



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Análisis epidemiológico de la marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Luis Alberto Mendoza Vargas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de ciencias agrarias

Bogotá, Colombia

2023

Análisis epidemiológico de la marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Luis Alberto Mendoza Vargas

Tesis o trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Directora:

Ph.D. Sandra Gómez Caro

Codirector:

Ph.D. Joaquín Guillermo Ramírez Gil

Línea de Investigación en Fitopatología

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2023

A mi padre

Agradecimientos

A mi hermana Monica Mendoza por su apoyo, colaboración y tiempo. A Jenny Martinez por su apoyo, dedicación y tiempo.

Al Fondo Nacional del Fomento de la Papa (FNFP), a la Federación Colombiana de Productores de Papa - FEDEPAPA quienes dieron los recursos para la financiación del proyecto No. S3554 titulado “Estudio de *Verticillium* y de una patología de origen desconocido en papa: aproximación desde la detección, epidemiología, manejo e importancia económica” en el cual se enmarcó la presente investigación.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá por disponer de los espacios y herramientas para realizar esta investigación.

A los productores de papa de Cundinamarca por su colaboración y disposición para la toma de datos y compartir sus conocimientos.

A los investigadores líderes del proyecto y directores de tesis la profesora Sandra Gómez y el profesor Joaquín Guillermo por su confianza, dedicación y compromiso, enfocado en mi aprendizaje y cumplimiento de los objetivos propuestos.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia por su contribución intelectual y personal, para mi formación profesional.

Al laboratorio de microbiología agrícola de la corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia C.I Tibaitatá por proporcionar el aislado de *V. albo-atrum* utilizado en este estudio.

A William León por su apoyo y compañerismo durante esta investigación.

Resumen

Título: Análisis epidemiológico de la marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.).

La marchitez temprana (MT) de la papa (*Solanum tuberosum* L.) causada por especies de *Verticillium* es una enfermedad limitante que genera pérdidas en producción entre el 10 y 50% a nivel mundial. A pesar de su importancia, información sobre el agente causal y epidemiología no se encuentran bien documentados en Colombia, limitando el establecimiento de herramientas de manejo. El objetivo fue determinar las dinámicas espacio-temporales y el impacto de la MT de la papa asociada a *Verticillium* a escala micro (lote) y meso (regional) en Cundinamarca, Colombia. Para ello, se colectó material vegetal para el aislamiento y se recopiló información edafoclimática y del sistema productivo a nivel regional. A escala micro se hizo seguimiento de la incidencia y severidad de la MT y al final del ciclo se cosecharon los tubérculos y se evaluaron los parámetros de rendimiento y calidad. A nivel temporal se realizó el análisis del desarrollo de la curva de progreso de la enfermedad evaluando modelos temporales y a nivel espacial se implementaron análisis de patrones puntuales y geoestadística. Como resultado, se identificaron cinco morfotipos de *Verticillium* spp. como agente causal. La MT estuvo presente en todas en las provincias evaluadas con prevalencia del 28.6% para Cundinamarca y se encontró asociada a factores epidemiológicos como movimiento de suelo por maquinaria y ciclos continuos de siembra. Los análisis espacio-temporales indicaron que la MT presentó patrones espaciales agregados o aleatorios y el modelo logístico fue el que mejor representó la curva de progreso. La enfermedad redujo la producción por planta entre el 24 y 46% en peso, afectando la cantidad de tubérculos en las categorías gruesas. Nuestro trabajo indica que el patógeno se encuentra establecido en el suelo, bajo las condiciones del sistema productivo en Cundinamarca y que podría ser un limitante para la producción del cultivo de papa.

Palabras clave: diagnostico, reducción de calidad, patrones espaciales, marchitamiento, patógenos de suelo.

Abstract

Title: Epidemiological analysis of potato early dying (PED) caused by *Verticillium* sp. in potato (*Solanum tuberosum* L.).

Potato early dying (PED) caused by species of the genus *Verticillium* is a limiting disease that results in losses between 10 and 50% globally. Despite its significance, information of the causal agent, epidemiology, and disease status in Colombia is not well documented, hampering management tools. The main objective of this research was to determine the spatial-temporal dynamics and the impact of EM associated with *Verticillium* at micro and meso-scales in the department of Cundinamarca, Colombia. To achieve this, plant material was collected for the isolation and characterization of the causal agent. Edaphoclimatic information and regional production system data were compiled. The incidence and severity of EM were monitored at the plot level, and at the end of the crop cycle, tubers were harvested to assess yield and quality parameters. Classic temporal models of the disease progress curve were evaluated, and at the spatial level, point pattern analysis and geostatistics were implemented. As a result, *Verticillium* spp. was identified as the causal agent, and five pathogen morphotypes were found. EM had a prevalence of 28.6% in Cundinamarca, with presence in all evaluated provinces, and it was associated with regional epidemiological parameters such as soil movement by machinery and continuous planting cycles. The spatial-temporal analyses indicated that EM exhibited a spatial pattern of aggregation or randomness, and the disease progress curve was best represented by the logistic model. The production per-plant was reduced by 24 to 46% in weight due to the disease, affecting the quantity of tubers in the zero and first quality categories. Our work suggests that the pathogen is established within the conditions of the production system in Cundinamarca and could be a limiting factor for potato crop production.

