleccionados según la descripción de Parkinson et al., 2013 y N'Guessan et al.,

2013, presentados en la Tabla 7, verificados en gel al 2% de agarosa mediante electroforesis utilizando SafeView Plus 20,000X (Fermelo Biotec, Chile). Los productos de PCR fueron secuenciados con Método de Sanger en el Servicio de Secuenciación de Pontificia Universidad Católica de Chile (Santiago, Chile) y las secuencias obtenidas fueron ensambladas y editadas utilizando el software Geneious Prime 2023.0.3 software (Biomatters).

Tabla 7: Protocolos de RSSC para MLVA según N'Guessan et al., 2013 y Parkinson et al., 2013.

Protocolo RSSC para MLVA					
Referencia	Nombre	TRS <i>tandem repeat sequence</i>	Secuencia Primers		
(Parkinson et al., 2013)	L504	CAAGTGG	F: GGCCGACCAGCGCTCCACAAG R: CGGACGGTTTGGATGGTCATCAACATGA		
	L539	TTGCTGCCCTGCGCA	F: GCGCAACGCCCATATCATTTCG R: CGAGGCACAGCCGATGCTGATG		
	L540	GGTGAGTC	F: GTTGTCATGGCAGTCCTGGTGAGATC R: ACCATCGACCTGGAGCACGATC		
	L563	CCTCTAG	F: ACGTTCGCGTAGGGCGTGACAAG R: TACACGGCGGCGATGTGCTGAC		
	Protocolo PCR	Desnaturalización		94°C	2 min
		34 ciclos de			
		-	Desnaturalización	94°C	45 s
-		Alineación	55°C	30 s	
-		Extensión	72°C	30 s	
	Final Extensión		72°C	10 min	
(N'Guessan et al., 2013)	RS2BL21	AGTGCCC	F: CGGCATGGAGGGTCGGGCTGAGGTTG R: GGCACCTGGCCGGAAGAGAGAGAGCGT		
	RS2BL24	AACATG	F: CGGGCGAAGGCTCGCAGGCCAA R: GGCCGGACGATACATGCCACCGCTCAC		
	Protocolo PCR	Desnaturalización		96°C	5 min
		30 ciclos de			
		-	Desnaturalización	94°C	45 s
		-	Alineación	55°C	30 s
		-	Extensión	72°C	30 s
	Final Extensión		72°C	10 min	

El conteo de repeticiones de TRS (*tandem repeat sequence*) se realizó en forma manual y posteriormente se realizó la comparación entre cepas con referencias, corroborado a la par también con las herramientas del software Geneious Prime 2023.0.3 software (Biomatters). Finalmente se construyeron dos *minimum spanning tree*, utilizando la herramienta Phyloviz (<https://online.phyloviz.net/index>), uno utilizando las 22 cepas chilenas y otro, agregando 21 secuencias de aislados internacionales de disponibilidad pública en NCBI que contuviesen los loci VNTR seleccionados involucrados en el análisis MLVA descritas con nombre de cepa, hospederos y origen del aislado, junto con el código de acceso de GenBank y la calidad de las secuencias según NCBI CheckM en la Tabla 8 (N'Guessan et al., 2013; Parkinson et al., 2013).

Tabla 8: Cepas de RSSC de origen internacional utilizadas en este trabajo

Nombre Cepa	Hospedero	Código Acceso GenBank	Origen	Calidad NCBI CheckM análisis (v1.2.2)	
				Compleitud	Contaminación
CFIA906	Papa	GCF_000710135.2	India	97.1%	1.78%
GEO_230	Papa	GCF_002894795.1	Georgia	89.79%	1.76%
GEO_304	Papa	GCF_002894775.1	Georgia	96.22%	1.78%
GEO_55	Papa	GCF_002894845.1	Georgia	96.86%	1.93%
GEO_57	Papa	GCF_002029885.1	Georgia (Akhaltsikhe)	97.15%	1.78%
GEO_6	Papa	GCF_002894765.1	Georgia	96.45%	1.78%
GEO_81	Papa	GCF_002894785.1	Georgia	94.34%	1.93%
GEO_96	Tomate	GCF_002029895.1	Georgia (Khekvachauri)	97.42%	1.78%
GEO_99	Pimiento	GCF_002029865.1	Georgia: Keda	97.39%	1.93%
IPO1609	Banana	GCF_001050995.1	Filipinas	92.55%	2.28%
POPS2	Planta infectada	GCF_000750585.1	China	96.45%	1.91%
RS2	S/I	GCF_001373295.1	France (Reunión CIRAD)	90.07%	1.10%
UW24	Papa	GCF_001696855.1	Israel	96.22%	1.78%
UW365	Papa	GCF_001696865.1	China	97.39%	1.78%
UW491	Papa	GCF_001696845.1	Colombia	94.85%	1.09%
UW551	Geranio	GCF_002251655.1	Kenia	96.70%	2.56%
UY031	<i>Solanum commersonii</i> (Papa silvestre)	GCF_001299555.1	Uruguay	96.53%	1.93%
NCPPB 282	Papa	GCF_000750575.1	Colombia	93.99%	1.09%
RS 488	Tomate	GCF_002501565.1	Brasil (Grandes Ríos, Paraná)	96.55%	1.93%
NCPPB 909	Papa	GCF_000710695.1	Egipto	97.41%	2.25%
CFBP 8695	Papa	GCA_009832805.1	Irán	96.23%	1.93%

III.II **Objetivo 2:** Evaluar la patogenicidad en variedades nativas papa de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile.

Para este objetivo primero se trabajó en el desarrollo de cultivos *in vitro* junto con cultivos en sustrato directo y la evaluación de su crecimiento inicial y desarrollo. Además, para conocer las respuestas preliminares frente a RSSC de distintas variedades de papa se evaluaron, tubérculos completos sembrados en suelo directamente y secciones (rodajas) estériles de distintas variedades papa frente a una cepa de RSSC aislada en Chile. Los ensayos estaban restringidos a la cantidad de material vegetal obtenido de cada variedad de papa evaluada.

III.II.I Ensayos de cultivo de papas nativas (*in vitro* y sustrato directo)

Brotos de tubérculos, o comúnmente denominados ojos o yemas de papa desarrollados durante el estado de brotación múltiple de los tubérculos de papas, de crecimiento entre 1 y 2 cm fueron el material vegetal inicial utilizado para los ensayos. Durante el período de brotación de los tubérculos de papa, se obtuvo yemas que fueron sembradas directamente en sustrato (compost: vermiculita 2:1), y en cultivos *in vitro* en frascos de vidrio para asegurar su crecimiento inicial y aclimatación. Se utilizó medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) enriquecido con 2% sacarosa descrito en la Tabla 9 (Muñoz et al., 2019).

Tabla 9: Descripción Medio Murashige & Skoog (MS)

Medio Murashige & Skoog (MS) enriquecido con 2% sacarosa				
Información del producto	M519 MS Basal Medium with Vitamins Marca PhytoTechnology Laboratories, LLC™			
Referencia	Murashige, T and F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. <i>Physiol. Plant.</i> 15: 473-497.			
pH: 3,5 – 4,5 T° almacenamiento: 2-6°C	Formula (mg/L)			
	Ammonium Nitrate	1650	Potassium Iodide	0.83
	Boric Acid	6.2	Potassium Nitrate	1900
	Calcium Chloride, Anhydrous	332.2	Potassium Phosphate, Monobasic	170
	Cobalt Chloride•6H ₂ O	0.025	Zinc Sulfate•7H ₂ O	8.6
	Cupric Sulfate•5H ₂ O	0.025	Glycine (Free Base)	2
	Na ₂ EDTA•2H ₂ O	37.26	myo-Inositol	100
	Ferrous Sulfate•7H ₂ O	27.8	Nicotinic Acid (Free Acid)	0.5
	Magnesium Sulfate, Anhydrous	180.7	Pyridoxine•HCl	0.5
	Manganese Sulfate•H ₂ O	16.9	Thiamine•HCl	0.1
	Molybdic Acid (Sodium Salt)• 2H ₂ O	0.25		

Los cultivos fueron mantenidos en cámaras controladas con temperaturas entre los 20-25°C con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad. La clasificación sobre el crecimiento de las plantas se determinó como: sin crecimiento, crecimiento inicial (primeras hojas visibles, menor a 5 cm de altura), y etapa de desarrollo (etapa más avanzada de crecimiento, con hojas verdaderas). Y su evaluación de crecimiento se realizó entre los 14 y 21 días. En la evaluación de crecimiento por variedad se utilizó la fórmula adaptada del índice de marchitamiento propuesto por Winstead & Kelman, 1952 descrito en la Tabla 10.

Tabla 10: Fórmula de evaluación de crecimiento y categorías adaptada de Winstead & Kelman, 1952.

$\% E_v = 100 \times \sum \frac{c_i \cdot n_{v,i}}{N_v}$	Donde: <i>i</i> planta de papa <i>v</i> variedad de papa
--	--

	c_i categoría de crecimiento de la planta i $n_{v,i}$ número de plantas de variedad v en categoría c N_v número total de plantas de variedad v $\% E_v$ % efectividad de la variedad
Categorías de crecimiento (c)	
0	Sin crecimiento / Evento de contaminación
0,5	Crecimiento inicial (< 5 cm, sin hojas verdaderas)
1	Desarrollo (individuo en crecimiento, con hojas verdaderas)
La evaluación de crecimiento se realizó entre los 14 – 21 días	

Se utilizaron papas nativas de la zona de Chiloé, adquiridas comercialmente en mercados de la Región de Los Lagos. Se nombraron estas 4 variedades según el color de piel del tubérculo que presentaban “amarilla”, “morada-amarilla”, “roja” y “morada” y se realizaron 4 ensayos con ellas, incluyendo ensayos *in vitro* y en sustrato directo que fueron evaluados entre los días 14-16 desde la plantación. Adicionalmente, 3 ensayos fueron realizados utilizando 4 variedades evaluadas solo en crecimiento *in vitro*, por disponibilidad de material vegetal, adquiridas también en el comercio nacional (Región de Los Lagos) esta vez reportadas por el proveedor con nombre común “lengua de vaca” (LDV, en adelante), “viscocha” (V, en adelante), “michuñe negra” (MN, en adelante) y “clavela lisa” (CL, en adelante). Durante el desarrollo de los ensayos se mejoró progresivamente los protocolos de desinfección previa del material vegetal para mejorar las condiciones y resultados de los ensayos, descrito en la Tabla 11, estos ensayos fueron evaluados entre los días 15 y 21 desde la plantación. Cabe mencionar que el material vegetal disponible era limitado por lo que la replicabilidad de los ensayos en algunos casos no fue alcanzada.

Tabla 11: Protocolo de desinfección

Protocolo de desinfección	
Pasos	Descripción
1	Hidratación con agua estéril (30 min)
2	Lavado con detergente convencional (10 min) *
3	Enjuague con agua estéril
4	Adición de Captan (2 g/L) (5 min) *
5	Enjuague con agua estéril
6	Lavado con etanol 70° (1 min)
7	Enjuague con agua estéril
8	Adición de hipoclorito 1% (5 min) *
9	Enjuague con agua estéril

En primera instancia se agregó el paso N°4, con la adición de Captan® plaguicida de uso general para disminuir la carga bacteriana del material. Para los ensayos N°3 y N°4 (de las

papas “amarilla”, “morada-amarilla”, “roja” y “morada) se agregaron los pasos N°2 y N°8. El protocolo final de desinfección, con los pasos del N°1 al N°9 fue utilizado para los ensayos *in vitro* con las papas “lengua de vaca” (LDV), “viscocha” (V), “michuñe negra” (MN) y “clavela lisa” (CL).

III.II.II Ensayo inoculación de papa nativas

Para este ensayo se utilizaron papas también adquiridas en comercio nacional, en primer lugar, las papas nativas fueron adquiridas envasadas como “papas mix” de la marca Huertos del Ranco (Res. Sanitaria N°2495 16/04/13 Seremi Salud R. de Los Ríos) provenientes de Río Bueno informadas vía telefónica por el proveedor como “amarilla, morada y murta”, cuya revisión bibliográfica las clasificó, por variedades características de la zona. Otra variedad de papa no nativa, comercializada nacionalmente, fue utilizada proveniente de la comercializadora Ancovi, llamada Asterix, una variedad de papa de consumo regular en el país. Todas las papas están presentes en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG y fueron nombradas “Ama”, “Ro”, “Mor” y “Asterix” durante los ensayos de rodajas y el ensayo de tubérculos sembrados en sustrato.

Se utilizaron colonias de la cepa de *Ralstonia solanacearum* OTM1 cuyos detalles de aislamiento y síntomas se encuentran en la Tabla 12, extraídas desde el medio sólido CPG suspendidas con un asa en loop en agua destilada estéril hasta alcanzar una densidad en espectrofotómetro de 0,1 a 600 nm (10^8 UFC) en 50 mL. Los tubérculos completos inoculados fueron mantenidos en invernaderos de cultivo vegetal del Centro de Biotecnología CB-DAL (4 infectados / 4 control). Se mantuvieron con un riego controlado y uniforme, evitando exceso de agua. El tratamiento control fue regado con agua estéril.

Tabla 12: Cepa RSSC utilizada para los ensayos

Nombre cepa	Aislamiento	Fecha Aislamiento	Lugar Aislamiento	Síntomas observados	759/760
OTM1	Tomate	Enero 2021	Olmué, Valparaíso	Marchitez generalizada, necrosis, canchales abiertos. Daño severo	+

III.II.III Ensayo de rodajas de papa

Se realizó una prueba de inoculación directa en rodajas de tubérculos de papas denominadas en este trabajo como “Ama”, “Ro”, “Mor” y la variedad comercial “Asterix” para observar y conocer los efectos preliminares de RSSC sobre las secciones, dos ensayos consecutivos fueron realizados. El protocolo del experimento fue adaptado de Umrao et al., 2021. Los tubérculos de papas nativas y la variedad de papa comercial fueron limpiadas y sometidas un

proceso de desinfección que consistió en la inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1% por un minuto y dos lavado con agua estéril, para luego ser cortadas en rodajas, colocadas en placas Petri estériles e inoculadas con una gota de suspensión bacteriana a una concentración de 10^8 CFU/mL utilizando la cepa OTM1 junto con controles negativos inoculados con agua estéril. Las placas fueron dejadas a 25°C por 72 h y posteriormente se realizaron aislamientos para verificar la presencia *Ralstonia solanacearum* en medio Fi Φ .

La identificación preliminar de las papas utilizadas en los ensayos del objetivo 2, descrito en la Tabla 13, que se realizó cruzando información del origen, con la Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica) del SAG y el Catálogo de Variedades de Papas Nativas de Chile (Contreras & Castro Urrutia, 2008).

Tabla 13: Identificación preliminar de papas utilizadas en los ensayos

Nombre utilizado en este trabajo	Identificación con nombre común
"Amarilla"	Michuñe Blanca
"Amarilla-Morada"	Cabrita
"Roja"	Michuñe Roja
"Morada"	Michuñe Negra
"LDV"	Lengua de Vaca
"V"	Viscocha
"CL"	Clavela Lisa
"MN"	Michuñe Negra
"Comercial"	Asterix
"Ama"	Clavela Redonda
"Ro"	Murta Ojuda
"Mor"	Viscocha morada

IV. RESULTADOS

IV.I Objetivo 1: Establecer las relaciones filogenéticas de cepas de *Ralstonia solanacearum* aisladas en Chile y el mundo, analizando su diversidad genética y distribución geográfica.

IV.I.I **Cepas de *Ralstonia solanacearum***

Todas las cepas chilenas utilizadas en este estudio fueron identificadas previamente o durante el desarrollo de esta tesis como pertenecientes a la especie *Ralstonia solanacearum* filotipo IIB-1, con 16S rRNA secuenciados y comparados con la base de datos NCBI y PCR 759/760 positivo, corroborando la metodología de aislamiento en terreno e identificación realizada por ambos laboratorios en colaboración, cuyos resultados se muestran en la Tabla 14. En total fueron 21 cepas examinadas, 17 cepas de RSSC aisladas de plantas de tomate y 5 cepas aisladas de papas.

Tabla 14: Cepas RSSC nacionales junto con hospederos y resultados PCR 759/760 y 16S

Nombre Cepa	Hospedero	Resultado PCR 759/760	16S (NCBI)
637A	Tomate	+	MN973783.1
AT7.2	Tomate	+	MN973784
M1AN	Tomate	+	MN973785
M1bAN-2	Tomate	+	MN973786
M4MP-2	Tomate	+	MN973787
OS1	Suelo cultivo tomate	+	Realizado
OS2	Suelo cultivo tomate	+	Realizado
OS3	Suelo cultivo tomate	+	Realizado
OTM1	Tomate	+	Realizado
OTR1	Tomate	+	Realizado
OTR3A	Tomate	+	Realizado
SCP1B1	Papa	+	Realizado
SCP1B2	Papa	+	Realizado
SNP1A	Papa	+	Realizado
SNP1B	Papa	+	Realizado
SNP2A	Papa	+	Realizado
TL-1.1A	Tomate	+	MN973781
TL-2.0B	Tomate	+	MN973782
TPM4	Suelo cultivo papa	+	Realizado
TTE2	Tomate	+	Realizado
VAT16B	Tomate	+	Realizado
VAT17B	Tomate	+	Realizado

IV.I.II Resultados Análisis Multi-locus VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) MLVA RSSC

Los resultados con cepas de origen nacional, 22 en total, revelaron que las cepas analizadas formaron 7 agrupaciones entre las cepas chilenas. A continuación, se muestra en la Tabla 15 el conteo de los VNTR encontrados por cada cepa, con lo cual se construyó el *minimum spanning tree* con los grupos descritos en la Tabla 16.

