

Efectos epistáticos en la resistencia a *Phytophthora capsici* Leon en pimiento (*Capsicum annuum*)

R. BARTUAL, A. LACASA, J. I. MARSAL y J. C. TELLO

La mejora de la resistencia a *Phytophthora capsici* Leon en pimiento (*Capsicum annuum*) es compleja, debido esencialmente a la naturaleza poligénica del carácter y a la existencia de efectos epistáticos de distintos tipos. El análisis de la variabilidad entre híbridos simples, tres vías y dobles, obtenidos a partir de siete líneas seleccionadas por su resistencia a *P. capsici*, desvela que tanto la epistasia del tipo aditivo-por-aditivo por una parte, como las epistasias de orden superior consideradas conjuntamente por otra, contribuyen significativamente a la variabilidad de dicho carácter.

La importancia relativa que los efectos epistáticos diferentes a los del tipo aditivo-por-aditivo (aditivo-por-dominante, dominante-por-dominante y de orden superior) tienen con respecto a estos últimos, está correlacionada con la agresividad de la cepa y son lo suficientemente relevantes como para sesgar la predicción del comportamiento de los híbridos en cuanto a resistencia al hongo, produciendo una desviación significativa entre los valores realmente observados y los obtenidos a través de fórmulas de predicción basadas en los parámetros genéticos de sus parentales originales.

R. BARTUAL y J. I. MARSAL. IVIA, Unidad de Horticultura (Moncada).
A. LACASA. CRIA, Dpto. de Protección Vegetal (La Alberca).
J. C. TELLO. INSPV. Madrid

Palabras clave: Agresividad, *Capsicum annuum*, Cepa, Epistasia, Híbridos, *Phytophthora capsici*, Predicción, Resistencia.

INTRODUCCION

La obtención de nuevas combinaciones entre genes responsables de resistencia parcial a una determinada enfermedad, ha sido propuesta en los últimos años como recurso para obtener niveles de resistencia aceptables y estables en el transcurso del tiempo (REIFSCHNEIDER *et al.*, 1992). Este procedimiento está especialmente indicado en casos como el de la mejora para la resistencia a *P. capsici* en pimiento, ya que se trata de una combinación de una resistencia específica o vertical (POLACH y WEBSTER, 1972; CAMPOS y BARTUAL, 1984) y de una resistencia inespecífica u horizontal (CLERJEAU *et al.*,

1976; POCHARD y DAUBEZE, 1980; PARLEVLIET, 1981; BARTUAL y CAMPOS 1984), indicando la naturaleza poligénica del carácter. Este tipo de resistencia combinada se debe a la existencia de interacciones entre genes con efectos mayores situados en distintos loci, confiriendo cada uno de ellos una resistencia parcial, y a la acción adicional de genes con efectos menores que ejercen como modificadores (BARKSDALE *et al.*, 1984).

En los últimos años, se han emprendido programas de mejora de la resistencia a *P. capsici* mediante el método de selección recurrente, habiéndose observado que la mayoría de las líneas transgresivas, obtenidas tras un primer ciclo de selección, proce-

dían del cruce entre parentales parcialmente resistentes. Ello sugiere que la presencia de genes con efectos mayores, procedentes de dichos parentales, es necesaria para aumentar la expresión de la resistencia a *P. capsici* (GIL ORTEGA *et al.*, 1990) y que éstos actúen de forma complementaria. Pero asimismo, descendencias de híbridos obtenidos a partir de líneas susceptibles mostraron igualmente segregación transgresiva, indicando que genes de resistencia con efectos menores están presentes en líneas aparentemente sensibles (PALLOIX *et al.*, 1990), demostrando con ello que la herencia de este carácter es compleja. Por ello, un mayor conocimiento en profundidad sobre los tipos de acción génica que rigen la herencia de la resistencia a *P. capsici* es necesaria como paso previo a la aplicación de un método de selección para la mejora en dicho carácter.