Keywords: Diagnosis, Quality reduction, Spatial patterns, Verticillium Wilt, Soil pathogen.

Contenido

	Pág.
	Resumen IX
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas	XVI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	1
Organización de la tesis	2
1. Consideraciones generales	3
1.1 Introducción.....	3
1.2 Planteamiento del problema.....	5
1.3 Justificación.....	6
1.4 Hipótesis	6
1.5 Objetivos	7
1.5.1 Objetivo general.....	7
1.5.2 Objetivos específicos.....	7
2. Identificación del agente causal de la marchitez temprana de la papa y determinación de parámetros epidemiológicos a meso-escala.....	9
2.1 Materiales y métodos	13
2.1.1 Aislamiento e identificación del patógeno	13
2.1.2 Prueba de patogenicidad	16
2.1.3 Determinación de parámetros epidemiológicos regionales de la marchitez temprana de la papa	17
2.1.4 Evaluación de las variables del sistema de producción de papa y su relación con la MT	18
2.1.5 Evaluación de las variables edafoclimáticas de sistemas de producción de papa y su relación con la MT.....	19
2.1.6 Análisis de datos.....	19
2.2 Resultados	21
2.2.1 Aislamiento e identificación del patógeno	21
2.2.2 Prueba de patogenicidad	24
2.2.3 Parámetros epidemiológicos regionales asociados a MT en papa.....	26
2.3 Discusión	31
2.4 Conclusiones.....	35
2.5 Referencias.....	35

3.	Análisis espacio-temporal de la marchitez temprana causada por <i>Verticillium</i> spp. en el cultivo de papa.....	47
3.1	Materiales y métodos.....	50
3.1.1	Zona de estudio.....	50
3.1.2	Evaluación de la enfermedad en campo.....	51
3.1.3	Análisis temporal de la MT	52
3.1.4	Análisis espacial de la MT	53
3.1.5	Modelos de interpolación espacial aplicados al análisis de la MT.....	54
3.1.6	Evaluación de la producción y calidad de plantas con MT	56
3.2	Resultados.....	57
3.2.1	Dinámica temporal de la MT.....	57
3.2.2	Comportamiento espacial de la MT	61
3.2.3	Efectos sobre la producción y de calidad de plantas afectadas por marchitez temprana	66
3.3	Discusión	69
3.4	Conclusiones	74
3.5	Referencias.....	74
4.	Discusión general	81
4.1	Conclusiones y recomendaciones generales	84
4.1.1	Conclusiones generales	84
4.1.2	Recomendaciones generales	85
4.2	Referencias.....	86

Lista de figuras

	Pág.
Figura 2-1. Mapas de A. Municipios en donde se tomaron muestras de plantas de papa con síntomas de marchitez temprana para aislamiento en laboratorio y B. Distribución de lotes comerciales de papa evaluados para determinar la prevalencia de la marchitez temprana en seis provincias de Cundinamarca.	14
Figura 2-2. Síntomas de marchitez temprana de la papa causada por <i>Verticillium</i> spp. en lotes comerciales de la variedad Diacol Capiro en Cundinamarca. A. Síntomas iniciales con decoloración de hojas bajas y clorosis intervenal, B. Clorosis intervenal y necrosis de la lámina foliar, C. y D. Necrosis y clorosis foliar en la mayoría de las hojas de las plantas.	22
Figura 2-3. Estructuras microscópicas observadas en aislamientos en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) 15 días después de la siembra incubados a 20°C en oscuridad obtenidos a partir de plantas de papa con síntomas de marchitez temprana. A. Conidióforos verticilados, B. Conidióforos verticilados con la base melanizada, C. Micelio melanizado, D. Microesclerocios. Barra de escala: 50 µm.	23
Figura 2-4. Análisis filogenético de las secuencias de la región ITS y BtuB de aislamientos de <i>Verticillium</i> obtenidos en lotes comerciales de papa en Cundinamarca. M1: Mosquera, F1: Funza y S1: Subachoque.....	24
Figura 2-5. Prueba de patogenicidad en plantas de papa var. Diacol Capiro de dos de los morfotipos de <i>Verticillium</i> spp. más frecuentes y del aislamiento de <i>V. albo-atrum</i> de referencia proveniente de la colección del laboratorio de microbiología agrícola de la Corporación Colombiana de Investigación - Agrosavia C.I Tibaitatá inoculados por drench a los 49 dds.	26
Figura 2-6. Marchitez temprana de la papa causada por <i>Verticillium</i> spp. en cultivos comerciales en Cundinamarca. A. Valores de prevalencia por provincia, B. Valores de incidencia por provincia y C. Porcentaje de casos positivos por variedad y D. Densidad de kernel (n = 105).	27
Figura 2-7. Distribución de factores obtenidos del análisis factorial de datos mixtos (FAMD) que muestran el patrón de distribución que maximiza la varianza de los datos. A. Contribución de las variables cuantitativas. B. Contribución de las variables cualitativas y C. Distribución de los lotes en sanos – enfermos respecto a las variables cualitativas. Tmax: temperatura máxima, Tmin: temperatura mínima, Tmed: temperatura media, CEC: capacidad de intercambio catiónico, D_aparente: densidad aparente, C_carbon: contenido de carbono orgánico, N: nitrógeno, Frag_gruesos: fracción volumétrica de fragmentos gruesos, Dueño: dueño de la maquinaria, Contratada: maquinaria contratada,	