Tabla 15: Conteo de VNTR de cepas de RSSC nacionales y asignación de grupo

Nombre cepa	L504	L539	L540	L563	BL21	BL24	Grupo
637A	4	5	10	7	6	5	G2
AT7.2	7	5	10	7	6	5	G7
M1AN	4	5	10	7	6	5	G2
M1bAN-2	4	5	10	7	6	5	G2
M4MP-2	4	5	10	7	7	5	G5
OS1	7	5	10	7	6	5	G7
OS2	7	5	10	7	6	5	G7
OS3	7	5	10	7	6	5	G7
OTM1	4	5	10	7	7	5	G5
OTR1	7	5	10	7	6	5	G7
OTR3A	7	5	10	7	6	5	G7
SCP1B1	4	5	10	7	7	5	G5
SCP1B2	4	5	10	7	7	5	G5
SNP1A	3	5	10	7	7	5	G1
SNP1B	3	5	10	7	7	5	G1
SNP2A	4	4	10	7	7	5	G4
TL-1.1A	4	5	10	10	6	5	G3
TL-2.0B	4	5	10	7	6	5	G2
TPM4	7	5	10	7	6	5	G7
TTE2	4	5	10	7	6	5	G2
VAT16B	5	5	10	7	6	5	G6
VAT17B	5	5	10	7	6	5	G6

Tabla 16: Grupos descritos por MLVA de cepas nacionales

Grupo	L504	L539	L540	L563	BL21	BL24
G1	3	5	10	7	7	5
G2	4	5	10	7	6	5
G3	4	5	10	10	6	5
G4	4	4	10	7	7	5
G5	4	5	10	7	7	5
G6	5	5	10	7	6	5
G7	7	5	10	7	6	5

G1 incluye una cepa proveniente de una planta de papa de la Región del Maule. G2 cepas de RSSC provenientes de plantas de tomate de las regiones del Maule, O'Higgins y Valparaíso. G3 incluye aislados de plantas de tomate de Valparaíso. G4 aislados de plantas de papa de la Región del Maule. G5 aislados de plantas de tomate y papa de las regiones de Maule,

O'Higgins y Valparaíso. G6 aislados de plantas de tomate de la región de Arica y Parinacota. Y, por último, G7 incluye aislados de la región de Valparaíso, Arica y Parinacota y Araucanía provenientes de aislados de suelo de tomate y papa y también de plantas de tomate. La Figura 4, muestra los resultados del MLVA de cepas chilenas de RSSC.

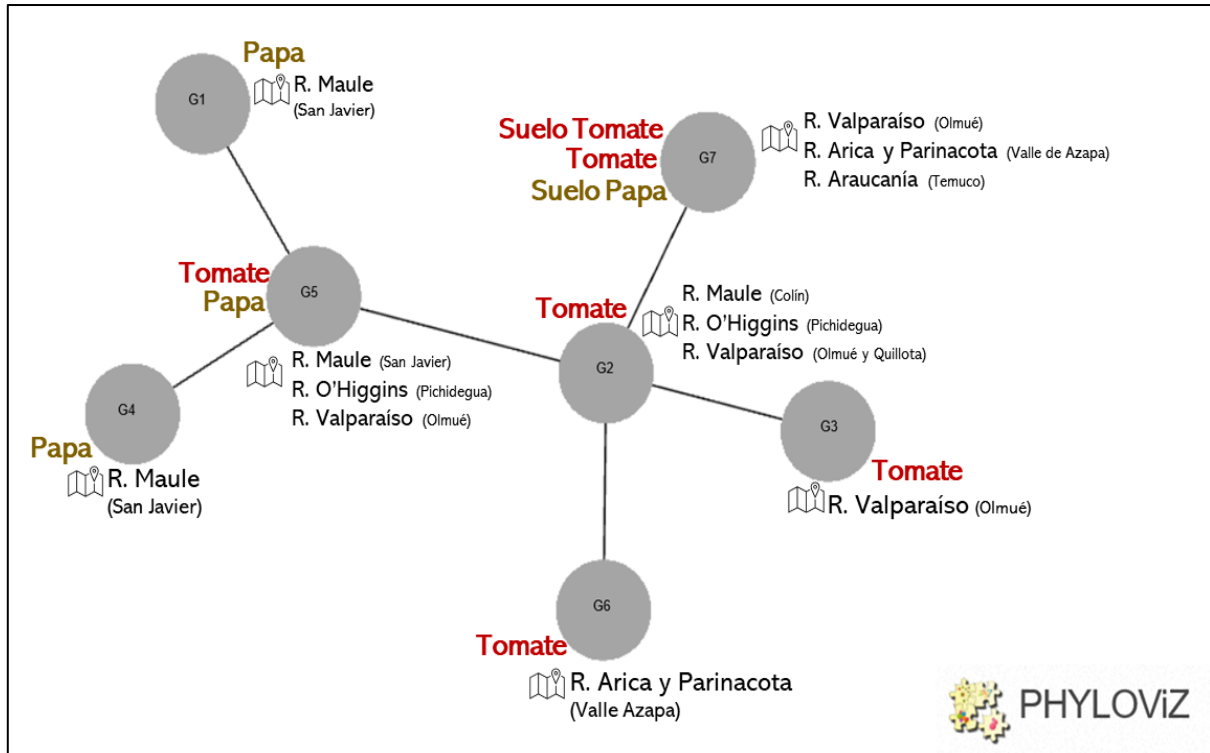


Figura 4: *Minimum spanning tree* de cepas chilenas de *Ralstonia solanacearum* filotipo IIB aisladas de papa y tomate de diferentes regiones en base a análisis MLVA.

Adicionalmente, se construyó un mapa geográfico de Chile con la presencia de RSSC mostrado en la Figura 5, destacando el primer reporte y los posteriores de RSSC, junto con el origen de las cepas de utilizadas en este estudio.

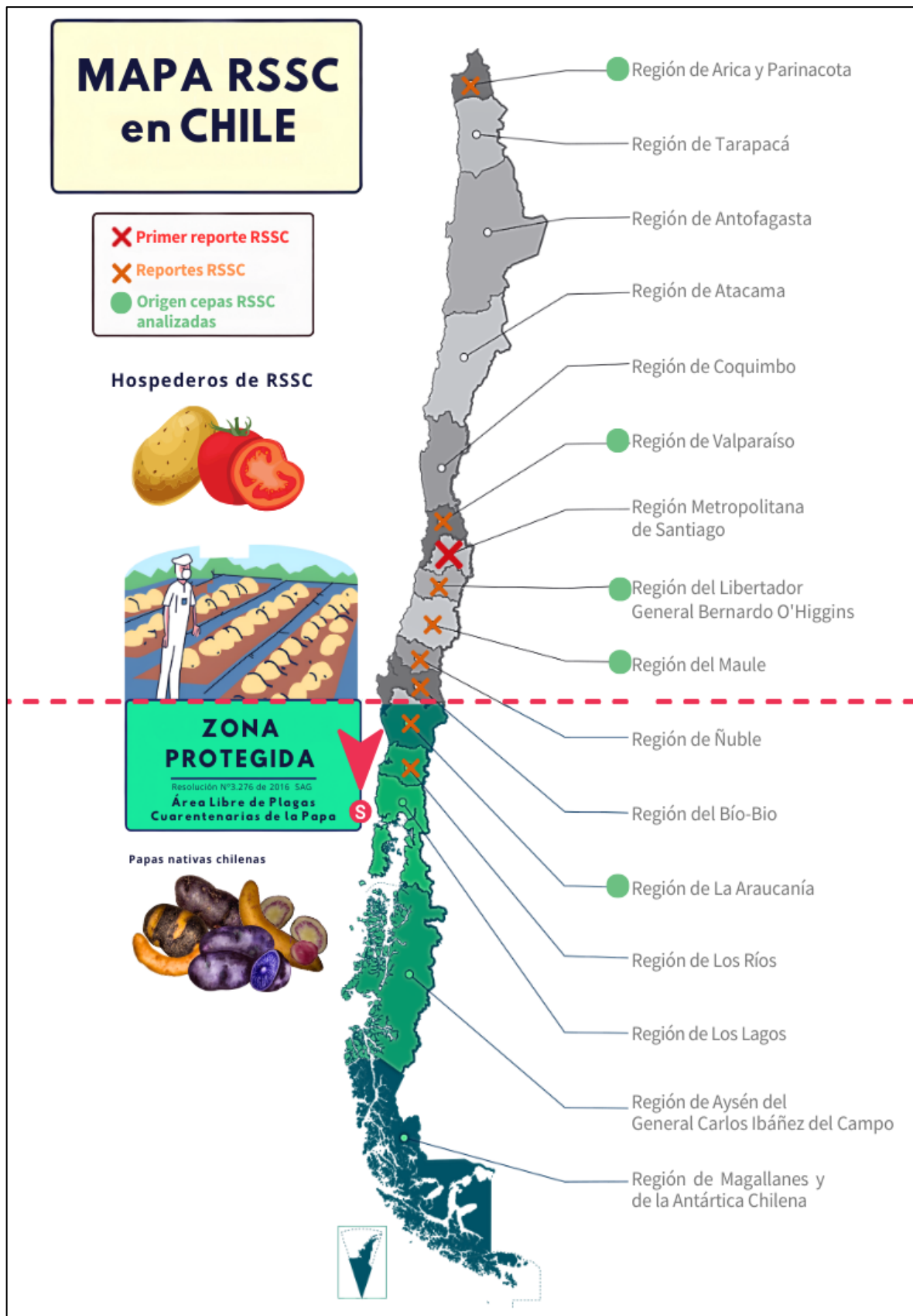


Figura 5: Mapa de Chile y presencia de RSSC. En cruz roja se indica el primer reporte de RSSC en Chile y las posteriores apariciones de brotes en cruces naranjas, afectando a papas y tomates. En círculo verde se indican las regiones de origen de las cepas estudiadas en este trabajo. Con línea punteada se indica la zona geográfica límite del Áreas Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa, Zona Protegida por el SAG de RSSC, zona de origen de papas nativas chilenas.

Al incluir 21 cepas Filotipo IIB-1 de otros orígenes, es decir, un análisis de 43 cepas en total, cuyo conteo de VNTR se muestra en la Tabla 17, se observó una distribución en 21 haplotipos, uno de ellos compartido entre cepas chilenas y de Egipto. La Tabla 18 muestra los grupos resultantes del análisis MLVA incluyendo todas las cepas de *Ralstonia solanacearum*.

Tabla 17: Conteo de VNTR de cepas de RSSC y asignación de grupo

Nombre Cepa	L504	L539	L540	L563	BL21	BL24	Grupo
637A	8	5	11	7	11	8	G5
AT7.2	13	5	11	7	11	8	G21
CFBP 8695	11	5	12	7	11	8	G20
CFIA906	8	3	11	7	11	8	G9
GEO_230	8	4	3	7	12	8	G10
GEO_304	8	5	12	8	11	8	G11
GEO_55	9	5	3	7	12	8	G17
GEO_57	8	4	12	7	12	8	G12
GEO_6	8	5	12	7	12	8	G13
GEO_81	8	4	12	7	12	8	G12
GEO_96	8	4	12	7	12	8	G12
GEO_99	8	4	12	7	12	8	G12
IPO1609	11	5	12	7	11	8	G20
M1AN	8	5	11	7	11	8	G5
M1bAN-2	8	5	11	7	11	8	G5
M4MP-2	8	5	11	7	12	8	G7
NCPPB 282	8	2	9	7	10	7	G13
NCPPB 909	8	5	11	7	12	8	G7
OS1	13	5	11	7	11	8	G21
OS2	13	5	11	7	11	8	G21
OS3	13	5	11	7	11	8	G21
OTM1	8	5	11	7	12	8	G7
OTR1	13	5	11	7	11	8	G21
OTR3A	13	5	11	7	11	8	G21
POPS2	5	4	0	7	6	8	G1
RS 488	10	7	11	8	12	8	G18
RS2	6	3	8	4	17	6	G3
SCP1B1	8	5	11	7	12	8	G7
SCP1B2	8	5	11	7	12	8	G7
SNP1A	7	5	11	7	12	8	G4
SNP1B	7	5	11	7	12	8	G4
SNP2A	8	4	11	7	12	8	G8
TL-1.1A	8	5	11	10	11	8	G6
TL-2.0B	8	5	11	7	11	8	G5
TPM4	13	5	11	7	11	8	G21
TTE2	8	5	11	7	11	8	G5
UW24	10	5	12	7	11	8	G19
UW365	5	4	12	7	11	8	G2

UW491	8	2	9	7	10	7	G14
UW551	8	5	12	8	11	8	G11
UY031	8	7	11	8	11	8	G15
VAT16B	9	5	11	7	11	8	G16
VAT17B	9	5	11	7	11	8	G16

Tabla 18: Tabla 16: Grupos descritos por MLVA de cepas de RSSC

Grupo	L504	L539	L540	L563	BL21	BL24
G1	5	4	0	7	6	8
G2	5	4	12	7	11	8
G3	6	3	8	4	17	6
G4	7	5	11	7	12	8
G5	8	5	11	7	11	8
G6	8	5	11	10	11	8
G7	8	5	11	7	12	8
G8	8	4	11	7	12	8
G9	8	3	11	7	11	8
G10	8	4	3	7	12	8
G11	8	5	12	8	11	8
G12	8	4	12	7	12	8
G13	8	5	12	7	12	8
G14	8	2	9	7	10	7
G15	8	7	11	8	11	8
G16	9	5	11	7	11	8
G17	9	5	3	7	12	8
G18	10	7	11	8	12	8
G19	10	5	12	7	11	8
G20	11	5	12	7	11	8
G21	13	5	11	7	11	8

efectividad de crecimiento en el mejor quintil (75-100%) cuyos resultados se muestran en la Tabla 19. En promedio la efectividad de los ensayos realizados en sustrato directo fue alrededor del 50%, mientras que los ensayos *in vitro* de crecimiento evaluado lograron un promedio de 73% de efectividad.

Tabla 19: Resultados ensayos *in vitro* y de sustrato directo de papas nativas

Variedad Papa	Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3		Ensayo 4	
	Sustrato	In Vitro	Sustrato	In Vitro	Sustrato	In Vitro	Sustrato	In Vitro
"Amarilla" Michuñe Blanca	25%	50%	50%	79%	60%	61%	43%	75%
"Amarilla- Morada" Cabrita	44%	54%	45%	58%	44%	72%	57%	81%
"Roja" Michuñe Roja	50%	61%	55%	54%	60%	67%	50%	75%
"Morada" Michuñe Negra	56%	54%	55%	63%	65%	61%	50%	81%
"LDV" Lengua de Vaca		67%		75%		88%		
"V" Viscocha		80%		83%		88%		
"MN" Michuñe Negra		90%		79%		83%		
"CL" Clavela Lisa		87%		88%		71%		
Promedio ensayo	43,75%	67,85%	51,25%	72,40%	57,19%	73,78%	50,00%	78,13%
						PROMEDIO	50,55%	73,04%

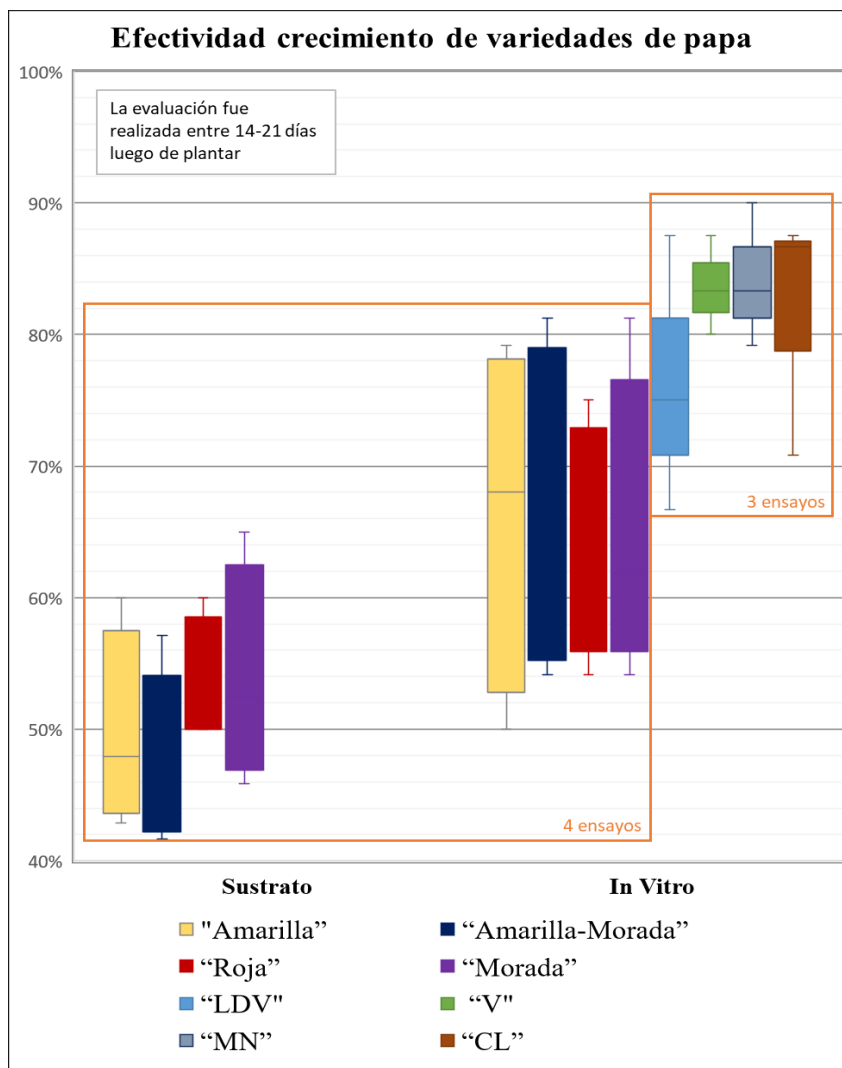


Figura 7: Efectividad de crecimiento de variedades de papa según forma de cultivo *in vitro* o sustrato directo

Al comparar los ensayos se puede observar que la medición de eficiencia de crecimiento con metodologías *in vitro* presenta mejores resultados finales para todas las variedades de papa evaluadas, mostrado en la Figura 7. La adición del fungicida Captan y la utilización de detergente y Cloro en el proceso de desinfección de yemas resultó fundamental para aumentar la efectividad de los cultivos *in vitro* y en sustrato directo, la evaluación de estos ensayos se hizo entre los 14 y 16 días.

Los ensayos realizados en sustrato directo reflejaron una efectividad que se distribuye entre el 40% y 65%. La papa "morada" Michuñe Negra presentó buenos resultados en el ensayo N°3, con un 65% de efectividad, siendo el único caso más eficiente que los ensayos *in vitro*. En el ensayo N°4 la variedad "amarilla-morada" Cabrita fue la que tuvo mejores resultados de crecimiento, con un 57% de eficiencia.