Estudios posteriores concernientes a los tipos de acción génica en la resistencia a *P. capsici* confirman esta complejidad, siendo uno de los factores que contribuyen a ello la existencia de efectos epistáticos (BARTUAL *et al.*, 1991a; REIFSCHNEIDER *et al.*, 1992).

El objetivo de nuestro estudio consiste en valorar la importancia que los efectos epistáticos considerados conjuntamente, y que sean diferentes a los del tipo aditivo-por-aditivo, puedan tener en la genética de la resistencia a *P. capsici*, tomando como referencia la posible desviación entre el valor real y el estimado a través de fórmulas de predicción para una serie de híbridos dobles obtenidos a partir de un número fijado de líneas de pimiento parcialmente resistentes a *P. capsici*.

MATERIALES Y METODOS

Siete líneas de pimiento de distintos orígenes y que ofrecen una resistencia parcial a *P. capsici*, se cruzaron entre sí según el esquema de un dialelo (HAYWARD, 1979), obteniendo los veintidós híbridos simples posi-

bles. Estas líneas fueron: Phyo 636 y PM217, de Francia; Smith 5, de USA; Mirasol, Línea 29 y Serrano Criollo de Morelos, de México. La polinización se efectuó manualmente en invernadero en condiciones ambientales controladas, castrando las flores de las plantas que actuaban como hembras antes de la antesis. Una vez efectuados los cruces, se les protegió de toda posible contaminación de polen ajeno envolviéndolas en pequeños sobres transparentes, que se eliminaron una vez cuajado el fruto e iniciado su desarrollo. A partir de estos híbridos simples se obtuvieron ciento cinco híbridos tres vías y ochenta híbridos dobles, siguiendo el mismo mecanismo de polinización controlada.

Todo el material vegetal obtenido fue sometido a sendas pruebas de resistencia frente a tres cepas de *P. capsici* (P20M, P10M y P4M) que mostraban una agresividad alta, media y baja, respectivamente. La procedencia de las mismas fue de Murcia (P20M) y de Valencia (P10M y P4M). El método de inoculación que se aplicó para las pruebas de resistencia fue el de decapitación (PO-CHARD *et al.*, 1976), en las condiciones de $22^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ de temperatura y 60 % de humedad relativa. Las pruebas de resistencia se realizaron para cada cepa independientemente sin mezcla alguna (PARLEVLIET, 1983). Se inocularon veinte plantas de cada híbrido y se efectuaron las lecturas del avance de la infección a los nueve días a partir de la fecha de inoculación, expresando el resultado en milímetros. La razón de fijar este plazo reside en que la totalidad de las plantas del testigo (Yolo Wonder) han fallecido transcurrido dicho tiempo. El modelo estadístico empleado para el análisis genético estadístico fue el siguiente :

$$Y_{ij} = u + C_i + e_{ij}$$

donde Y_{ij} es la observación individual (lectura del avance de la infección a los nueve días de haber inoculado); u es la media general; C_i es el efecto del cruzamiento «i» (fijo); y e_{ij} es el error experimental.

Varias fórmulas se han propuesto para calcular la estima del comportamiento de un híbrido doble, siendo la de mayor precisión la basada en parámetros genéticos estimados a partir de datos reales de los híbridos simples y tres vías. La predicción del valor medio de un híbrido doble, tal como la definen EBERHART y HALLAUER (1968) es la siguiente:

$$C_{ij,kl} = u + 1/2(g_i + g_j + g_k + g_l) + 1/4(s_{ik} + s_{il} + s_{jk} + s_{jl}) + 1/4(aa_{ij} + aa_{ik} + aa_{il} + aa_{jk} + aa_{jl} + aa_{kl})$$

donde $C_{ij,kl}$ es la estima del valor medio del híbrido doble obtenido por cruzamiento entre los híbridos simples ixj y kxl ; u es la media general de los híbridos simples del dialelo; g_i es el efecto de aptitud combinatoria general de la línea i ; s_{ij} es el efecto de aptitud combinatoria específica del cruce ixj ; aa_{ij} es el efecto epistático aditivo-por-aditivo del cruce ixj , tal como lo definen EBERHART y GARDNER (1966). Las estimas de estos efectos se obtuvieron mediante la aplicación de un programa de regresión por mínimos cuadrados.