Uno, Dos y Tres: número de ciclos continuos de siembra, Propio: tenencia de la tierra propia, Sociedad: tenencia de la tierra en sociedad, Arrendado: tenencia de la tierra arrendada, Enf: enfermo, San: sano, Si y No: lavado de la maquinaria, Certif: semilla certificada, Agric: semilla de agricultor conocido, S_ propio: semilla obtenida de los propios lotes.29

Figura 2-8. Valor de importancia de las variables respecto a la presencia-ausencia de plantas con síntomas de marchitez temprana de la papa en lotes comerciales en Cundinamarca. **A.** Disminución media de la precisión y **B.** Disminución media del coeficiente de Gini. Proced_sm: procedencia de la semilla, Tmed: temperatura media, Frag_gruesos: fracción volumétrica de fragmentos gruesos del suelo, Limpieza: limpieza de la maquinaria, Tenencia: tipo de tenencia de la tierra, Maquinaria: tipo de tenencia de la maquinaria, Ciclos: ciclos continuos de siembra.31

Figura 3-1. Dinámica temporal de variables de intensidad de marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* spp. en lotes de producción comercial de papa var. Diacol Capiro en Cundinamarca. **A.** Curvas de progreso de la incidencia, **B.** Curvas de progreso de la severidad, **C.** Índice de severidad determinado a partir de valores absolutos de la escala a los 110 dds, y **D.** AUDPC. F: Funza, M: Mosquera, S: Subachoque y Z: Zipaquirá.....58

Figura 3-2. Ajuste de modelos matemáticos a las curvas de progreso de la marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* en **A.** Mosquera, **B.** Funza, **C.** Zipaquirá_20, **D.** Zipaquirá_21, **E.** Subachoque_1, **F.** Subachoque_2, **G.** Subachoque_3.60

Figura 3-3. Ajuste de modelos matemáticos a las curvas de progreso de la enfermedad causada por *Verticillium* en lotes comerciales de papa. **A.** Modelos logísticos y **B.** Modelo exponencial (Subachoque_1) y monomolecular (Zipaquirá_20 y Zipaquirá_21). Los símbolos representan la incidencia observada y las líneas la incidencia predicha por el modelo.....61

Figura 3-4. Índices espaciales SADIE (red-blue plots) para **A.** Mosquera 91 dds y **B.** 98 dds, **C.** Funza 91 dds y **D.** 99 dds, **E.** Zipaquirá_20 97 dds y **F.** 104 dds, **G.** Zipaquirá_21 98 dds y **H.** 105 dds, **I.** Subachoque_1 97 dds y **J.** 104 dds, **K.** Subachoque_2 dds 101 y **L.** 107 dds, **M.** Subachoque_3 100 dds y **N.** 108 dds.....63

Figura 3-5. Mapas de distribución de la marchitez temprana de la papa en lotes comerciales (kriging indicador) para **A.** Mosquera 91 dds y **B.** 98 dds, **C.** Funza 91 dds y **D.** 99 dds, **E.** Zipaquirá_20 97 dds y **F.** 104 dds, **G.** Zipaquirá_21 98 dds y **H.** 105 dds, **I.** Subachoque_1 97 dds y **J.** 104 dds, **K.** Subachoque_2 101 dds y **L.** 107 dds, **M.** Subachoque_3 100 dds y **N.** 108 dds.65