Los ensayos *in vitro* presentaron resultados entre el 50% alcanzando en casos hasta 80% de efectividad, siempre en los mejores quintiles de las mediciones. En el ensayo N°4, las papas “amarilla-morada” Cabrita y “morada” Michuñe negra fueron significativamente más efectivas en crecimiento *in vitro* con un 81% comparado con el crecimiento en sustrato directo. En la Figura 8 se muestran ejemplos de los distintos estados de los cultivos *in vitro* de papa nativa donde (A) es un ejemplo del material inicial utilizado de yemas de papas en estado de brotación múltiple (B) ejemplos de contaminación de los cultivos (C) crecimiento inicial de los cultivos *in vitro* (D) ejemplos de cultivos *in vitro* totalmente establecidos sin signos de contaminación luego de los últimos ensayos y por último (E) tuberización de cultivos de papa nativa mostrando el establecimiento de las plantas y su completo desarrollo.

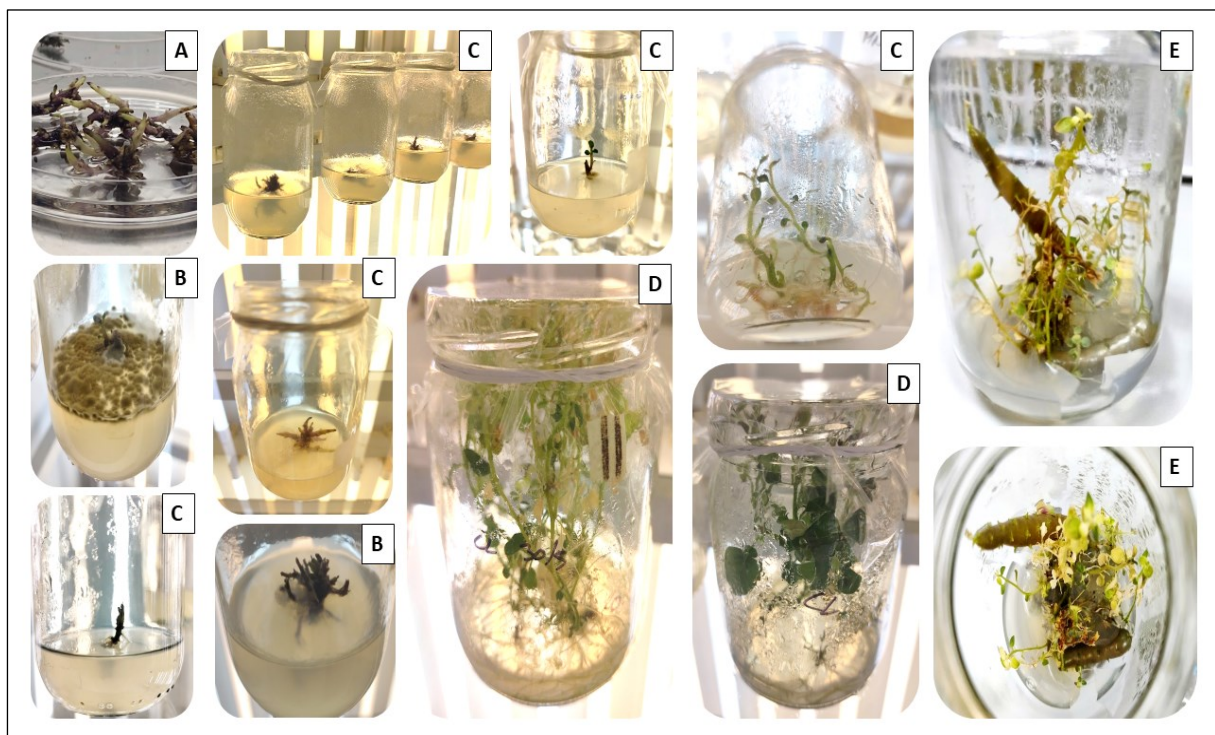


Figura 8: Ensayos de cultivos *in vitro* (A) Material vegetal inicial de los cultivos (B) Ejemplos de contaminación de los cultivos *in vitro* (C) Crecimiento de cultivos *in vitro* en crecimiento inicial (D) Cultivos *in vitro* de papa nativa en total desarrollo (E) Ejemplo de tuberización de últimos ensayos *in vitro*.

Los últimos ensayos, realizados solo en *in vitro*, por disponibilidad de material de “LDV”, “MN”, “V” y “CL”, mostraron que su distribución se encuentra en el mayor quintil, entre el 65% y casi 90% de efectividad, pudiendo consolidar los protocolos de desinfección para lograr una aclimatación de los ensayos. Y el período de evaluación de los últimos ensayos también fue mayor, 21 días, reflejando la capacidad de aclimatación final de estos ensayos y la eficiencia de los procesos de desinfección finales. La papa Viscocha “V” mostró ser la más robusta de los ensayos *in vitro* finales realizados, sus resultados se ubicaron en el quintil sobre

80% de efectividad. Mientras que “LDV” Lengua de Vaca tiene una distribución entre el 70% y 80% de efectividad. La Figura 9 muestra las condiciones de los ensayos realizados, donde (A) muestra las papas adquiridas comercialmente, (B) los brotes utilizados de papas en proceso de brotación múltiple, (C) las condiciones de las yemas en sustrato directo y ejemplos de crecimiento y, por último, (D) algunos ejemplos de infecciones encontradas en las plantas luego de las evaluaciones. Más detalles de los ensayos realizados son encontrados en el Anexo N°1.

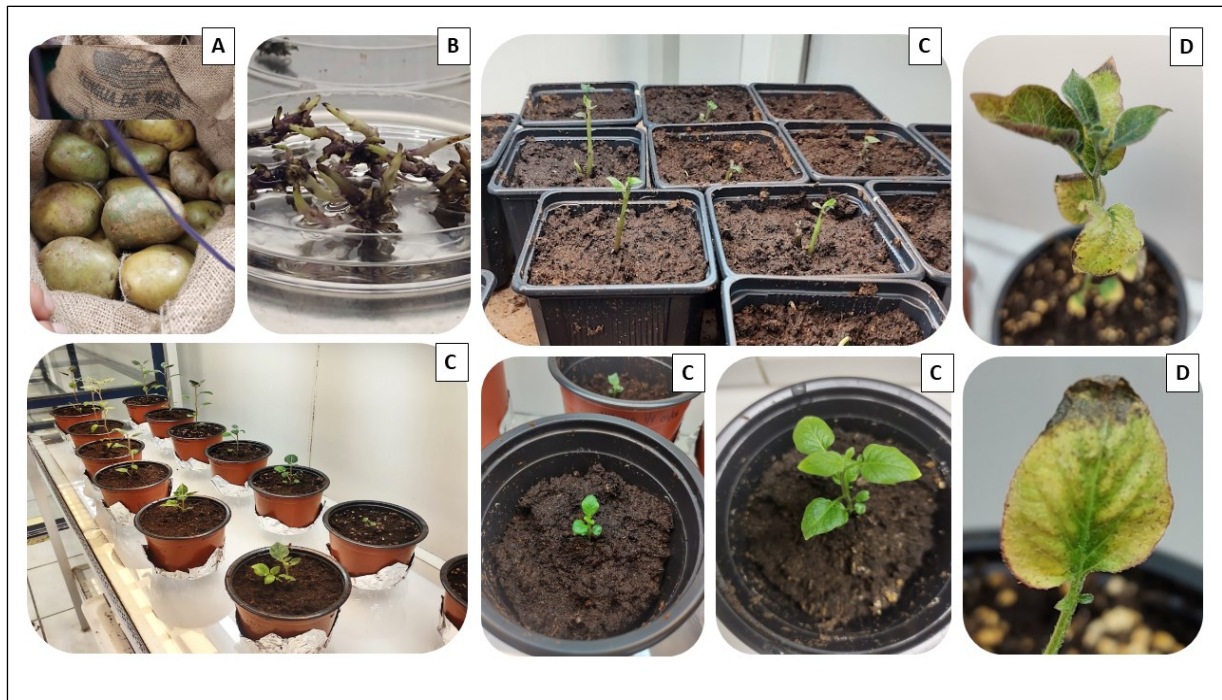


Figura 9: Ensayos de papas en sustrato directo. (A) Papa “LDV” – Lengua de Vaca, adquirida comercialmente (B) Brotes de papa utilizados durante proceso de desinfección (C) Ejemplos de crecimiento de plantas en sustrato directo (D) Ejemplo de infecciones de plantas.

IV.II.II Resultado ensayos inoculación de papas nativas

La Figura 10 muestra los resultados de crecimiento del ensayo de tubérculos inoculados con RSSC. Los tubérculos evaluados de la variedad “ama” Clavela Redonda tuvieron una masa promedio de 52,58 [g] con un largo de 5,54 [cm] y ancho 4,01 [cm], la variedad “mor” Viscocha Morada un peso de 50,93 [g], largo 5,11 [cm] y ancho 4,08 [cm], la variedad “ro” Murta Ojuda 49,85 [g], lago 4,91 [cm] y ancho 4,21 [cm], y, por último, la variedad “Asterix” (comercial) una masa promedio de 48,60 [g], ancho 3,94 [cm] y largo de 5,75 [cm], el detalle de los tubérculos utilizados se encuentra en el Anexo N°2.

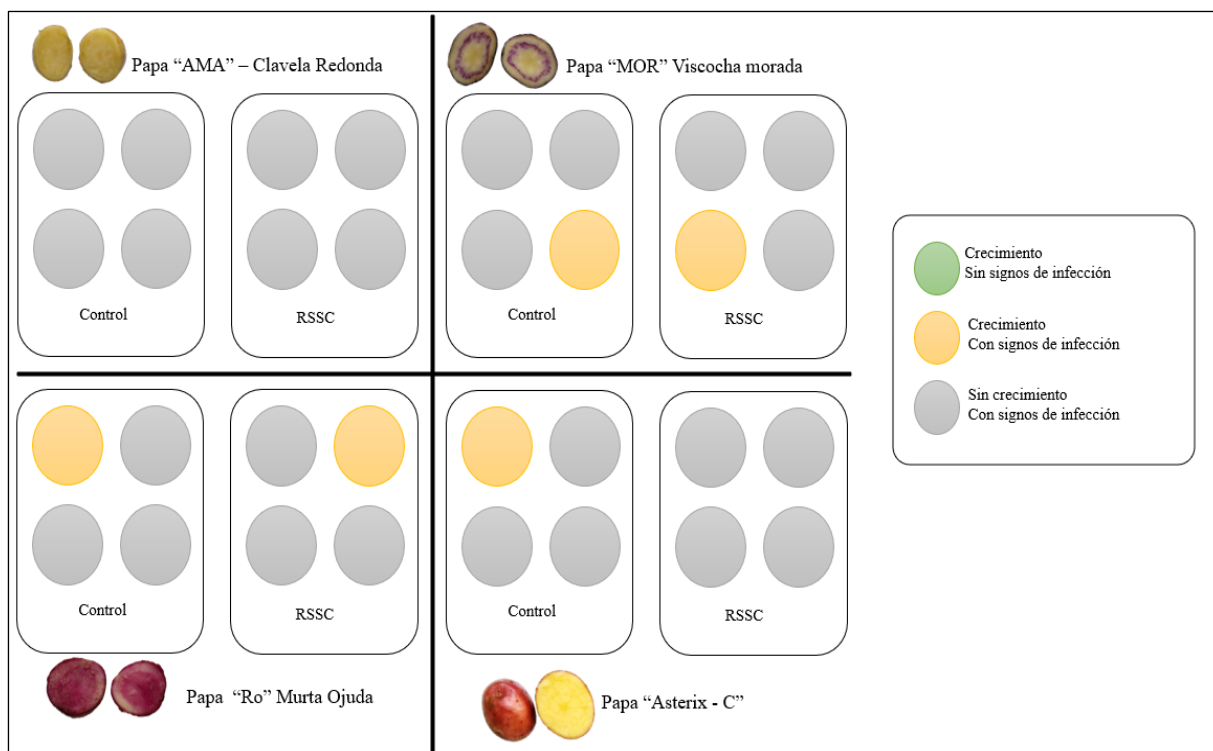


Figura 10: Ensayo con tubérculos de papa. Se utilizaron papas "Ama" – Clavela Redonda, "Ro" – Murta Ojuda, "Mor" – Viscocha Morada y "C" – Asterix. Se muestra la distribución de las macetas evaluadas, siendo 4 controles y 4 infecciones con RSSC. El círculo verde indica crecimiento sin signos de infección, círculo amarillo, crecimiento con signos de infección y el círculo gris aquellas macetas que no presentaron crecimiento y cuyos tubérculos presentaron infección.

La evaluación de este ensayo reveló una gran contaminación en los tubérculos, incluso en aquellas macetas que presentaban crecimiento, las condiciones de este ensayo se muestran en la Figura 11, donde (A) muestra un ejemplo de desinfección de tubérculos, (B) la distribución de macetas, (C) y (D) el crecimiento de los tubérculos en las macetas y (E) signos de infección que presentó el ensayo. La papa "ama" Clavela Redonda no tuvo crecimiento en las macetas, ni en el control. Las papas "mor" – Viscocha Morada y "ro"- Murta Ojuda presentaron crecimiento tanto en control como en aquellas infectadas por RSSC (1 de 4 macetas), por otro lado, la variedad comercial "Asterix" también presentó crecimiento en uno de los controles, sin embargo, todos los tubérculos presentaron infecciones generalizadas, incluyendo el control.

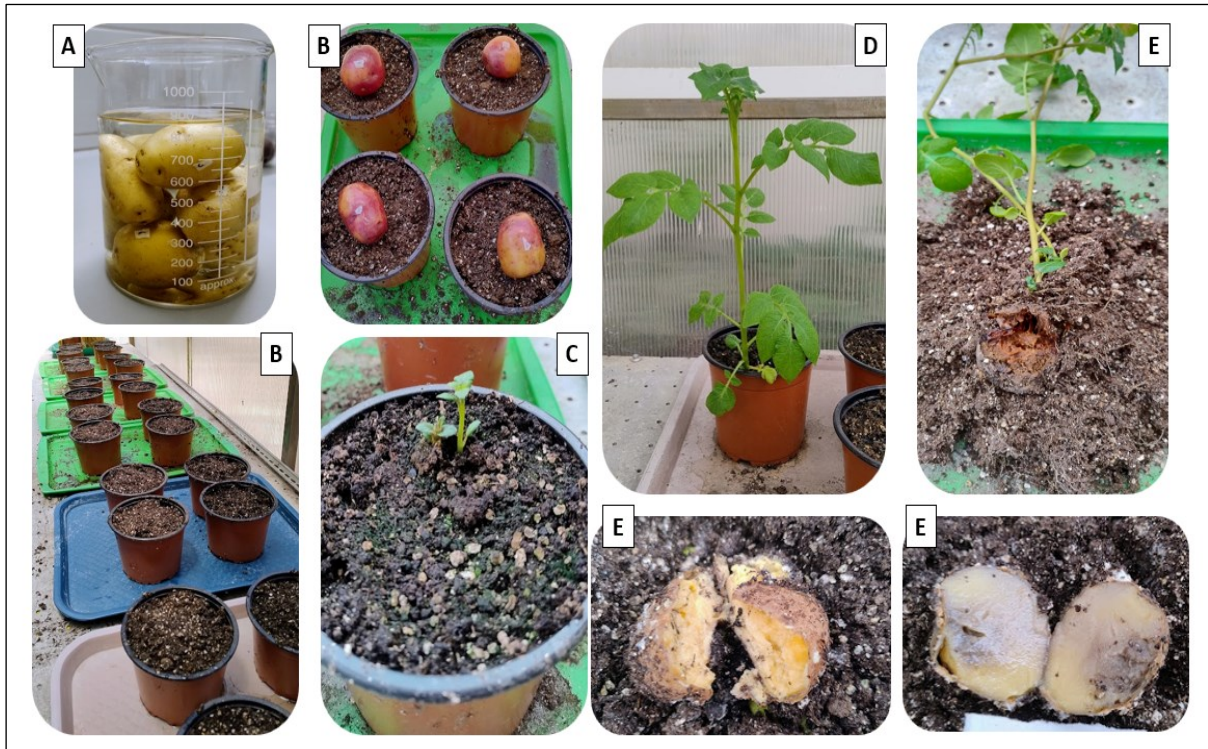


Figura 11: Ensayo en tubérculos de papa. (A) Proceso de desinfección de tubérculos (B) Distribución de tubérculos en macetas y disposición en invernadero (C) Crecimiento de tubérculos en maceta (D) Mayor crecimiento registrado en el ensayo (E) Signos de infección en tubérculos de papas en evaluación final.

IV.II.III Resultados de ensayo de rodajas de papas

Los resultados de los ensayos en rodajas mostraron que algunas las papas evaluadas son altamente susceptibles a infecciones, como se muestra en las Figuras 12, 13, 14 y 15.

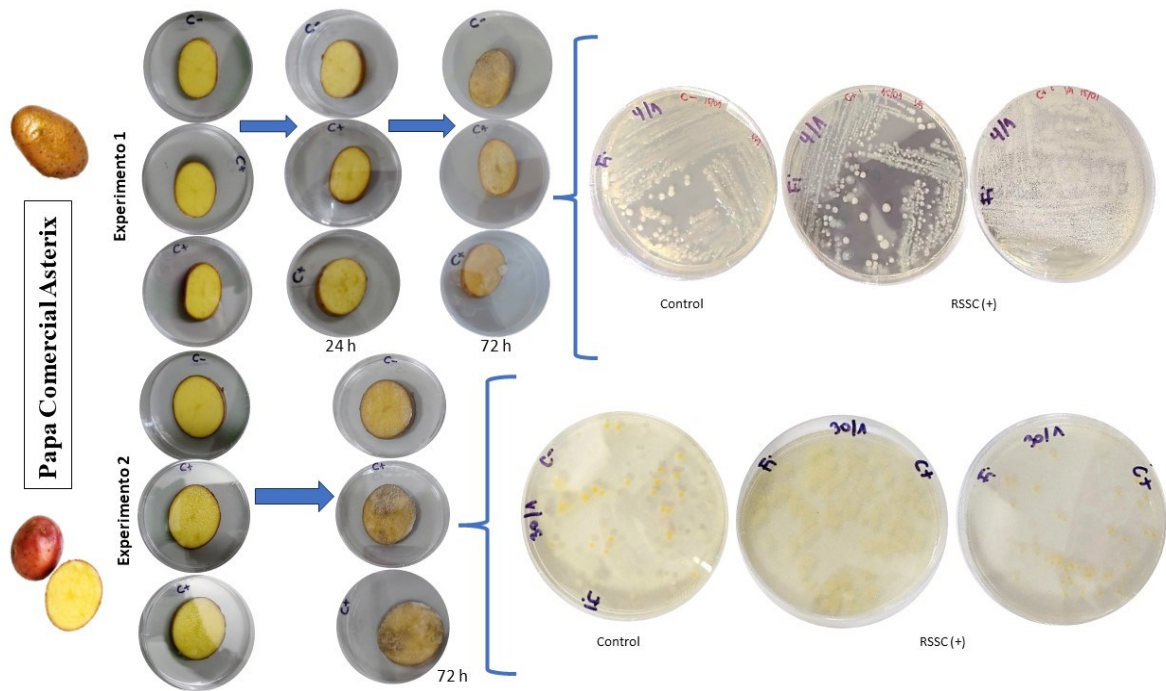


Figura 12: Resultados Papa Asterix. Experimento 1 (parte superior), se muestran el estado de rodajas a las 24h y 72h post inoculación. Resultados en siembra de placa (medio Fi Φ) a la derecha, sin presencia de RSSC. Experimento 2 (parte inferior) se muestra estado de rodajas a las 72h. Resultado en siembra de placa (medio Fi Φ), sin presencia de RSSC.