En esta expresión, u se halla sesgada por los efectos epistáticos en general. Para evitar el sesgo debido a los del tipo aditivo-por-aditivo, se sustituirá el valor de u por el de u_c , siendo $u_c = u - \bar{aa}$, en la que \bar{aa} es la media de los efectos epistáticos aditivo-por-aditivo (CARBONELL *et al.*, 1985). De esta forma corregimos en parte la posible diferencia que pudiera darse entre los valores reales observados y los obtenidos en la predicción a causa de tal sesgo.

Dado que disponemos de los valores reales de las pruebas de resistencia de los híbridos dobles frente a cada una de las tres cepas y del valor estimado a través de la fórmula de predicción basada en los parámetros genéticos estimados a partir del análisis genético estadístico (BARTUAL *et al.*, 1991a), podremos valorar el grado de aproximación entre los valores reales medios y los obtenidos en la predicción a través de la correspondiente prueba chi cuadrado para cada una de las tres cepas de *P. capsici*,

según el método estadístico tradicional (SNEDECOR y COCHRAN, 1980). La discrepancia entre ambos valores constituye una medida indirecta de la importancia de la epistasia diferente a la del tipo aditivo-por-aditivo y del ligamiento.

RESULTADOS

El avance medio de la infección, transcurridos nueve días a partir de la fecha de inoculación para cada una de las tres cepas queda reflejado en el Cuadro 1. En la misma se incluyen los valores medios de las series integradas por la totalidad de las líneas parentales, de los híbridos simples, de los tres vías y de los dobles.

Cuadro 1.—Progresión media de la infección (mm) para cada una de las tres cepas de *P. capsici* en las cuatro series de material vegetal

Serie	Cepa		
	P20M	P10M	P4M
Parentales	17,4 ± 1,0	9,9 ± 1,1	8,4 ± 1,0
Híbridos simples	10,6 ± 0,3	9,5 ± 0,4	4,8 ± 0,2
Híbridos tres vías	5,6 ± 0,1	6,8 ± 0,1	4,3 ± 0,1
Híbridos dobles	10,5 ± 0,4	9,2 ± 0,4	3,5 ± 0,3

De acuerdo con el modelo estadístico empleado, el análisis de la varianza correspondiente a cada una de las tres cepas queda reflejado en el Cuadro 2.

De los resultados obtenidos en este análisis, se deduce que todos los efectos genéticos son altamente significativos, cabiendo destacar como resultado relevante el hecho de que tanto la epistasia tipo aditivo-por-aditivo como la desviación del modelo (que incluye los efectos epistáticos aditivo-por-dominante, dominante-por-dominante y de orden superior), fuesen significativas.

Las estimas de los efectos de las aptitudes combinatorias general y específica, así como de los efectos epistáticos del tipo aditivo-por-aditivo, fueron calculadas y ex-

Cuadro 2.—Análisis de la varianza para cada una de las tres cepas de *P. capsici*

Origen de variabilidad	g.l.	Cuadrado medio		
		Cepa P20M	Cepa P10M	Cepa P4M
Cruces	205	260,5**	333,1**	114,3**
Modelo	41	325,4**	615,1**	247,7**
a.c.g.	6	337,0**	1.230,1**	312,0**
a.c.e.	14	150,1**	371,6**	237,2**
epistasia (aa)	21	303,2**	641,9**	348,1**
Desviación del modelo	164	244,2**	262,5**	81,0**
Error	≥ 3.688	18,9	28,2	9,9

** Significativo al nivel de probabilidad $p = 0,01$.

puestas en trabajos anteriores (BARTUAL *et al.*, 1991a). Tomando como base de partida aquellos resultados, calculamos las estimas para los híbridos dobles según la fórmula de predicción expuesta en la sección de métodos y procedimos a las correspondientes pruebas de chi cuadrado para cada una de las tres cepas. Los estadísticos obtenidos serán contrastados con el chi cuadrado con $(80-1)$ grados de libertad. Los resultados al respecto quedan reflejados en el Cuadro 3.