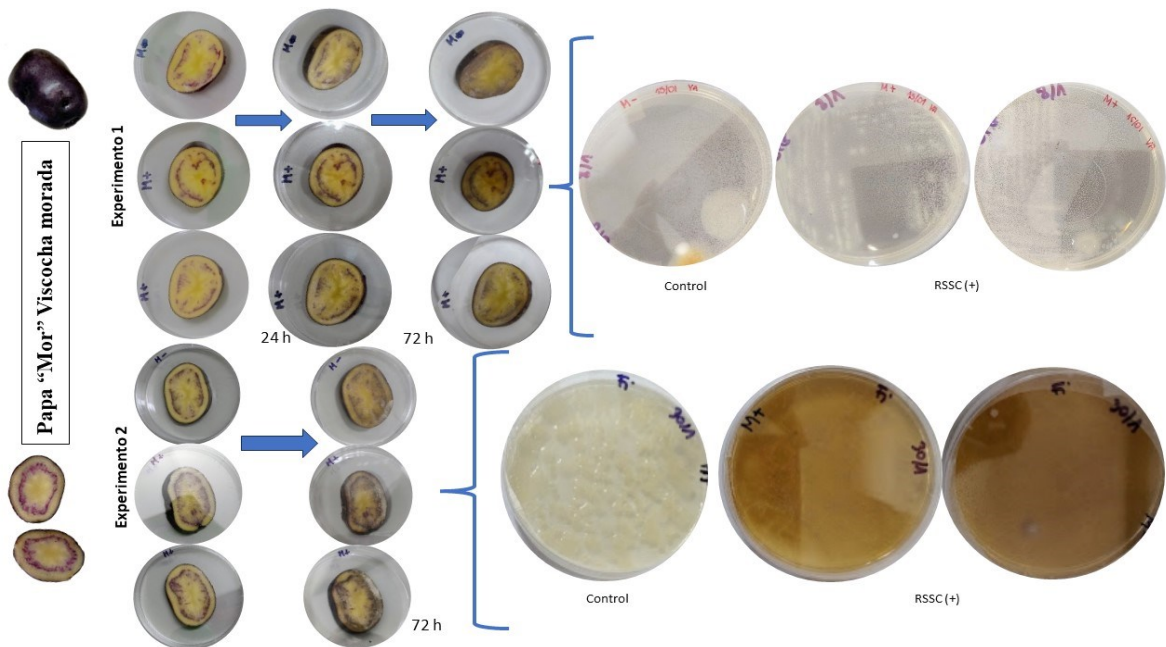


Figura 13: Resultados Papa Viscocha Morada. Experimento 1 (parte superior), se muestran el estado de rodajas a las 24h y 72h post inoculación. Resultados en siembra de placa (medio Fi Φ) a la derecha, sin presencia de RSSC. Experimento 2 (parte inferior) se muestra estado de rodajas a las 72h. Resultado en siembra de placa (medio Fi Φ), ensayos positivos con presencia de RSSC, control negativo.

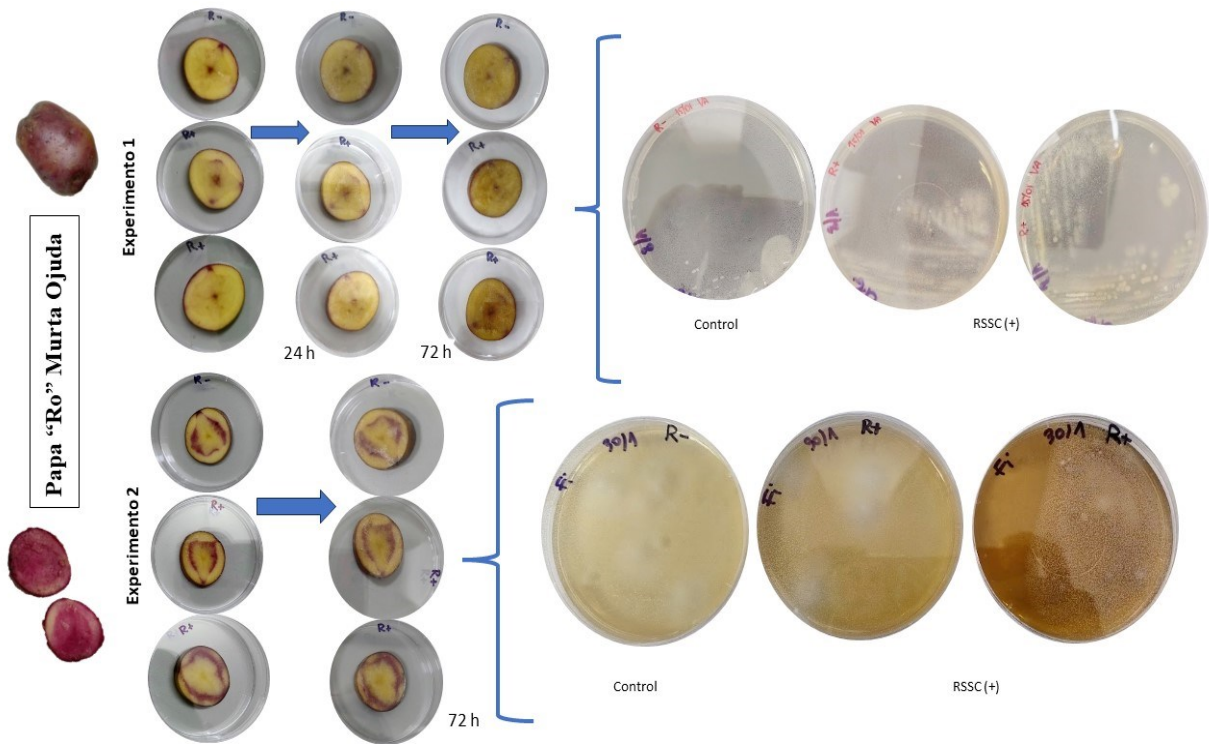


Figura 14: Resultados Papa Murta Ojuda. Experimento 1 (parte superior), se muestran el estado de rodajas a las 24h y 72h post inoculación. Resultados en siembra de placa (medio Fi Φ) a la derecha, sin presencia de RSSC. Experimento 2 (parte inferior) se muestra estado de rodajas a las 72h. Resultado en siembra de placa (medio Fi Φ), ensayos positivos con presencia de RSSC, control negativo

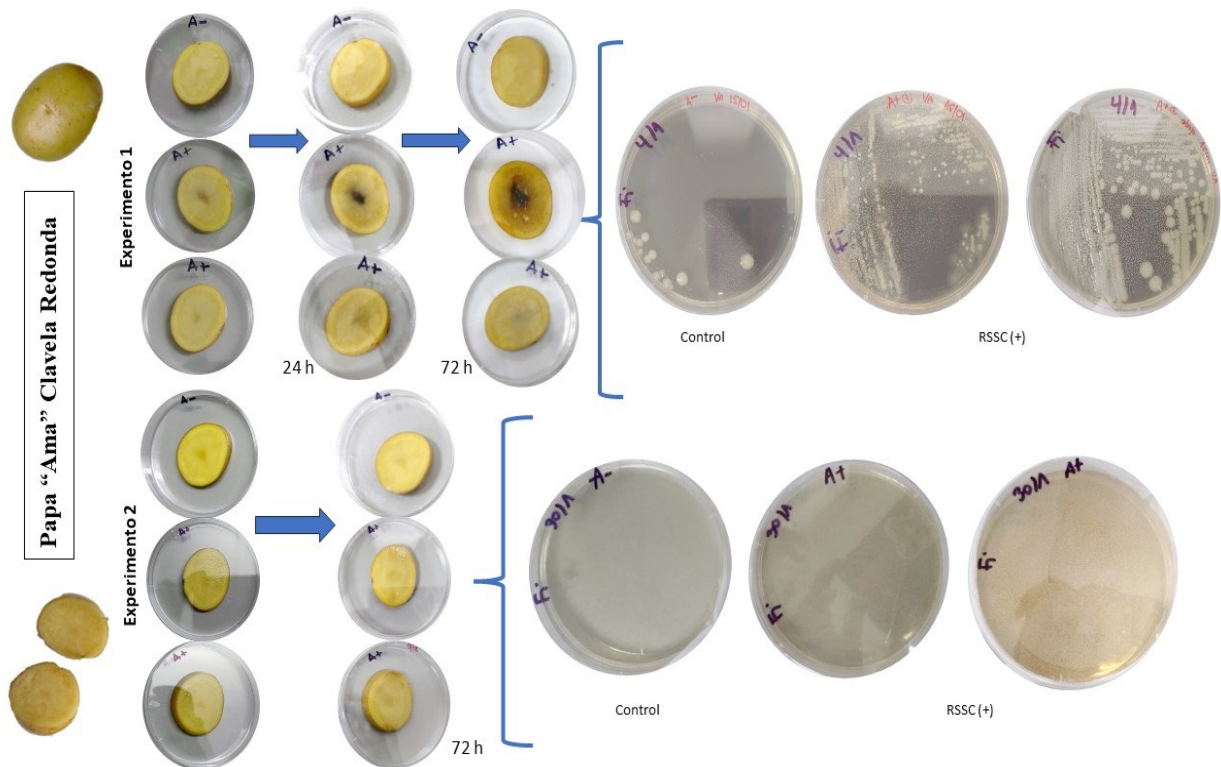


Figura 15: Resultados Papa Clavela Redonda. Experimento 1 (parte superior), se muestran el estado de rodajas a las 24h y 72h post inoculación. Resultados en siembra de placa (medio Fi Φ) a la derecha, sin presencia de RSSC. Experimento 2 (parte inferior) se muestra estado de rodajas a las 72h. Resultado en siembra de placa (medio Fi Φ), sin presencia de RSSC.

Las papas comerciales de la variedad Asterix (Figura 12) y aquellas identificadas como Clavela Redonda “Ama” (Figura 15), no manifestaron presencia de RSSC en los medios Fi Φ. Pudiendo ser positivas para RSSC en el caso de las variedades denominadas “Ro”, identificada como Murta Ojuda (Figura 14), y “Mor” identificada como Viscocha Morada (Figura 13). Algunos de los estados de las rodajas en este ensayo se presentan en la Figura 16, donde se muestran ejemplos de cada papa en el ensayo.

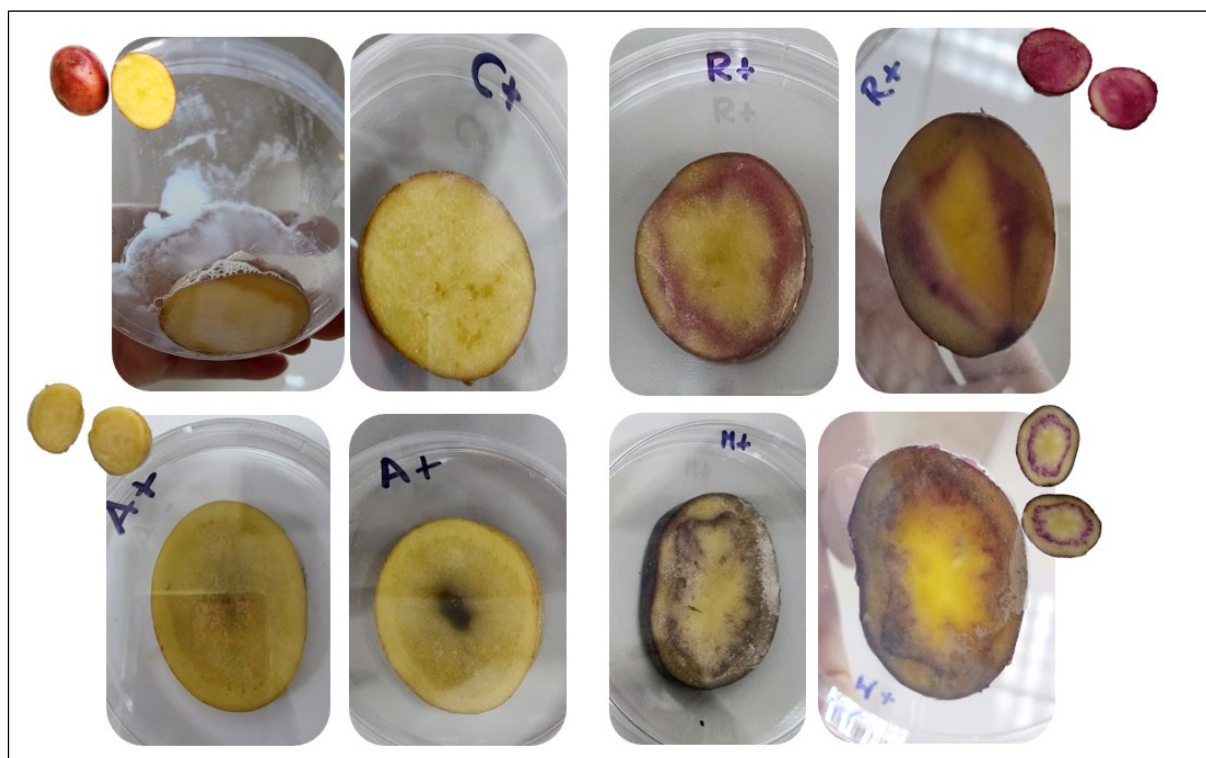


Figura 16: Estado de rodajas de papas con infección. Se observa el estado de las rodajas evaluadas de papa Asterix (C), Murta Ojuda (R), Clavela Redonda (A) y Viscocha Morada (M)

Un resumen de los ensayos realizados en el objetivo 2 son descritas en la Tabla 20 a continuación, donde se muestra los resultados de la evaluación *in vitro* y de cultivo en sustrato directo, la evaluación de los tubérculos y rodajas enfrentadas a la cepa de RSSC.

Tabla 20: Resumen ensayos de papa realizados y las evaluaciones resultantes

Nombre utilizado en este trabajo	Identificación con nombre común	Evaluación <i>in vitro</i> – sustrato directo (% efectividad)	Evaluación en tubérculos infectados RSSC	Evaluación en rodajas infectados RSSC
"Amarilla"	Michuñe Blanca	Sustrato directo: 25% - 60% <i>In vitro</i> : 50 – 79%	-	-
"Amarilla-Morada"	Cabrita	Sustrato directo: 44% - 57% <i>In vitro</i> : 54 – 81%	-	-
"Roja"	Michuñe Roja	Sustrato directo: 50% - 60% <i>In vitro</i> : 54% - 75%	-	-
"Morada"	Michuñe Negra	Sustrato directo: 50% - 65% <i>In vitro</i> : 54% - 81%	-	-
"LDV"	Lengua de Vaca	<i>In vitro</i> : 67% - 81%	-	-
"V"	Viscocha	<i>In vitro</i> : 80% - 88%	-	-
"CL"	Clavela Lisa	<i>In vitro</i> : 71% - 88%	-	-
"MN"	Michuñe Negra	<i>In vitro</i> : 79% - 88%	-	-
"Comercial"	Asterix	-	Presentó crecimiento en un control. Todos los ensayos con signos de infección	Sin presencia de RSSC en medio Phi (Φ)
"Ama"	Clavela Redonda	-	Control e infectados con RSSC con altos signos de infección, sin crecimiento.	Sin presencia de RSSC en medio Phi (Φ)
"Ro"	Murta Ojuda	-	Crecimiento en control y en infectados con RSSC. Todos los ensayos con signos de infección en tubérculos	Posible presencia de RSSC reportado en medio Phi (Φ)
"Mor"	Viscocha morada	-	Crecimiento en control y en infectados con RSSC. Todos los ensayos con signos de infección en tubérculos	Posible presencia de RSSC reportado en medio Phi (Φ)

V. DISCUSIÓN

El análisis MLVA de 22 cepas nacionales pertenecientes al filotipo IIB reveló la formación de 7 agrupaciones. Estos resultados revelan que las cepas se relacionan estrechamente entre ellas, pudiendo inferir, que es independiente, en casos, de su lugar de origen. Se observó una tendencia de agrupación entre hospederos, G1, G2 incluye cepas aisladas de papa, mientras que G2, G3 y G6 cepas aisladas de tomate, la excepción ocurre para los grupos G5 y G7 que incluyeron cepas provenientes de suelo y de plantas de tomate y papa, pudiendo reflejar interacción y cercanía entre estas cepas, que tienen distinto origen geográfico. El grupo G5 congregó aislados de la Región del Maule, O'Higgins y Valparaíso, pudiendo reflejar una línea que afecta a la zona central de Chile debido a la cercanía de estas regiones, por otro lado, el grupo G7 agrupó cepas de la Región de Arica y Parinacota, Valparaíso y La Araucanía, regiones que tienen gran distancia geográfica que podría reflejar el movimiento de RSSC dentro del territorio nacional.

Cuando se analizaron con MLVA adicionalmente 21 aislados internacionales de RSSC del mismo filotipo (II-B), es decir, 43 cepas en total, se formaron 21 agrupaciones, donde un haplotipo chileno (G7) es compartido con cepas evaluadas de Egipto. Este grupo G7 incluyó cepas de RSSC aisladas en Chile de tomate de la Región de O'Higgins (M4MP-2) y la Región de Valparaíso (OTM1), junto con aquellas aisladas de papas en la Región del Maule (SCP1B1 y SCP1B2) con la cepa aislada desde papas en Egipto (NCPB909). Esta cepa aislada en el año 1961 en Egipto es reportada como filotipo IIB sequevar 1, y presenta alta patogenicidad. La papa en Egipto forma parte del consumo local y es parte de los procesos de exportación y producción del país siendo el mayor productor de tubérculos en África. En Egipto, al igual que en Chile, existen sistemas de cuidados y alerta de RSSC estableciendo áreas libres de plagas (Pest-Free Areas PFAs), sin embargo, también se ha reportado RSSC en canales de regadío fuera de estas áreas (J. J. Smith et al., 1995; PotatoPro Food Innovation Online Corp, 2023). Los resultados del MLVA muestran además que existe cercanía entre cepas chilenas con Colombia, Georgia, India, Israel y Uruguay. El cultivo de papa en Georgia también representa un pilar para la economía y la dieta de su población y ha enfrentado desafíos debido a RSSC. Un ejemplo de esto se presentó en el año 2012, reportando por primera vez en el país la enfermedad en tomate en las regiones del oeste de Georgia, causando pérdidas de hasta el 100% en cultivos de invernadero y al aire libre, semejante con el primer reporte de RSSC en el norte de Chile afectando tomates realizado por Vásquez et al., 2020. Desde entonces, se han documentado varios casos de esta enfermedad, entre 2012 y 2013, donde se

detectaron síntomas de RSSC en varias variedades comerciales de papa (Mepharishvili et al., 2012; Muradashvili et al., 2014). Otra cepa cercana que reveló el MLVA internacional fue la cepa uruguaya UY031 de alta agresividad en papa, pertenece al filotipo IIB- seq 1 que fue aislada de *Solanum commersonii* (papa silvestre) (Siri et al., 2011), un caso interesante considerando que los reportes en Chile (SAG) reportan sólo papas de uso comercial y no nativas hasta el momento. La presencia de cepas RSSC similares en países latinoamericanos cercanos a Chile se puede comprender desde el punto de vista del comercio e intercambio de productos, por ejemplo, el principal destino de las exportaciones chilenas de papa durante el periodo entre enero y abril 2024 fue Uruguay, equivalente a casi 940 mil dólares (ODEPA & Muñoz Villagrán, 2024). De esta misma manera, las cepas analizadas de Colombia, provenientes de cultivos de papa, forman parte de un estudio que propuso secuenciar genomas de alta calidad de varios patógenos para salud pública (*Consortium for Microbial Forensics and Genomics (μFORGE): Capturing Global Biodiversity of Pathogens*, 2014), podrían relacionarse con las cepas chilenas analizadas en el MLVA por intercambio de tubérculos afectados en comercio internacional.

El uso de esquemas de MLVA ha sido utilizado por diversos autores y se consideran suficientemente confiables para realizar un análisis a escala fina y la combinación de múltiples loci TR en cada esquema MLVA permite aumentar su poder discriminativo y disminuir los efectos de la homoplasia (cambio evolutivo paralelo que hace que dos organismos presenten un mismo carácter adquirido independientemente). Por ejemplo, Abdurahman et al., 2019 adaptó el esquema de Parkinson et al., 2013 combinado con dos loci del estudio de N'Guessan et al., 2013 para realizar un mapeo de la distribución de marchitez bacteriana causada por RSSC (Filotipo IIB seq 1) involucrada en papas de Uganda y pudo trazar el posible origen del brote de la enfermedad. Estudios similares se realizaron en Madagascar por Ravelomanantsoa et al., 2016, 2018. Sin embargo, debido a la dispersión de larga distancia a través de fuentes de agua, materiales vegetales o sustratos contaminados, los diferentes brotes y filotipos de RSSC podrían ser encontrados en áreas geográficas distintas (Santiago et al., 2020). Por otro lado, se ha reportado que los brotes de marchitez bacteriana, causada por RSSC, en Etiopía y en China, se correlacionan con la acidificación de sus suelos, y que la adición de limo tenía un efecto positivo en el pH del suelo y en la reducción de la incidencia de la enfermedad en experimentos de campo, (Tafesse et al., 2021) también la presencia de especies asintomáticas y la contaminación a través del agua de regadío, es importante en la sobrevivencia de temporada en temporada y la dispersión de la enfermedad,

por lo que combatir la acidificación de los suelos junto con la mejora en sanidad, sanitización y prácticas seguras agrícolas es fundamental para su control (Lin et al., 2009). La intensificación de uso de suelo para cultivo y el incremento de la dispersión geográfica podría favorecer situaciones de simpatría de filotipo y promover mayor intercambio de factores relevantes a la adaptación (Wicker et al., 2012), situación que no ha sido reportada aún en Chile pues todas las cepas aisladas y analizadas han sido caracterizadas como filotipo IIB. Patógenos introducidos en semillas o tubérculos importados de fuentes internacionales son una de las principales rutas de nuevas enfermedades que ya impactan a Latinoamérica y que en un futuro seguirá ocurriendo, ejemplo de esto incluye nemátodos, bacterias del género *Dickeya* spp y *Ralstonia* (Secor & Rivera, 2023). Las regulaciones y reglas establecidas internacionalmente para la regulación del movimiento de papas son fundamentales para prevenir la introducción de estos fitopatógenos, o de nuevos filotipos, en nuevas áreas del continente y en Chile.

Por otro lado, este trabajo se propuso generar los lineamientos elementales para la reproducción *in vitro* de papas nativas, pudiendo reproducir exitosamente brotes de papa en laboratorio consolidando un método de desinfección y crecimiento en medios de cultivo estándares en cámaras controladas, logrando la aclimatación de cultivos, con mejores resultados en ensayos *in vitro*. La evaluación de distintas papas mostró que la efectividad de crecimiento dependerá altamente en los procesos previos de desinfección para la aclimatación de las plantas. En los ensayos *in vitro* las papas Cabrita (“amarilla-morada”), Michuñe Blanca (“amarilla”), Clavela Lisa (“CL”) se obtuvo los mejores resultados en evaluación de crecimiento. Mientras que el cultivo de papas nativas a través de yemas en sustrato directo en invernadero demostró ser de largos períodos y con alta susceptibilidad a infecciones en condiciones de cámaras de crecimiento, siendo difícil establecer igualdad entre los individuos para realizar infecciones controladas, pudiendo mejorar su ambiente controlado en futuras investigaciones.

Salvaguardar estos recursos genéticos es vital para los esfuerzos por mitigar los impactos del cambio climático en los cultivos de papa. Dentro de este contexto, la investigación sobre el desarrollo de plantas *in vitro* y el establecimiento de protocolos de desinfección y medios de cultivo contribuye en la replicación y mantenimiento de especies nativas de papas importantes para el país. Los ensayos finales de *in vitro* mostraron que los protocolos establecidos tuvieron buenos resultados en los quintiles más altos en la evaluación, pocos estudios sobre la

propagación de plantas de papa nativa chilenas se han realizado, pero teniendo en perspectiva que la mayoría de las variedades de papa cultivadas en el mundo, descienden del grupo *Chilotanum* de *Solanum* y que estas series formadoras de tubérculos de papas tienen una gran cantidad de especies silvestres que pueden contribuir con genes de resistencia a estrés biótico y abiótico. Estos materiales tienen alto potencial para su uso en mejoramiento genético de variedades y el desarrollo de nuevas, por lo que la conservación *in situ* y *ex situ* es de suma importancia ya que los recursos genéticos es una de las primeras estrategias para enfrentar los desafíos del cambio climático global (Fernández et al., 2022).

Para conocer la impronta preliminar del cultivo de papa nativa chilena frente a RSSC se realizaron ensayos sobre tubérculos directamente sembrados en sustrato (compost: vermiculita, 2: 1), logrando brotes de papa, pero cuyos resultados mostraron grandes infecciones en los tubérculos, probablemente proveniente de la alta presencia de carga bacteriana a la que se enfrentaron en el sustrato. Dentro de las papas evaluadas, la papa denominada Clavela Redonda (“ama”) fue la que no tuvo ningún crecimiento y tanto el control como la evaluación de RSSC no tuvo crecimiento y todos los tubérculos presentaron alta contaminación. En el caso de la papa Viscocha Morada (“mor”) y Murta Ojuda (“ro”) presentaron crecimiento en control y en infección con RSSC, pero ambos casos también con grandes infecciones. Mientras que la variedad comercial Asterix solo presentó crecimiento en control, pero también todos los tubérculos presentaron infecciones. La papa, tanto nativa como comercial, es susceptible a RSCC, pero también a otras especies como *Dickeya* y *Pectobacterium*. Las infecciones presentes en los tubérculos estudiados, presentaban tejidos acuosos y un olor pestilente penetrante, similares a los síntomas de la pudrición blanca, la provocada por *Pectobacterium* que incluyen tejidos blandos, húmedos y podridos, inodoro en las primeras etapas de la descomposición, pero que desarrolla un olor fétido cuando los organismos secundarios invaden el tejido infectado (Herbario Virtual UBA, 2023). Los síntomas causados por RSSC también pueden ser confundidos con aquellos causados por *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, agente causal de la podredumbre anular de la papa. Una diferencia es que la marchitez bacteriana por RSSC produce anillos de exudación en tubérculos más temprano en la temporada y se desarrolla más rápidamente (Osdaghi, 2020). En los ensayos de tubérculos no se pudo analizar casos de exudación pues la pudrición en los ensayos de tubérculos era avanzada, posiblemente causado por *Pectobacterium*.

En la evaluación de rodajas de papas infectadas con RSSC los resultados mostraron una posible infección de la bacteria en las variedades Murta Ojuda (“ro”) y Viscocha Morada

(“mor), mientras que la papa Clavela Redonda (“ama”) y la variedad comercial Asterix no presentaron presencia de RSSC, la última podría ser la por la utilización de semillas certificadas cuya expresión fenotípica podría ser más resistente a infecciones por RSSC debido a su destino comercial. El aumento de enfermedades que afectan los cultivos de papa ha incrementado la diferencia en rendimientos entre semilla certificada y la semilla corriente, por lo que se incentiva el uso de la primera. Productores más tecnificados y conscientes de la importancia de utilizar semillas de calidad y su relación con mejores rendimientos en el cultivo es fundamental para la protección y seguridad alimentaria (Vallejo G. & Martínez T., 2023). Según el SAG la producción de semilla certificada corresponde a un área de 1.225 hectáreas donde destacan las variedades Asterix, Rodeo y Rosi, concentradas principalmente en la Región de Los Lagos (89%) para la temporada 2022/2023 (ODEPA & Muñoz Villagrán, 2024). Si se consideran las 586,6 hectáreas reportadas con RSSC (*Listado de predios bajo cuarentena, en el Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa (ALPCP) SAG, 2021*) y un rendimiento promedio de 28 toneladas por hectárea, el material vegetal de papas no concretado, o no cultivado, podría alcanzar las 16 mil toneladas. Y si consideramos la superficie plantada total, las hectáreas reportadas actualmente por RSSC podrían representar el 1,61% del total cultivado. Dentro de este contexto, es fundamental que se utilice semilla legal con origen conocido o producida en el mismo predio. El monitoreo de predios es esencial para mantener la salud del suelo y semillas, se recomienda no permitir el ingreso de otras papas, sacos usados y plantas con suelo adherido, ni suelo ni maquinaria de predios vecinos infectados, ni tampoco guardar semillas de papas de otros predios infectados. Adicionalmente, realizar análisis de aguas de riego puede ser importante para el control de la entrada de RSSC, como también un saneamiento y limpieza de equipos en todo el proceso productivo, como también resguardar la calidad del suelo con rotación de cultivos no huésped de la enfermedad y la utilización de sustratos libres de plagas.

Adicionalmente, estudio de la virulencia de RSSC en especies nativas de papas es importante para recolectar información para futuros escenarios de control, con las actuales amenazas sobre el uso de suelo y presiones por cambio climático. Se han encontrado algunas fuentes de resistencia con el cruce selectivo de especies y también en especies silvestres como *S. boliviense*, *S. acaule*, *S. microdontum*, *S. demissum*, *S. sparsipilum*, *S. polytrichon*, *S. simplicifolium*, entre otras (Sood et al., 2017). Por otro lado, las papas nativas del sur de Chile, en particular las papas del archipiélago de Chiloé presentan patrones genéticos únicos respecto de las variedades europeas (Inostroza-Blancheteau et al., 2018; Pérez D, 2004). Los

resultados encontrados en este estudio podrían colaborar en el encuentro de estas fuentes de resistencia en papas nativas, pero es necesario indagar más profundamente con más ensayos, debido a la variabilidad de sus resultados. Como ejemplo de estas variabilidades, estudios de híbridos de papa endémica de *Solanum tuberosum* var *fernandezianum* presentaron por un lado, hipersensibilidad a el virus Potato Virus Y (PVY), pero también tolerancia a Potato leafroll virus (PLRV) y resistencia a tanto el congelamiento y a la marchitez bacteriana por RSSC (Hijmans et al., 2003; Ricci, 2006; Solano et al., 2011). Otros estudios han demostrado que el incremento de compuestos fenólicos y flavonoides se relacionan directamente con la resistencia a la enfermedad de marchitez bacteriana en plantas de tomates, y que sustancias fenólicas aumentan luego de infecciones provocadas por *Ralstonia solanacearum* y *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Umesha, 2006).

VI. CONCLUSIONES

El estudio del complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* (RSSC) en Chile es fundamental debido a la gran plasticidad genética del fitopatógeno y su potencial adaptación ante el calentamiento global. La marchitez bacteriana, producida por RSSC, sumado al aumento de las temperaturas, plantea un riesgo considerable en zonas templadas, amenazando una amplia gama de especies importantes para la seguridad alimentaria, incluidas las papas comercializadas en territorio chileno y aquellas papas nativas arraigadas en el sur de Chile, en especial en el Archipiélago de Chiloé. La diversidad observada a través de los análisis MLVA, tanto a nivel nacional como internacional, confirma la distribución geográfica extensa de RSSC y su impacto en cultivos, reafirmando la importancia de la papa como cultivo esencial y la necesidad de prácticas agrícolas sostenibles para combatir este fitopatógeno.

RSSC ha mostrado tener una capacidad de dispersión a través de vectores como el agua y materiales vegetales contaminados, necesitando un manejo y monitoreo integrado a nivel regional y global, los esfuerzos del Servicio Agrícola Ganadero (SAG) parecen establecer un sistema de cuidados y de prevención, pero las nuevas detecciones del fitopatógeno y los resultados de este estudio sugieren que más medidas preventivas y restricciones se deben generar. Desde su primera detección en Chile en el año 1982, RSSC ha afectado a diversos cultivos agrícolas, incluyendo papas y tomates, ilustrando cómo las prácticas agrícolas y el comercio internacional contribuyen a su propagación. El análisis MLVA realizado sobre 22 aislados nacionales de *Ralstonia solanacearum* filotipo IIB ha revelado una configuración de siete agrupaciones genéticas, revelando una relación entre ellos independientemente de su región geográfica. Esto sugiere que la diversidad genética dentro de las cepas chilenas de *Ralstonia solanacearum* supera las barreras geográficas, y existe dispersión a través de diferentes hospederos y regiones del país. La identificación de agrupaciones específicas asociadas a hospederos determinados, como las papas y tomates, refuerza la necesidad de estrategias de manejo que consideren la adaptabilidad del patógeno, pero la identificación de un solo filotipo (IIB) sugiere que no ha habido una evolución descontrolada del fitopatógeno.

La comparación con 21 cepas internacionales extendió aún más la comprensión de la interconexión global de estas cepas, resaltando cómo una cepa chilena comparte similitudes genéticas con cepas de Egipto, y cercanía con países latinos como Colombia y Uruguay, y evidencia la capacidad de RSSC para mantener su patogenicidad a través de distintas fronteras

y continentes. Este hallazgo es crucial para futuras medidas de control y prevención, pues subraya la importancia de un enfoque global en el manejo de la bioseguridad y la sanidad vegetal, y, además, acentúan la importancia de desarrollar sistemas de clasificación avanzados que permitan predecir sintomatologías y adoptar métodos de control efectivos.

La conservación de la diversidad genética de las papas nativas es vital para el desarrollo de nuevas variedades resistentes a enfermedades y adaptadas a cambios ambientales y esfuerzos se han reportado en Chile y en el mundo para obtener variedades certificadas y resistentes a enfermedades. Debido a la gran susceptibilidad de papas frente a infecciones la investigación de cómo obtener material vegetal de estas especies es fundamental. Las evaluaciones tanto *in vitro* como en sustrato directo reflejaron que las condiciones de desinfección de material vegetal son fundamentales para la obtención de material de estudio, en este sentido las papas nativas mostraron ser difíciles de mantener en condiciones controladas, siendo susceptibles a infecciones bacterianas y fúngicas.

La investigación continua sobre la virulencia y patogenicidad de RSSC es imprescindible para desarrollar estrategias de manejo mejoradas que pronostiquen y mitiguen futuros brotes, los ensayos realizados sembrando tubérculos de papa y ensayos en rodajas de papa enfrentados a RSSC mostraron diversidad de resultados mostraron variabilidad en la efectividad de resistencia de las diferentes papas nativas evaluadas frente a la infección por RSSC. Por ejemplo, de las papas nativas evaluadas, Clavela Redonda (“Ama”) y Murta Ojuda (“Ro”) presentaron crecimiento de los tubérculos infectados con RSSC, pero una evaluación más profunda reveló que igual contenían presencia infecciosa en el tubérculo en el sustrato, por otro lado, la papa Murta Ojuda presentó una posible presencia de RSSC en el ensayo de rodajas, mientras que Clavela Redonda en el ensayo de rodajas no presentó presencia de RSSC. En el caso de la variedad comercial Asterix, el ensayo de rodajas no presentó presencia preliminar de RSSC y el ensayo de tubérculos sólo tuvo crecimiento el control. Por otro lado, la papa Viscocha Morada (“Mor”) presentó crecimiento tanto en control y en aquellos tubérculos enfrentados a RSSC, pero al igual que las otras papas evaluadas, presentó infección en el tubérculo en el sustrato, y además reportó una posible presencia de RSSC en el ensayo de rodajas. Esta variabilidad de respuestas y resultados muestra la complejidad del desafío que RSSC representa para la producción de papa, y en particular, la susceptibilidad que presentan estas papas nativas. La alta susceptibilidad de ciertas variedades nativas sugiere que es crucial fortalecer las medidas de control y prevención, especialmente en regiones donde estas papas son un componente esencial de la seguridad alimentaria y cultural.