Cuadro 3.—Resultado del test chi cuadrado para cada cepa de *P. capsici*

Parámetro	Cepa		
	P20M	P10M	P4M
\bar{aa}	-8,3	-3,6	-0,9
$U_c = u - \bar{aa}$	18,9	13,1	5,7
Chi cuadrado	357,8**	184,9**	203,5**

** Significativo al nivel de probabilidad $p = 0,01$.

Estos resultados indican que la diferencia entre los valores reales observados y los obtenidos a través de la fórmula de predicción es altamente significativa para las tres cepas.

DISCUSION

En recientes estudios, se ha constatado que la epistasia constituye un efecto genéti-

co a tener en cuenta en la genética de la resistencia a *Phytophthora capsici*. Si comparamos los resultados hallados para las series de parentales e híbridos simples (Cuadro 1), puede observarse un aumento de la resistencia en la de híbridos simples para todas las cepas, sugiriendo la existencia de efectos heteróticos. Si la comparación la establecemos entre las series de híbridos simples y la de los tres vías, se observa igualmente un aumento de la resistencia, lo que implica que existe una acción epistática (STUBER *et al.*, 1973).

Por el contrario, la situación es diferente cuando se comparan la serie de híbridos simples con la de los dobles. En efecto, la ganancia en resistencia que se experimenta en los casos de las cepas de agresividad alta (P20M) y media (P10M) es exigua comparada con la experimentada en los tres vías. Sin embargo, cuando se trata de la cepa de menor agresividad (P4M), el aumento de resistencia en los híbridos dobles es notoria. Una explicación en los casos de las cepas de agresividad alta y media pudiera ser que el efecto conjunto de dominancia y epistasia resultó más beneficioso en el caso de los híbridos tres vías que en el de los híbridos dobles (WEATHERSPOON, 1970), como consecuencia de la desaparición de efectos epistáticos favorables por la pérdida de algún gen o genes en el proceso de recombinación que tiene lugar al cruzar los híbridos simples para obtener los híbridos dobles (ENGQVIST y BECKER, 1991).

Por otra parte, la importancia relativa de los diferentes efectos genéticos (aditividad, dominancia y epistasia) está relacionada con la agresividad de la cepa con la que se verifique la inoculación, existiendo una correlación entre el número de genes que intervienen en la expresión de la resistencia y el grado de agresividad de la cepa (BARTUAL *et al.*, 1991b). Por ello, consideramos que las posibilidades de lograr combinaciones génicas con efectos epistáticos más favorables serán mayores cuanto menor sea el número de genes implicados en la expresión del carácter. Asimismo, resulta lógico que la probabilidad de que se perdieran genes con efectos favorables en cuanto a resistencia en los procesos de recombinación sea menor cuanto menor sea el número de genes implicados. Esta hipótesis justificaría el aumento de resistencia observado en la serie de híbridos dobles cuando la prueba de resistencia de dicho material se hizo frente a la cepa de poca agresividad (P4M).

Si comparamos los cuadrados medios hallados para la epistasia tipo aditivo-por-aditivo y los correspondientes a la desviación del modelo para cada cepa independientemente, observamos que la importancia relativa de la desviación del modelo con respecto a la primera es proporcionalmente mayor en el caso de la cepa más agresiva (P20M) que en la de agresividad media (P10M) y en esta última a su vez mayor que en la de menor agresividad (P4M). Este hecho sugiere la existencia de una correlación entre la importancia de los efectos epistáticos de mayor orden y la agresividad de la cepa.