Finalmente, es esencial continuar con estudios detallados sobre RSSC, incluyendo investigaciones genómicas que clarifiquen sus estructuras poblacionales y rutas de transmisión. Las conclusiones de este estudio sobre *Ralstonia solanacearum* en Chile validan la hipótesis propuesta, al confirmar la diversidad genética de las cepas, su asociación con cepas de otras regiones del mundo, y variaciones en la virulencia entre diferentes variedades de papas nativas chilenas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdurahman, A., Parker, M. L., Kreuze, J., Elphinstone, J. G., Struik, P. C., Kigundu, A., Arengo, E., & Sharma, K. (2019). Molecular Epidemiology of *Ralstonia solanacearum* Species Complex Strains Causing Bacterial Wilt of Potato in Uganda. *Phytopathology*[®], 109(11), 1922-1931. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-18-0476-R>
- Acuña, R. (2008). *Compendio de fitopatógenos de cultivos agrícolas en Chile*. Servicio Agrícola y Ganadero, División Protección Agrícola. Subdpto. Vigilancia y Control Oficial Fitosanitario. Programa Vigilancia Agrícola. <https://biblioteca.sag.gob.cl/DataFiles/25-2.pdf>
- Bahamonde, R. (2017). El contexto cultural de la papa en Chiloé. *Colecciones Digitales, Subdirección de Investigación Dibam*. <https://www.museodeancud.gob.cl/sites/www.museodeancud.gob.cl/files/2021-11/EI%20contexto%20cultural%20de%20la%20papa%20en%20Chilo%C3%A9.pdf>
- Behn, A., & Muñoz, M. (2023, abril 28). Valoración nutricional y sensorial, e ingreso al sistema formal de producción de semillas de accesiones de papas nativas chilenas. *ACTA INIA / N° 62. ALAP 2023 XXIX Congreso Latinoamericano de la Papa El Reencuentro: una mirada hacia la Sustentabilidad y al Cambio Climático*. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, INIA CHILE, Puerto Varas, Chile. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/69032/NR43200.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Berg, R. G. V. D., & Groendijk-Wilders, N. (2014). Taxonomy. En R. Navarre & M. J. Pavek (Eds.), *The potato: Botany, production and uses* (pp. 12-28). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780642802.0012>
- Buddenhagen, I., & Kelman, A. (1964). Biological and Physiological Aspects of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas Solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 2(1), 203-230. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.02.090164.001223>
- Buddenhagen, I. W. (1962). Designations of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 52, 726.
- Buttimer, C., McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C., O'Mahony, J., & Coffey, A. (2017). Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00034>
- Büttner, D., & He, S. Y. (2009). Type III protein secretion in plant pathogenic bacteria. *Plant Physiology*, 150(4), 1656-1664. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139089>
- Cao, J. D. (1982). Investigation of bacterial wilt in *Eucalyptus saligna* and *E. grandis* introduced from Brazil. *Guangxi Forestry Science and Technology*, 4, 30-31.
- Carter, M. D., Khokhani, D., & Allen, C. (2023). Cell Density-Regulated Adhesins Contribute to Early Disease Development and Adhesion in *Ralstonia solanacearum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(2), e01565-22. <https://doi.org/10.1128/aem.01565-22>
- Champoiseau, P. G., Jones, J. B., & Allen, C. (2009). *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 Causes Tropical Losses and Temperate Anxieties. *Plant Health Progress*, 10(1), 35. <https://doi.org/10.1094/PHP-2009-0313-01-RV>
- Chávez, P., Yarlequé, C., Loayza, H., Mares, V., Hanco, P., Priou, S., Márquez, M. D. P., Posadas, A., Zorogastúa, P., Flexas, J., & Quiroz, R. (2012). Detection of bacterial wilt infection caused by *Ralstonia solanacearum* in potato (*Solanum tuberosum* L.) through multifractal analysis applied to remotely sensed data. *Precision Agriculture*, 13(2), 236-255. <https://doi.org/10.1007/s11119-011-9242-5>

- Ciampi-Panno, L. (1984). Bacterial Wilt of Potato in Chile. *Plant Disease*, 68(1), 822.
<https://doi.org/10.1094/PD-68-822>
- Claverías, F. P., Undabarrena, A., González, M., Seeger, M., & Cámara, B. (2015). Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaíso Bay, Chile. *Frontiers in Microbiology*, 6.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00737>
- Consortium for Microbial Forensics and Genomics (μFORGE): Capturing Global Biodiversity of Pathogens* (Accession: PRJNA257008 ID: 257008). (2014). [Online].
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA257008>
- Contreras, A., & Castro Urrutia, I. (2008). *Catálogo de variedades de papas nativas de Chile*. FIA (SAG).
- De Cásares, J. P., & González, R. (2001). Conservación in vitro de dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L) bajo condiciones de crecimiento mínimo. *Revista latinoamericana de la papa*, 12(1), 121-129.
https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://dia.lnet.unirioja.es/descarga/articulo/5512028.pdf&ved=2ahUKEwi_j8qc9Y2GAXvCrkGHcDTDEMqFnoECBEQAQ&usq=AOvVaw3yJSiSdgOrC02oK3BLCKql
- Denny, T. (2006). Plant pathogenic *Ralstonia* species. En S. S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-Associated Bacteria* (pp. 573-644). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_16
- Ellis, D., Salas, A., Chavez, O., Gomez, R., & Anglin, N. (2020). Ex Situ Conservation of Potato [*Solanum* Section *Petota* (*Solanaceae*)] Genetic Resources in Genebanks. En H. Campos & O. Ortiz (Eds.), *The Potato Crop: Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind* (pp. 109-138). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_4
- EPPO. (2024). *Ralstonia solanacearum* species complex (*RALSSO*) [Dataset].
<https://gd.eppo.int/taxon/RALSSO/hosts>
- Fegan, M., & Prior, P. (2005). How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, 1, 449-461.
<https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:71427>
- Fernández, R., Lizana, C., & Behn, A. (2022). Biodiversidad, conservación y mejoramiento del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) con énfasis en el grupo *Chilotanum*. *Agrosur*, 50(2), 1-11. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2022.v50n2-01>
- Francl, L. J. (2001). The Disease Triangle: A Plant Pathological Paradigm Revisited. *The Plant Health Instructor*. <https://doi.org/10.1094/PHI-T-2001-0517-01>
- Galdames, R., & Gutiérrez, E. (2020). Carbón y marchitez bacteriana: Enfermedades cuarentenarias de la papa presentes en el sur de Chile, que amenazan el área libre. *Tierra Adentro*, 113 *Sanidad Vegetal: el aporte de INIA a la protección de las plantas*, 89-93.
<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/67190/TA113.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- García, R. O., Kerns, J. P., & Thiessen, L. (2019). *Ralstonia solanacearum* Species Complex: A Quick Diagnostic Guide. *Plant Health Progress*, 20(1), 7-13.
<https://doi.org/10.1094/PHP-04-18-0015-DG>
- Genin, S. (2010). Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. *New Phytologist*, 187(4), 920-928. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03397.x>
- Genin, S., & Denny, T. P. (2012). Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. *Annual Review of Phytopathology*, 50(1), 67-89.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-173000>

- Gophna, U., Ron, E. Z., & Graur, D. (2003). Bacterial type III secretion systems are ancient and evolved by multiple horizontal-transfer events. *Gene*, *312*, 151-163. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(03\)00612-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00612-7)
- Guidot, A., Coupat, B., Fall, S., Prior, P., & Bertolla, F. (2009). Horizontal gene transfer between *Ralstonia solanacearum* strains detected by comparative genomic hybridization on microarrays. *The ISME Journal*, *3*(5), 549-562. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.14>
- Guinard, J., Latreille, A., Guérin, F., Poussier, S., & Wicker, E. (2017). New Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis (MLVA) Scheme for Fine-Scale Monitoring and Microevolution-Related Study of *Ralstonia pseudosolanacearum* Phylotype I Populations. *Applied and Environmental Microbiology*, *83*(5), e03095-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.03095-16>
- Hawkes, J. G. (1991). The importance of genetic resources in plant breeding. *Biological journal of the linnean society*, *43*(1), 3-10.
- Hayward, A. C. (1964). Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*, *27*(2), 265-277.
- Hayward, A. C. (1991). Biology and Epidemiology of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas Solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, *29*(1), 65-87. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.29.090191.000433>
- Hayward, A. C. (1994). *Systematics and phylogeny of Pseudomonas solanacearum and related bacteria*.
- Herbario Virtual UBA. (2023). *Pobredumbre blanda de la papa (Pectobacterium carotovorum subsp. Carotovorum)*. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=11748
- Hijmans, R. J., Jacobs, M., Bamberg, J. B., & Spooner, D. M. (2003). Frost tolerance in wild potato species: Assessing the predictivity of taxonomic, geographic, and ecological factors. *Euphytica*, *130*(1), 47-59. <https://doi.org/10.1023/A:1022344327669>
- Hijmans, R. J., & Spooner, D. M. (2001). Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany*, *88*(11), 2101-2112. <https://doi.org/10.2307/3558435>
- Huamán, Z., Hoekstra, R., & Bamberg, J. B. (2000). The inter-genebank potato database and the dimensions of available wild potato germplasm. *American Journal of Potato Research*, *77*(6), 353-362.
- Huang, J., Wei, Z., Tan, S., Mei, X., Yin, S., Shen, Q., & Xu, Y. (2013). The rhizosphere soil of diseased tomato plants as a source for novel microorganisms to control bacterial wilt. *Applied Soil Ecology*, *72*, 79-84. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.05.017>
- Ingel, B., Caldwell, D., Duong, F., Parkinson, D. Y., McCulloh, K. A., Iyer-Pascuzzi, A. S., McElrone, A. J., & Lowe-Power, T. M. (2021). *Revisiting the source of wilt symptoms: X-ray microcomputed tomography provides direct evidence that Ralstonia biomass clogs xylem vessels* [Preprint]. Microbiology. <https://doi.org/10.1101/2021.03.19.436187>
- INIA. (2023). *Enfermedades de la papa: Plataforma de evaluación de riesgo sanitario*. INIA, Chile. <https://enfermedadespapa.inia.cl/marchitezBacteriana.php>
- Inostroza-Blancheteau, C., de Oliveira Silva, F. M., Durán, F., Solano, J., Obata, T., Machado, M., Fernie, A. R., Reyes-Díaz, M., & Nunes-Nesi, A. (2018). Metabolic diversity in tuber tissues of native Chiloé potatoes and commercial cultivars of *Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum* L. *Metabolomics*, *14*(10), 138. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1428-7>
- Jarvis, A., Lane, A., & Hijmans, R. J. (2008). The effect of climate change on crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *126*(1-2), 13-23. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.01.013>

- Kelman, A. (1954). *The relationship of pathogenicity of Pseudomonas solanacearum to colony appearance in a tetrazolium medium.*
- Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics.*
- Lefevre, P., Cellier, G., Remenant, B., Chiroleu, F., & Prior, P. (2013). Constraints on Genome Dynamics Revealed from Gene Distribution among the *Ralstonia solanacearum* Species. *PLoS ONE*, 8(5), e63155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063155>
- Liao, B. (2005). A broad review and perspective on breeding for resistance to bacterial wilt. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, 225-238.
- Lin, C.-H., Hsu, S.-T., Tzeng, K.-C., & Wang, J.-F. (2009). Detection of race 1 strains of *Ralstonia solanacearum* in field samples in Taiwan using a BIO-PCR method. *European Journal of Plant Pathology*, 124(1), 75-85. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9394-y>
- Listado de predios bajo cuarentena, en el Área Libre de Plagas Cuarentenarias de la Papa (ALPCP) SAG. (2021, abril). SAG Servicio Agrícola Ganadero Ministerio de Agricultura. <https://www.sag.gob.cl/content/listado-de-predios-bajo-cuarentena-en-el-area-libre>
- Lopes, C. A., & Rossato, M. (2018). History and Status of Selected Hosts of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex Causing Bacterial Wilt in Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1228. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01228>
- Lowe-Power, T., Avalos, J., Munoz, M. C., & Chipman, K. (2020). *A Meta-analysis of the known Global Distribution and Host Range of the Ralstonia Species Complex* [Preprint]. *Microbiology*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.13.189936>
- Lowe-Power, T. M., Khokhani, D., & Allen, C. (2018). How *Ralstonia solanacearum* Exploits and Thrives in the Flowing Plant Xylem Environment. *Trends in Microbiology*, 26(11), 929-942. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.002>
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A., Toth, I., Salmond, G., & Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology: Top 10 plant pathogenic bacteria. *Molecular Plant Pathology*, 13(6), 614-629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
- Mepharishvili, G., Sikharulidze, Z., Thwaites, R., Tsetskhladze, T., Dumbadze, R., Gabaidze, M., & Muradashvili, M. (2012). First confirmed report of bacterial wilt of tomato in Georgia caused by *Ralstonia solanacearum*. *New Disease Reports*, 25(1), 16-16. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.025.016>
- Muñoz, M., Díaz, O., Reinún, W., Winkler, A., & Quevedo, R. (2019). Slow growth in vitro culture for conservation of Chilotanum potato germplasm. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(1), 26-35. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392019000100026>
- Muñoz, M., Folch, C., Rodriguez, F., Kalazich, J., Orena, S., Santos, J., Vargas, R., Fahrenkrog, A., & Puga, A. (2016). Genotype number and allelic diversity overview in the national collection of Chilean potatoes. *Potato research*, 59, 227-240.
- Muñoz, M., Folch, C., & Winkler, A. (2021). Características morfológicas, productivas y alimenticias de 4 variedades nativas de papa chilota. *Informativo INIA Remehue*.
- Muradashvili, M., Meparishvili, G., Sikharulidze, Z., & Meparishvili, S. (2014). FIRST REPORT OF POTATO BROWN ROT CAUSED BY RALSTONIA SOLANACEARUM IN GEORGIA. *Journal of Plant Pathology*, 1(1). <https://doi.org/10.4454/JPP.V96I4.022>

- N'Guessan, C. A., Brisse, S., Le Roux-Nio, A.-C., Poussier, S., Koné, D., & Wicker, E. (2013). Development of variable number of tandem repeats typing schemes for *Ralstonia solanacearum*, the agent of bacterial wilt, banana Moko disease and potato brown rot. *Journal of Microbiological Methods*, 92(3), 366-374.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.01.012>
- ODEPA, O. de E. de P. A., & Muñoz Villagrán, M. (2024). *Boletín de la papa, mayo 2024* [Boletines del rubro]. ODEPA, Oficina de Estudios de Políticas Agrarias.
<https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-la-papa-mayo-2024>
- Opina, N., Tavner, F., Hollway, G., Wang, J. F., Li, T. H., Maghirang, R., Fegan, M., Hayward, A., Krishnapillai, V., & Hong, W. (1997). *A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying Burkholderia Solanacearum (formerly Pseudomonas Solanacearum)*.
- Orena, S., & Santos Rojas, J. (2012). *Manejo de Tubérculos-Semillas de Papa* (Informativo 89; p. 4). INIA.
<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/4743/Informativo%20INIA%20N%C2%B0%2089?sequence=1&isAllowed=y>
- Osdaghi, E. (2020). *Ralstonia solanacearum (bacterial wilt of potato)*. [CABI]. The Invasive Species Compendium (ISC). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45009>
- Parkinson, N., Bryant, R., Bew, J., Conyers, C., Stones, R., Alcock, M., & Elphinstone, J. (2013). Application of Variable-Number Tandem-Repeat Typing To Discriminate *Ralstonia solanacearum* Strains Associated with English Watercourses and Disease Outbreaks. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(19), 6016-6022.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01219-13>
- Pérez D, J. R. (2004). *Evaluación de la diversidad genética de papas nativas (Solanum tuberosum L. ssp. Tuberosum Hawkes) silvestres y cultivadas del sur de Chile, mediante el uso de marcadores microsatélites*. [Universidad Austral de Chile. Fac. de Ciencias Agrarias.]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fap438e/pdf/fap438e.pdf>
- Peyraud, R., Cottret, L., Marmiesse, L., Gouzy, J., & Genin, S. (2016). A Resource Allocation Trade-Off between Virulence and Proliferation Drives Metabolic Versatility in the Plant Pathogen *Ralstonia solanacearum*. *PLOS Pathogens*, 12(10), e1005939.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005939>
- PotatoPro Food Innovation Online Corp. (2023). *PotatoPro—Egipt* [Web].
<https://www.potatopro.com/egypt/potato-statistics>
- Prakasha, A., Darren Grice, I., Vinay Kumar, K. S., Sadashiva, M. P., Shankar, H. N., & Umesha, S. (2017). Extracellular polysaccharide from *Ralstonia solanacearum*; A strong inducer of eggplant defense against bacterial wilt. *Biological Control*, 110, 107-116. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.012>
- Ravelomanantsoa, S., Boyer, K., Cheron, J.-J., Javegny, S., Costet, L., Chiroleu, F., Vernière, C., Raveloson, A., Cellier, G., Ravigné, V., Pruvost, O., Poussier, S., Guérin, F., Robène, I., & Prior, P. (2016). *Insights into the recent outbreaks of potato bacterial wilt in Madagascar highlands: Genotyping of the Ralstonia solanacearum species complex by MLVA*. INRA. <http://agritrop.cirad.fr/587144/1/Prior%20IBWS16.pdf>
- Ravelomanantsoa, S., Vernière, C., Rieux, A., Costet, L., Chiroleu, F., Arribat, S., Cellier, G., Pruvost, O., Poussier, S., Robène, I., Guérin, F., & Prior, P. (2018). Molecular Epidemiology of Bacterial Wilt in the Madagascar Highlands Caused by Andean (Phylotype IIB-1) and African (Phylotype III) Brown Rot Strains of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2258.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02258>

- Ricci, M. (2006). Conservation status and ex situ cultivation efforts of endemic flora of the Juan Fernández Archipelago. *Biodiversity and Conservation*, 15(10), 3111-3130. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-5404-y>
- Ristaino, J. B., & Pfister, D. H. (2016). “What a Painfully Interesting Subject”: Charles Darwin’s Studies of Potato Late Blight. *BioScience*, 66(12), 1035-1045. <https://doi.org/10.1093/biosci/biw114>
- Salanoubat, M., Genin, S., Artiguenave, F., Gouzy, J., Mangenot, S., Arlat, M., Billault, A., Brottier, P., Camus, J. C., Cattolico, L., Chandler, M., Choisine, N., Claudel-Renard, C., Cunnac, S., Demange, N., Gaspin, C., Lavie, M., Moisan, A., Robert, C., ... Boucher, C. A. (2002). Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature*, 415(6871), 497-502. <https://doi.org/10.1038/415497a>
- Santiago, T. R., Lopes, C. A., Caetano-Anollés, G., & Mizubuti, E. S. G. (2017). Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, an ancient centre of diversity of the pathogen. *Plant Pathology*, 66(3), 383-392. <https://doi.org/10.1111/ppa.12586>
- Santiago, T. R., Lopes, C. A., Caetano-Anollés, G., & Mizubuti, E. S. G. (2020). Genetic Structure of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia pseudosolanacearum* in Brazil. *Plant Disease*, 104(4), 1019-1025. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1929-RE>
- Schachterle, J. K., & Huang, Q. (2021). Implication of the Type III Effector RipS1 in the Cool-Virulence of *Ralstonia solanacearum* Strain UW551. *Frontiers in Plant Science*, 12, 705717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.705717>
- Secor, G., & Rivera, V. (2023, abril 28). Emerging diseases in the world and its effect in Latin America. *ACTA INIA / N° 62*. ALAP 2023 XXIX Congreso Latinoamericano de la Papa El Reencuentro: una mirada hacia la Sustentabilidad y al Cambio Climático. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, INIA CHILE, Puerto Varas, Chile. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/69032/NR43200.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sharma, P., Johnson, M. A., Mazloom, R., Allen, C., Heath, L. S., Lowe-Power, T. M., & Vinatzer, B. A. (2022). Meta-analysis of the *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC) based on comparative evolutionary genomics and reverse ecology. *Microbial Genomics*, 8(3). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000791>
- Siri, M. I., Sanabria, A., & Pianzola, M. J. (2011). Genetic Diversity and Aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* Strains Causing Bacterial Wilt of Potato in Uruguay. *Plant Disease*, 95(10), 1292-1301. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0626>
- Smith, E. F. (1896). A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato. *US Dept. Agric. Div. Veg. Phys. Path. Bull.*, 12, 1-26.
- Smith, J. J., Offord, L. C., Holderness, M., & Saddler, G. S. (1995). Genetic diversity of *Burkholderia solanacearum* (synonym *Pseudomonas solanacearum*) race 3 in Kenya. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(12), 4263-4268. <https://doi.org/10.1128/aem.61.12.4263-4268.1995>
- Solano, J., Anabalón, L., & Hauenstein, E. (2011). Experiencia de conservación ex-situ de *Solanum fernandezianum* (Solanaceae). *Gayana. Botánica*, 68(1), 102-105. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432011000100011>
- Sood, S., Bhardwaj, V., Pandey, S. K., & Chakrabarti, S. K. (2017). History of Potato Breeding: Improvement, Diversification, and Diversity. En S. Kumar Chakrabarti, C. Xie, & J. Kumar Tiwari (Eds.), *The Potato Genome* (pp. 31-72). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3_3
- Spooner, D. M., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R., & Bryan, G. J. (2005). A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length

- polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(41), 14694-14699. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507400102>
- Syed Ab Rahman, S. F., Singh, E., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267, 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
- Tafesse, S., Braam, C., van Mierlo, B., Lemaga, B., & Struik, P. C. (2021). Association between Soil Acidity and Bacterial Wilt Occurrence in Potato Production in Ethiopia. *Agronomy*, 11(8), 1541. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081541>
- UACH. (2017, abril 4). *El Banco de Germoplasma Chileno de Papas de la UACH: Un tesoro para la biodiversidad*. <https://diario.uach.cl/el-banco-de-germoplasma-chileno-de-papas-de-la-uach-un-tesoro-para-la-biodiversidad/>
- Umesha, S. (2006). Note: Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. *Phytoparasitica*, 34(1), 68-71. <https://doi.org/10.1007/BF02981341>
- Umrao, P. D., Kumar, V., & Kaistha, S. D. (2021). Biocontrol potential of bacteriophage ϕ sp1 against bacterial wilt-causing *Ralstonia solanacearum* in Solanaceae crops. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 61. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00408-3>
- Vallejo G., O., & Martínez T., H. (2023). *Estudio: Demanda de semilla de papa en el territorio nacional. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias* (p. 63). https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/bitstream/handle/20.500.12650/73121/Estudio_DemandaSemillaPapa.pdf
- Vásconez, I. N., Besoain, X., Vega-Celedón, P., Valenzuela, M., & Seeger, M. (2020). First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* Phylotype IIB Sequevar 1 Affecting Tomato in Different Regions of Chile. *Plant Disease*, 104(7), 2023. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0181-PDN>
- Wei, Z., Hu, J., Gu, Y., Yin, S., Xu, Y., Jousset, A., Shen, Q., & Friman, V.-P. (2018). *Ralstonia solanacearum* pathogen disrupts bacterial rhizosphere microbiome during an invasion. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 8-17. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.012>
- Wicker, E., Lefeuvre, P., de Cambiaire, J.-C., Lemaire, C., Poussier, S., & Prior, P. (2012). Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. *The ISME Journal*, 6(5), 961-974. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.160>
- Winstead, N. N., & Kelman, A. (1952). *Inoculation techniques for evaluating resistance to Pseudomonas solanacearum*.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T., & Arakawa, M. (1992). Proposal of Burkholderia gen. Nov. And Transfer of Seven Species of the Genus Pseudomonas Homology Group II to the New Genus, with the Type Species Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. Nov. *Microbiology and Immunology*, 36(12), 1251-1275. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1992.tb02129.x>
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., & Nishiuchi, Y. (1995). Transfer of Two Burkholderia and An Alcaligenes Species to Ralstonia Gen. Nov.: Proposal of Ralstonia pickettii (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) Comb. Nov., Ralstonia solanacearum (Smith 1896) Comb. Nov. And Ralstonia eutro. *Microbiology and Immunology*, 39(11), 897-904. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1995.tb03275.x>

VIII. ANEXOS

ANEXO N°1: Detalle ensayos *in vitro* realizados

Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Cultivo sustrato directo	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad sustrato directo	Efectividad <i>in vitro</i>
"Amarilla"	12	2	5	5	8	2	1	5	25%	50%
"Amarilla-Morada"	12	5	4	3	8	3	2	3	44%	54%
"Roja"	9	1	5	3	8	4	2	2	50%	61%
"Morada"	12	3	5	4	8	1	4	3	56%	54%
								Promedio efectividad (ensayo 1 - may/jun 2022)	43,75 %	54,86%
Día 14										
Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Cultivo sustrato directo	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad sustrato directo	Efectividad <i>in vitro</i>
"Amarilla"	12	3	8	1	8	4	2	2	50%	79%
"Amarilla-Morada"	12	4	5	3	10	3	3	4	45%	58%
"Roja"	12	1	6	5	10	5	3	2	55%	54%
"Morada"	12	7	4	1	10	3	4	3	55%	63%
								Promedio efectividad (ensayo 2 - jul/jun 2022)	51,25 %	63,54%
Día 16										
Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Cultivo sustrato directo	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad sustrato directo	Efectividad <i>in vitro</i>
"Amarilla"	9	1	5	3	10	2	5	3	60%	61%
"Amarilla-Morada"	9	3	5	1	8	3	2	3	44%	72%
"Roja"	9	4	4	1	10	4	4	2	60%	67%
"Morada"	9	5	3	1	10	1	6	3	65%	61%
								Promedio efectividad (ensayo 3 oct 2022)	57,19 %	65,28%
Día 15										
Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Cultivo sustrato directo	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad sustrato directo	Efectividad <i>in vitro</i>
"Amarilla"	8	0	6	2	7	4	1	2	43%	75%
"Amarilla-Morada"	8	1	6	1	7	4	2	1	57%	81%
"Roja"	10	3	6	1	7	1	3	3	50%	75%

“Morada”	8	1	6	1	7	1	3	3	50%	81%
								Promedio efectividad (ensayo 4 dic/ene 2023)	50,00 %	78,13%

Día 15

Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad <i>in vitro</i>
“LDV”	12	4	7	1	75%
“V”	12	2	9	1	83%
“MN”	12	1	9	2	79%
“CL”	12	3	9	0	88%
				Promedio efectividad (ensayo 1.1 abril 2023)	81,25%

Día 15





Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad <i>in vitro</i>
“LDV”	15	4	8	3	67%
“V”	15	2	11	2	80%
“MN”	15	1	13	1	90%
“CL”	15	2	12	1	87%
				Promedio efectividad (ensayo 2.1 julio 2023)	80,83%

Día 20

Control crecimiento / Variedad Planta	Cultivo <i>in vitro</i>	Total, con Crecimiento inicial	Total, con desarrollo (hojas verdaderas)	Total, Sin crecimiento / Contaminación	Efectividad <i>in vitro</i>
“LDV”	12	1	10	1	88%
“V”	12	1	10	1	88%
“MN”	12	2	9	1	83%
“CL”	12	3	7	2	71%
				Promedio efectividad (ensayo 3.1 oct 2023)	82,29%

Día 21

ANEXO N°2: Detalles tamaño y peso de tubérculos de papa utilizados en ensayo.

Variedad MORADA "MOR" 	N°	Ancho (cm)	Largo (cm)	Masa (g)	Variedad AMARILLA "AMA" 	N°	Ancho (cm)	Largo (cm)	Masa (g)
	1	3,5	5	44,34		1	3,8	5,2	49,48
	2	4	5,2	43,73		2	3,8	6,2	54,61
	3	4,6	4,7	55,75		3	4	5,4	51,58
	4	4,5	4,6	50,38		4	3,9	5,7	57,85
	5	4,3	4,7	51,87		5	3,7	5,6	55,72
	6	4,1	5,6	54,02		6	4,6	4,9	54,51
	7	3,8	5,7	55,52		7	4,7	6	56,89
	8	3,8	5,4	51,82		8	3,6	5,3	39,99
	Promedio					Promedio			
\bar{X}	4,08	5,11	50,93	\bar{X}	4,01	5,54	52,58		
Variedad ROJA "RO" 	N°	Ancho (cm)	Largo (cm)	Masa (g)	Variedad COMERCIAL ASTERIX "COM" 	N°	Ancho (cm)	Largo (cm)	Masa (g)
	1	4,7	5,1	62,94		1	3,8	6,1	52,83
	2	4,1	4,3	42,78		2	4,1	5,7	46,79
	3	4	5,7	50,92		3	4	6,2	46,56
	4	4	5,2	48,79		4	3,9	5,3	44,85
	5	4,3	4,7	48,61		5	3,9	5,8	52,6
	6	4,3	5,6	60,14		6	3,9	5,6	47,9
	7	4,1	4,6	48,07		7	4,2	5,6	52,66
	8	4,2	4,1	36,54		8	3,7	5,7	44,64
	Promedio					Promedio			
\bar{X}	4,21	4,91	49,85	\bar{X}	3,94	5,75	48,60		

ANEXO N°3: Identificación papas utilizadas

Nombre	Detalles	Identificación con nombre común preliminar																																																																																																
<p style="text-align: center;">"Amarilla"</p> 	<p>Forma alargada, piel amarilla, pulpa amarilla.</p> <p>Las variedades "Amarilla", "Amarilla-morada", "Roja" y "Morada" fueron adquiridas en el comercio local de la Región de Los Lagos.</p> <p>Utilizando el listado de referencia de productores de semillas corrientes reportados por el SAG, también se puede observar que la variedad "michuñe blanca" es comercializable en la Región de Los Lagos.</p> <div style="background-color: #4b0082; color: white; padding: 10px; margin-top: 10px;">  <p style="text-align: center; font-size: 1.2em;">Michuñe Blanca</p> <p>Tubérculo: Forma alargada, ojos poco profundos Piel: color beige dorado Pulpa: color beige dorado</p> </div>	<p style="text-align: center;">Michuñe Blanca</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">  </div> <div style="margin-top: 10px;"> <p>Nombre: Guadacho blanca Michuñe blanca N° de colecta: 280CON755</p> <p style="text-align: center;">DESCRIPCIÓN</p> <table border="0"> <tr> <td colspan="2">BROTE</td> </tr> <tr> <td>Tamaño</td> <td>medio</td> </tr> <tr> <td>Forma</td> <td>ovoide</td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica de la base</td> <td>muy fuerte</td> </tr> <tr> <td>Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base</td> <td>media</td> </tr> <tr> <td>Pubescencia de la base</td> <td>débil</td> </tr> <tr> <td>Tamaño del extremo en relación con la base</td> <td>pequeño</td> </tr> <tr> <td>Porte del extremo</td> <td>cerrado</td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica del extremo</td> <td>muy fuerte</td> </tr> <tr> <td>Pubescencia del extremo</td> <td>fuerte</td> </tr> <tr> <td>Número de radículas</td> <td>bajo</td> </tr> <tr> <td>Longitud de las ramificaciones laterales</td> <td>cortas</td> </tr> <tr> <td colspan="2">PLANTA</td> </tr> <tr> <td>Estructura del follaje</td> <td>tipo foliar</td> </tr> <tr> <td>Porte del extremo</td> <td>semierecto</td> </tr> <tr> <td>Altura</td> <td>media</td> </tr> <tr> <td>Frecuencia de flores</td> <td>baja</td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica del tallo</td> <td>ausente o muy débil</td> </tr> <tr> <td colspan="2">HOJA</td> </tr> <tr> <td>Apertura</td> <td>abierta</td> </tr> <tr> <td>Presencia de folíolos secundarios</td> <td>débil</td> </tr> <tr> <td>Color verde</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica del nervio central del haz</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="2">SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES</td> </tr> <tr> <td>Tamaño</td> <td>grande</td> </tr> <tr> <td>anchura en relación con la longitud</td> <td>estrecha</td> </tr> <tr> <td colspan="2">FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES</td> </tr> <tr> <td>Frecuencia de la coalescencia</td> <td>ausente o muy baja</td> </tr> <tr> <td colspan="2">FOLIÓLO</td> </tr> <tr> <td>Ondulación del borde</td> <td>ausente o muy débil</td> </tr> <tr> <td>Profundidad de los nervios</td> <td>medios</td> </tr> <tr> <td>Brillo del haz</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="2">BOTÓN FLORAL</td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica</td> <td>débil</td> </tr> <tr> <td colspan="2">INFLORESCENCIA</td> </tr> <tr> <td>Tamaño</td> <td>pequeña</td> </tr> <tr> <td>Pigmentación antociánica del pedúnculo</td> <td>débil</td> </tr> <tr> <td colspan="2">COROLA DE LA FLOR</td> </tr> <tr> <td>Tamaño</td> <td>medio</td> </tr> <tr> <td>Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna</td> <td>media</td> </tr> <tr> <td>Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna</td> <td>ausente o baja</td> </tr> <tr> <td colspan="2">TUBÉRCULO</td> </tr> <tr> <td>Forma</td> <td>muy alargado</td> </tr> <tr> <td>Profundidad de los ojos</td> <td>poco profundos</td> </tr> <tr> <td>Color de la piel</td> <td>amarillo</td> </tr> <tr> <td>Color de la base del ojo</td> <td>amarillo</td> </tr> <tr> <td>Color de la pulpa</td> <td>crema</td> </tr> </table> </div>	BROTE		Tamaño	medio	Forma	ovoide	Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte	Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	media	Pubescencia de la base	débil	Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño	Porte del extremo	cerrado	Pigmentación antociánica del extremo	muy fuerte	Pubescencia del extremo	fuerte	Número de radículas	bajo	Longitud de las ramificaciones laterales	cortas	PLANTA		Estructura del follaje	tipo foliar	Porte del extremo	semierecto	Altura	media	Frecuencia de flores	baja	Pigmentación antociánica del tallo	ausente o muy débil	HOJA		Apertura	abierta	Presencia de folíolos secundarios	débil	Color verde		Pigmentación antociánica del nervio central del haz		SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES		Tamaño	grande	anchura en relación con la longitud	estrecha	FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES		Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja	FOLIÓLO		Ondulación del borde	ausente o muy débil	Profundidad de los nervios	medios	Brillo del haz		BOTÓN FLORAL		Pigmentación antociánica	débil	INFLORESCENCIA		Tamaño	pequeña	Pigmentación antociánica del pedúnculo	débil	COROLA DE LA FLOR		Tamaño	medio	Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	media	Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna		Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o baja	TUBÉRCULO		Forma	muy alargado	Profundidad de los ojos	poco profundos	Color de la piel	amarillo	Color de la base del ojo	amarillo	Color de la pulpa	crema
BROTE																																																																																																		
Tamaño	medio																																																																																																	
Forma	ovoide																																																																																																	
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte																																																																																																	
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	media																																																																																																	
Pubescencia de la base	débil																																																																																																	
Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño																																																																																																	
Porte del extremo	cerrado																																																																																																	
Pigmentación antociánica del extremo	muy fuerte																																																																																																	
Pubescencia del extremo	fuerte																																																																																																	
Número de radículas	bajo																																																																																																	
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas																																																																																																	
PLANTA																																																																																																		
Estructura del follaje	tipo foliar																																																																																																	
Porte del extremo	semierecto																																																																																																	
Altura	media																																																																																																	
Frecuencia de flores	baja																																																																																																	
Pigmentación antociánica del tallo	ausente o muy débil																																																																																																	
HOJA																																																																																																		
Apertura	abierta																																																																																																	
Presencia de folíolos secundarios	débil																																																																																																	
Color verde																																																																																																		
Pigmentación antociánica del nervio central del haz																																																																																																		
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES																																																																																																		
Tamaño	grande																																																																																																	
anchura en relación con la longitud	estrecha																																																																																																	
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES																																																																																																		
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja																																																																																																	
FOLIÓLO																																																																																																		
Ondulación del borde	ausente o muy débil																																																																																																	
Profundidad de los nervios	medios																																																																																																	
Brillo del haz																																																																																																		
BOTÓN FLORAL																																																																																																		
Pigmentación antociánica	débil																																																																																																	
INFLORESCENCIA																																																																																																		
Tamaño	pequeña																																																																																																	
Pigmentación antociánica del pedúnculo	débil																																																																																																	
COROLA DE LA FLOR																																																																																																		
Tamaño	medio																																																																																																	
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	media																																																																																																	
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna																																																																																																		
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o baja																																																																																																	
TUBÉRCULO																																																																																																		
Forma	muy alargado																																																																																																	
Profundidad de los ojos	poco profundos																																																																																																	
Color de la piel	amarillo																																																																																																	
Color de la base del ojo	amarillo																																																																																																	
Color de la pulpa	crema																																																																																																	

“Amarilla-Morada”



Piel amarilla y morado, pulpa con pigmentación morada. Su pigmentación permite la diferenciación rápida de las otras variedades nativas de papa,

Las variedades “Amarilla”, “Amarilla-morada”, “Roja” y “Morada” fueron adquiridas en el comercio local de la Región de Los Lagos.