Cuando los efectos epistáticos diferentes a los del tipo aditivo-por-aditivo (desviación del modelo) resultan significativos en el análisis de la varianza, cabe establecer una comparación entre el valor observado para cada híbrido doble en la prueba de resistencia y el valor estimado a través de

una adecuada fórmula empírica. Esta deberá basarse en los parámetros genéticos de las líneas parentales originales, estimados a partir del análisis genético estadístico. Con ello, podremos detectar el posible sesgo que tales tipos de epistasia (aditivo-por-dominante, dominante-por-dominante y de orden superior, conjuntamente) pudieran ejercer para que exista una diferencia significativa entre ambos valores (EBERHART, 1964). Tal es nuestro caso ya que la desviación del modelo resultó ser altamente significativa (Cuadro 2), por lo que procedimos a efectuar el correspondiente test chi cuadrado.

Los resultados de dicho test (Cuadro 3), dan a entender que la diferencia hallada entre los valores observados y los obtenidos en la predicción es altamente significativa, para cada una de las tres cepas. Ello corrobora la conclusión a la que se llegó en un principio a través del análisis de la varianza: que los efectos epistáticos diferentes a los del tipo aditivo-por-aditivo contribuyen a la variabilidad de la resistencia a *Phytophthora capsici* y deben de tenerse en cuenta a la hora de verificar un programa de mejora para dicho carácter, así como que sesgan la predicción del comportamiento de los híbridos en cuanto a la resistencia a dicho hongo.

AGRADECIMIENTOS

A M.^a C. Martínez Lluch (del CRIA de La Alberca, Murcia) por el trabajo realizado en la inoculación y lecturas, así como a A. Tomás (del IVIA, Moncada, Valencia) por su trabajo en la realización de cruzamientos; y a J. Torres Corcuera (del CRIA, Murcia) y J. J. Cerdá (del IVIA, Moncada) por el mantenimiento y cultivo de plantas para inocular. Finalmente, a E. Carbonell (del IVIA, Moncada) por su asesoramiento en estadística e informática.

ABSTRACT

BARTUAL, R.; LACASA, A.; MARSAL, J. I. y TELLO, T. C. (1993): Efectos epistáticos en la resistencia a *Phytophthora capsici* Leon en pimiento (*Capsicum annuum*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **19**(3): 485-490.

Epistatic effects are present in the resistance to *Phytophthora capsici* Leon in pepper (*Capsicum annuum*). Genetic statistical analysis shows that both, additive-by-additive epistasis and higher order epistatic effects considered altogether, contribute to the total variability significantly. Furthermore, higher order epistatic effects caused biases in the prediction of the resistance of double crosses based on estimated genetic parameters of parentals, the differences between real and predicted values being significant.

The relative importance of higher order epistasis with respect to additive-by-additive epistasis seems to be correlated with the aggressiveness of the isolate of *Phytophthora capsici*.

Key words: Aggressiveness, *Capsicum annuum*, Double crosses, Epistasis, *Phytophthora capsici*, Prediction, Resistance.