Utilizando el listado de referencia de productores de semillas corrientes reportados por el SAG, también se puede observar que la variedad “cabrita” es comercializable en la Región de Los Lagos.

Cabrita

Nombre: Cabrita
 Nº de colecta: NG-133

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	medio
Forma	esférica
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	elevada
Pubescencia de la base	débil
Tamaño del extremo en relación con la base	grande
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antociánica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	bajo
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	rastrero
Altura	
Frecuencia de flores	
Pigmentación antociánica del tallo	media
HOJA	
Apertura	intermedia
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES	
Tamaño	grande
anchura en relación con la longitud	media
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIÓLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	media
INFLORESCENCIA	
Tamaño	
Pigmentación antociánica del pedúnculo	
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	
TUBERCULO	
Forma	ovariado corto
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	morada y amarillo
Color de la base del ojo	amarillo
Color de la pulpa	parcialmente azul

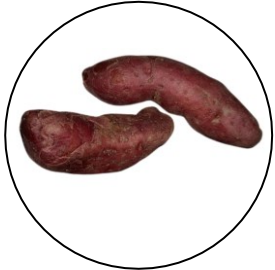
ANTECEDENTES EVALUATORIOS

Aceptación General	(Satisfactoria) – Cocida
Color	Variegado amarillo – morado – rosado
Forma	Redonda
Desintegración de la pulpa	Escasa desintegración superficial
Olor de la pulpa	Algo extraña a deseable (tostada, alcachofas, astringente)
Sabor de la pulpa	Moderado algo astringente
Dureza de la pulpa	Blanda
Calidad de la pulpa	Harinosa y algo húmeda
Tipo de grano	Intermedio

Uso preferente: Papa cocida para guisos especiales por su especial calidad de la pulpa, combina pulpa húmeda en su interior y harinosa en la capa externa con un agradable olor similar a alcachofas.

118

“Roja”



Forma alargada, piel rojiza, pulpa beige rojiza.

Las variedades “Amarilla”, “Amarilla-morada”, “Roja” y “Morada” fueron adquiridas en el comercio local de la Región de Los Lagos.

Utilizando el listado de referencia de productores de semillas corrientes reportados por el SAG, también se puede observar que la variedad “michuñe roja” es comercializable en la Región de Los Lagos.

Michuñe Roja

Nombre: Michuñe roja o Cacho roja

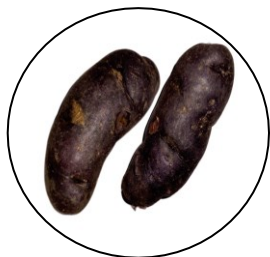
Nº de colecta: NG-85

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	pequeño
Forma	cónica
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	media
Pubescencia de la base	media
Tamaño del extremo en relación con la base	grande
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antociánica del extremo	débil
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	medio
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semierecto
Altura	media
Frecuencia de flores	ausente o muy baja
Pigmentación antociánica del tallo	media
HÓJA	
Apertura	
Presencia de folíolos secundarios	
Color verde	
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	
anchura en relación con la longitud	
FOLIOLES TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	
FOLIOLO	
Ondulación del borde	
Profundidad de los nervios	
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	media
INFLORESCENCIA	
Tamaño	pequeña
Pigmentación antociánica del pedúnculo	débil
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	pequeño
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	débil
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	muy grande
TUBÉRCULO	
Forma	muy alargado
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	violeta
Color de la base del ojo	violeta
Color de la pulpa	parcialmente rojo



“Morada”



Forma alargada, piel oscura, pulpa con pigmentación morada

Las variedades “Amarilla”, “Amarilla-morada”, “Roja” y “Morada” fueron adquiridas en el comercio local de la Región de Los Lagos.

Utilizando el listado de referencia de productores de semillas corrientes reportados por el SAG, también se puede observar que la variedad “michuñe roja” es comercializable en la Región de Los Lagos.

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Michuñe Negra

Tubérculo: Forma alargada, ojos profundos
 Piel: color violeta oscuro
 Pulpa: color beige dorado con pigmentación violeta



Michuñe Negra



Nombre: Michuñe ojo superficial

Nº de colecta: 260CON917

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	grande
Forma	ovoide
Pigmentación antocianica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la base	elevada
Pubescencia de la base	ausente o muy débil
Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antocianica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas laterales	medio
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semirecto
Altura	corta
Frecuencia de flores	
Pigmentación antocianica del tallo	débil
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antocianica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	medio
anchura en relación con la longitud	estrecha
FOLIOLES TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIOLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antocianica	
INFLORESCENCIA	
Tamaño	
Pigmentación antocianica del pedúnculo	
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	
Intensidad de la pigmentación antocianica de la cara interna	
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la cara interna	
Extensión de la pigmentación antocianica de la cara interna	
TUBERCULO	
Forma	ovalado largo
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	morado
Color de la base del ojo	morado
Color de la pulpa	amarillo claro pigm.

“LDV”



Forma redonda, ojos profundos y brote tamaño medio, color beige.

Las papas “LDV”, “V”, “CL”, y “MN” fueron adquiridas en la Región de Los Ríos. Reportadas de esta región por el vendedor de comercio (supermercado).

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Lengua de Vaca



Nombre: Amarilla ojuda

Nº de colecta: NG-112

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	medio
Forma	esférica
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	ausente o baja
Pubescencia de la base	media
Tamaño del extremo en relación con la base	grande
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antociánica del extremo	media
Pubescencia del extremo	fuerte
Número de radículas	medio
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del foliaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semirecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antociánica del tallo	media
HOJA	
Apertura	intermedia
Presencia de folíolos secundarios	media
Color verde	oscuro
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	ausente o muy débil
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES	
Tamaño	grande
anchura en relación con la longitud	ancha
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIÓLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	medio
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	fuerte
INFLORESCENCIA	
Tamaño	grande
Pigmentación antociánica del pedúnculo	media
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medio
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o muy débil
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o muy pequeña
TUBERCULO	
Forma	redondo
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	beige claro
Color de la base del ojo	amarillo
Color de la pulpa	amarillo medio



Estos tubérculos eran de color morado oscuro, redondos, y la pulpa presentaba coloración parcial morada.

Las papas “LDV”, “V”, “CL”, y “MN” fueron adquiridas en la Región de Los Ríos. Reportadas de esta región por el vendedor de comercio (supermercado).

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Viscocha morada



Nombre: Viscocha morada

Nº de colecta: 396CON906

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	grande
Forma	esférica
Pigmentación antocianica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la base	elevada
Pubescencia de la base	ausente o muy débil
Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño
Porte del extremo	intermedio
Pigmentación antocianica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	bajo
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo ramificado
Porte del extremo	semierecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antocianica del tallo	fuerte
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antocianica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES	
Tamaño	muy pequeño
anchura en relación con la longitud	estrecha
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIÓLO	
Ondulación del borde	media
Profundidad de los nervios	medios
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antocianica	media
INFLORESCENCIA	
Tamaño	
Pigmentación antocianica del pedúnculo	media
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medio
Intensidad de la pigmentación antocianica de la cara interna	ausente o muy débil
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la cara interna	elevada
Extensión de la pigmentación antocianica de la cara interna	pequeña
TUBÉRCULO	
Forma	redondo
Profundidad de los ojos	profundos
Color de la piel	morado
Color de la base del ojo	morado
Color de la pulpa	parcialmente morado

ANTECEDENTES EVALUATORIOS

Aceptación General	3.5 (Satisfactoria)
Color de la hoja	Variegada amarilla - crema con líneas moradas
Forma de la hoja	Redonda
Olor	Ligeramente tostado
Sabor	Umami - dulce y aceitoso
Flavor	No se detecta
Textura	Crocante
Aceptación General	3.8 (Satisfactoria) - Cocida
Color de la pulpa	Variegado gris amarillo-gris crema
Forma de la papa	Redonda
Desintegración de la pulpa	Escasa desintegración superficial
Olor de la pulpa	Algo extraña deseable (similar a alcachofas o especia)
Sabor de la pulpa	Moderado astringente
Dureza de la pulpa	Mediamente firme
Cantidad de la pulpa	Húmeda; adhesivo; jabonoso
Tipo de grano	Intermedio
Uso	
Papa frita cumple satisfactoriamente con las expectativas del consumidor: sabor umami dulce y aceitoso, olor ligeramente a tostado, textura crocante y atractivo color amarillo con líneas moradas.	



“CL”



Los tubérculos utilizados tenían forma redonda, de color amarillo claro, yemas poco profundas y color de pulpa amarilla.

Las papas “LDV”, “V”, “CL”, y “MN” fueron adquiridas en la Región de Los Ríos. Reportadas de esta región por el vendedor de comercio (supermercado).

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Clavela Lisa



Nombre: Amarilla ojuda

Nº de colecta: NG-112

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	medio
Forma	esférica
Pigmentación antocianica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la base	ausente o baja
Pubescencia de la base	media
Tamaño del extremo en relación con la base	grande
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antocianica del extremo	media
Pubescencia del extremo	fuerte
Número de radículas	medio
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semirecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antocianica del tallo	media
HOJA	
Apertura	intermedia
Presencia de folíolos secundarios	media
Color verde	oscuro
Pigmentación antocianica del nervio central del haz	ausente o muy débil
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES	
Tamaño	grande
anchura en relación con la longitud	ancha
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIÓLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	medio
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antocianica	fuerte
INFLORESCENCIA	
Tamaño	grande
Pigmentación antocianica del pedúnculo	media
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medio
Intensidad de la pigmentación antocianica de la cara interna	ausente o muy débil
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antocianica de la cara interna	ausente o muy pequeña
TUBÉRCULO	
Forma	redondo
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	beige claro
Color de la base del ojo	amarillo
Color de la pulpa	amarillo medio

“MN”



El color de la pulpa fue el más oscuro evaluado.

Las papas “LDV”, “V”, “CL”, y “MN” fueron adquiridas en la Región de Los Ríos. Reportadas de esta región por el vendedor de comercio (supermercado).

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Michuñe Negra

Nombre: Michuñe azul-ojuda

Nº de colecta: 275CON756

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	pequeño
Forma	cónica
Pigmentación antocianica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la base	elevada
Pubescencia de la base	media
Tamaño del extremo en relación con la base	medio
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antocianica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	bajo
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo ramificado
Porte del extremo	semierecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	baja
Pigmentación antocianica del tallo	débil
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antocianica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	muy grande
anchura en relación con la longitud	media
FOLIOLES TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIOLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	medios
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antocianica	media
INFLORESCENCIA	
Tamaño	media
Pigmentación antocianica del pedúnculo	débil
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medio
Intensidad de la pigmentación antocianica de la cara interna	media
Proporción de azul en la pigmentación antocianica de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antocianica de la cara interna	media
TUBÉRCULO	
Forma	muy alargado
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	morado
Color de la base del ojo	morado
Color de la pulpa	parcialmente morado





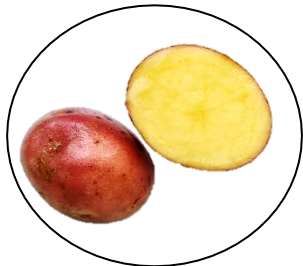
Nombre: Michuñe ojo superficial

Nº de colecta: 260CON917

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	grande
Forma	ovoide
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	elevada
Pubescencia de la base	ausente o muy débil
Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antociánica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	medio
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semierecto
Altura	corta
Frecuencia de flores	
Pigmentación antociánica del tallo	débil
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	medio
anchura en relación con la longitud	estrecha
FOLIOLES TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIOLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	
INFLORESCENCIA	
Tamaño	
Pigmentación antociánica del pedúnculo	
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	
TUBERCULO	
Forma	ovalado largo
Profundidad de los ojos	medios
Color de la piel	morado
Color de la base del ojo	morado
Color de la pulpa	amarillo claro pigm.

“Comercial”



Distribuida por Comercial Ancovi

Esta variedad, denominada “Comercial” en este trabajo, es una papa blanca con forma oval alargado y de pulpa blanca, la piel suele ser rojiza y lisa. Reportada como semilla común de papa por el SAG.

Asterix

SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO | División Semillas

ASTERIX

10

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL TUBÉRCULO

Color de piel del tubérculo:	Rojo y liso
Color de la pulpa:	Blanca amarillenta
Forma del tubérculo:	Oval alargado



Solanum tuberosum L. | PAPA



Departamento de Certificación y Comercio de Semillas y Plantas Frutales



Variedad proveniente de “papas mix” de la marca Huertos del Ranco (Res. Sanitaria N°2495 16/04/13 Seremi Salud R. de Los Ríos) Río Bueno informadas vía telefónica por el proveedor como “amarilla, morada y murta roja”

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Clavela redonda



Nombre: Clavela redonda
N° de colecta: 564CON1085

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	medio
Forma	esférica
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	ausente o baja
Pubescencia de la base	débil
Tamaño del extremo en relación con la base	medio
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antociánica del extremo	débil
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	alto
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo ramificado
Porte del extremo	erecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antociánica del tallo	media
HOJA	
Apertura	intermedia
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	oscuro
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	ausente o muy débil
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	grande
anchura en relación con la longitud	ancha
FOLIOLES TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIOLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	poco profundos
Brillo del haz	medio
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	fuerte
INFLORESCENCIA	
Tamaño	media
Pigmentación antociánica del pedúnculo	media
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medio
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o muy débil
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o muy pequeña
TUBÉRCULO	
Forma	ovalado
Profundidad de los ojos	poco profundos
Color de la piel	amarillo
Color de la base del ojo	amarillo
Color de la pulpa	amarillo medio



"Ro"

Reporta color de la pulpa parcialmente rojo.

Variedad proveniente de "papas mix" de la marca Huertos del Ranco (Res. Sanitaria N°2495 16/04/13 Seremi Salud R. de Los Ríos) Río Bueno informadas vía telefónica por el proveedor como "amarilla, morada y murta roja"

Presente en la "Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)" del SAG.

Murta ojuda

Nombre: Murta ojuda

N° de colecta: NG-98

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	pequeño
Forma	ovóide
Pigmentación antocianina de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antocianina de la base	media
Pubescencia de la base	media
Tamaño del extremo en relación con la base	grande
Porte del extremo	cerrado
Pigmentación antocianina del extremo	media
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	bajo
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del follaje	tipo intermedio
Porte del extremo	semierecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antocianina del tallo	media
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	media
Color verde	
Pigmentación antocianina del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIÓLOS LATERALES	
Tamaño	grande
anchura en relación con la longitud	media
FOLIÓLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIÓLO	
Ondulación del borde	ausente o muy débil
Profundidad de los nervios	medios
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antocianina	ausente o muy débil
INFLORESCENCIA	
Tamaño	media
Pigmentación antocianina del pedúnculo	ausente o muy débil
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	pequeño
Intensidad de la pigmentación antocianina de la cara interna	media
Proporción de azul en la pigmentación antocianina de la cara interna	ausente o baja
Extensión de la pigmentación antocianina de la cara interna	media
TUBERCULO	
Forma	redondo
Profundidad de los ojos	muy profundos
Color de la piel	rojo
Color de la base del ojo	rojo
Color de la pulpa	parcialmente rojo





“Mor”

Variedad proveniente de “papas mix” de la marca Huertos del Rancho (Res. Sanitaria N°2495 16/04/13 Seremi Salud R. de Los Ríos) Río Bueno informadas vía telefónica por el proveedor como “amarilla, morada y murta roja” Presenta coloración morada en la pulpa del tubérculo, que presenta una piel oscura negra-morada y ojos profundos.

El catálogo de plantas nativas (Contreras & Castro Urrutia, 2008) describe una reportada similar.

Presente en la “Lista de Variedades de especies agrícolas oficialmente descritas (histórica)” del SAG.

Viscocha morada



Nombre: Viscocha morada

Nº de colecta: 396CON906

DESCRIPCIÓN

BROTE	
Tamaño	grande
Forma	esférica
Pigmentación antociánica de la base	muy fuerte
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la base	elevada
Pubescencia de la base	ausente o muy débil
Tamaño del extremo en relación con la base	pequeño
Porte del extremo	intermedio
Pigmentación antociánica del extremo	muy fuerte
Pubescencia del extremo	media
Número de radículas	bajo
Longitud de las ramificaciones laterales	cortas
PLANTA	
Estructura del foliaje	tipo ramificado
Porte del extremo	semierecto
Altura	larga
Frecuencia de flores	media
Pigmentación antociánica del tallo	fuerte
HOJA	
Apertura	abierta
Presencia de folíolos secundarios	débil
Color verde	
Pigmentación antociánica del nervio central del haz	
SEGUNDO PAR DE FOLIOLOS LATERALES	
Tamaño	muy pequeño
anchura en relación con la longitud	estrecha
FOLIOLOS TERMINALES Y LATERALES	
Frecuencia de la coalescencia	ausente o muy baja
FOLIOLO	
Ondulación del borde	media
Profundidad de los nervios	medios
Brillo del haz	
BOTÓN FLORAL	
Pigmentación antociánica	media
INFLORESCENCIA	
Tamaño	
Pigmentación antociánica del pedúnculo	media
COROLA DE LA FLOR	
Tamaño	medic
Intensidad de la pigmentación antociánica de la cara interna	ausente o muy débil
Proporción de azul en la pigmentación antociánica de la cara interna	elevada
Extensión de la pigmentación antociánica de la cara interna	pequeña
TUBÉRCULO	
Forma	redondo
Profundidad de los ojos	profundos
Color de la piel	morado
Color de la base del ojo	morado
Color de la pulpa	parcialmente morado

ANTECEDENTES EVALUATORIOS

Aceptación General	3.5 (Satisfactoria)
Color de la hoja	Variegada amarilla - crema con líneas moradas
Forma de la hoja	Redonda
Olor	Ligeramente tostado
Sabor	Umami - dulce y aceitoso
Flavor	No se detecta
Textura	Crocante
Aceptación General	3.6 (Satisfactoria) - Cocida
Color de la pulpa	Variegado gris amarillo-gris crema
Forma de la papa	Redonda
Desintegración de la pulpa	Escasa desintegración superficial
Olor de la pulpa	Algo extraña deseable (similar a aicachofas o especia)
Sabor de la pulpa	Moderado astringente
Dureza de la pulpa	Mediamente firme
Calidad de la pulpa	Húmeda; adhesivo; jabonoso
Tipo de grano	Intermedio
Uso :	
Papa frita cumple satisfactoriamente con las expectativas del consumidor: sabor umami dulce y aceitoso, olor ligeramente a tostado, textura crocante y atractivo color amarillo con líneas moradas.	