REFERENCIAS

- BARKSDALE, T. H.; G. C. PAPAVIDAS & S. A. JOHNSTON, 1984: Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Dis.*, **68**: 506-509.
- BARTUAL, R. & T. CAMPOS, 1984: Hipótesis sobre la resistencia a *Phytophthora capsici* en pimiento. V *Jornadas de Mejora de Hortalizas*. INIA (Logrono) Vol. 1: 238-256.
- BARTUAL, R.; MARSAL, J. I.; CARBONELL, E. A.; TELLO, J. C. & CAMPOS, T., 1991a: Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* L. en pimiento. *Bol. San. Veg. Plagas*, **17**: 3-124.
- BARTUAL, R.; CARBONELL, E. A.; MARSAL, J. I.; TELLO, J. C. & CAMPOS, T., 1991b: Gene action in the resistance of peppers (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora* stem blight (*Phytophthora capsici*). *Euphytica*, **54**: 195-200.
- CAMPOS, T. & BARTUAL, R., 1984: Evaluación de la resistencia a *Phytophthora capsici* L. en once cultivares de pimiento. V *Jornadas de Mejora de Hortalizas*. INIA (Logrono) Vol. 1: 219-237.
- CARBONELL, E. A.; FREY, J. J. & BELL, A. E., 1985: Estimation of maternal, sex-linked and additive-by-additive epistatic gene effects for body size of *Tribolium*. *Theor. and Appl. Genetics*, **70**: 133-137.
- CLERJEAU, M.; PITRAT, M. & NOURISSEAU, J.G., 1976: La résistance du piment (*Capsicum annuum*) à *Phytophthora capsici*. IV Etude de l'agressivité de divers isolats au niveau des feuilles, des tiges et du collet de plantes sensibles et résistantes. *Ann. Phytopathol.*, **8**(4): 411-423.
- EBERHART, S., 1964: Theoretical relations among single, three-way, and double cross hybrids. *Biometrics*, **20**(3): 522-539.
- EBERHART, S. & GARDNER, C. O., 1966: A general model for genetic effects. *Biometrics*, **22**(4): 864-881.
- EBERHART, S. & HALLAUER, A. R., 1968: Genetic effects for yield in single, three-way, and double cross maize hybrids. *Crop Sci.*, **8**: 377-379.
- ENGQVIST, G.M. & BECKER, H. C., 1991: Heterosis and epistasis in rapeseed estimated from generation means. *Euphytica*, **58**: 31-35.
- GIL ORTEGA, R.; PALAZÓN ESPAÑOL, C. & ZUECO, J. C., 1990: Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the Mexican pepper «Linea 29». *EPPO Bulletin*, **20**: 117-122.
- HAYWARD, M. D., 1979: The application of the diallel cross to outbreeding crop species. *Euphytica*, **28**: 729-737.
- PALLOIX, A.; DAUBÈZE, A. M.; PHALY, T. & POCHARD, E., 1990: Breeding transgressive lines of pepper for resistance to *Phytophthora capsici* in a recurrent selection system. *Euphytica*, **51**: 141-150.
- PARLEVLIET, J. E., 1981: Disease resistance in plants and its consequences for plant breeding. **In:** *Plant Breeding II*. Iowa State University Press: 309-347.
- PARLEVLIET, J. E., 1983: Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of pathogen races?. *Phytopathology*, **73**(3): 379.
- POCHARD, E.; CLERJEAU, M. & PITRAT, M., 1976: La résistance du piment, *Capsicum annuum*, à *Phytophthora capsici* Leon. I Mise en évidence d'une induction progressive de la résistance. *Ann. Amélior. Plant.*, **26**(1): 35-50.
- POCHARD, E. & DAUBEZE, A. M., 1980: Recherche et évaluation des composantes d'une résistance polygénique: la résistance du piment à *Phytophthora capsici*. *Ann. Amélior. Plant.*, **30**: 377-398.
- POLACH, E. & WEBSTER, R. F., 1972: Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, **62**(1): 20-26.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B.; BOITEUX, L. S.; DELLA VECHIA, P. T.; POULOS, J. M. & KURODA, N., 1992: Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. *Euphytica*, **62**: 45-49.
- SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G., 1980: *Statistical methods*. 7th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- STUBER, C. W.; WILLIAMS, W. P. & MOLL, R. H., 1973: Epistasis in maize (*Zea mays* L.): III Significance in predictions of hybrid performances. *Crop Sci.*, **13**: 195-200.
- WEATHERSPOON, J. H., 1970: Comparative yields of single, three way, and double crosses of maize. *Crop Sci.*, **10**(2): 157-159.

(Aceptado para su publicación: 8 mayo 1993)