Figura 3-6. Número y peso de tubérculos cosechados por planta sana o con síntomas de marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en lotes comerciales de papa var. Diacol Capiro. **A** y **B.** Mosquera, **C** y **D.** Funza, **E** y **F.** Zipaquirá_20, **G** y **H.** Subachoque_2, **I** y **J.** Subachoque_3.....67

Figura 3-7. Número y peso total de tubérculos cosechados por planta sana o afectada según el nivel de severidad de marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en lotes comerciales de papa var. Diacol Capiro a los 110 dds. **A.** y **B.** Severidad baja (niveles 1 y 2), **C.** y **D.** Severidad alta (niveles 3 y 4). F: Funza, M: Mosquera, S: Subachoque y Z: Zipaquirá.....68

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1. Origen de las muestras recolectadas para el aislamiento de <i>Verticillium</i> en medio de cultivo PDA y láminas de agua a partir de plantas de papa con síntomas asociados a la marchitez temprana provenientes de cultivos comerciales en Cundinamarca.....	15
Tabla 2-2. Estimación de parámetros en un GLM con función de ligamiento tipo Poisson de las prácticas de manejo y los efectos de las variables edafoclimáticas en la incidencia de la marchitez temprana de la papa (MT) causada por <i>Verticillium</i>	30
Tabla 3-1. Ajuste de las curvas de progreso de la incidencia de la marchitez temprana de la papa en lotes comerciales a modelos matemáticos temporales de crecimiento.	59
Tabla 3-2. Estadísticos del patrón espacial basados en cuadrantes y distancias de la incidencia de la marchitez temprana de la papa causada por <i>Verticillium</i> en tres lotes de producción comercial en Cundinamarca. Chi-Q, Z-test, Binom (binomial), Beta_B (beta binomial) y P_a son significativos cuando $<0,05$	62
Tabla 3-3. Modelos geoestadísticos de ajuste espacial y parámetros de los semivariogramas empíricos relacionados con la incidencia de plantas con síntomas de marchitez temprana de la papa causada por <i>Verticillium</i> spp. en lotes de producción comercial en Cundinamarca.....	64
Tabla 3-4. Estimación de las pérdidas por MT de la papa causada por <i>Verticillium</i> spp. en lotes de producción comercial en Cundinamarca en la variedad Diacol Capiro. Los datos de incidencia, severidad y rango del semivariograma se tomaron a los 110 dds.....	69

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
RF	Random Forest
FAMD	Análisis Factorial de Datos Mixtos
GLM	Modelo Lineal Generalizado
MT	Marchitez Temprana
CEC	Capacidad de intercambio catiónico del suelo
ADE	Agua destilada estéril
PDA	Agar Papa Dextrosa
CC	coeficiente de correlación de concordancia de Lin
RSE	Error Cuadrático Medio

Organización de la tesis

Según la normatividad de la Universidad Nacional de Colombia, el formato propuesto por SINAB y según el acuerdo 002 de 2022 del Consejo de la Facultad de Ciencias Agrarias para la presentación de tesis, el documento final se puede organizar como capítulos, en los cuales se presentan los resultados en formato de artículo científico. En este caso, los capítulos incluyen las secciones: introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, seguidos de la lista de referencias. Este trabajo de investigación se encuentra organizado en cuatro capítulos, los cuales tienen el siguiente contenido:

El capítulo uno corresponde a una revisión de las temáticas contempladas en el proceso de investigación, desarrollado en una introducción general y se incluye la justificación, planteamiento del problema, objetivos e hipótesis del trabajo. El segundo capítulo se enfoca en la determinación del agente causal de la marchitez temprana de la papa y la determinación de parámetros epidemiológicos a mesoescala, específicamente en la región de Cundinamarca. El tercer capítulo se relaciona con un análisis espacio-temporal a microescala utilizando el lote como unidad espacial y todo el ciclo de producción como unidad temporal. Este análisis fue complementado con la relación de parámetros epidemiológicos en los lotes con el efecto de la enfermedad sobre el rendimiento y calidad del cultivo. Por último, el cuarto capítulo presenta la discusión general de los resultados obtenidos destacando los aportes de la investigación realizada.

1. Consideraciones generales

1.1 Introducción

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta herbácea de la familia Solanaceae que ocupa el cuarto lugar entre los cultivos alimenticios básicos del mundo después del trigo, arroz y maíz (Li y Yang, 2016; Çalışkan et al., 2023). China e India representan cerca de un tercio de la producción mundial de papa y, desde 2009 la producción de China ha superado a todas las naciones (Jia et al., 2011; Çalışkan et al., 2023). En Suramérica el país que más siembra y produce papa es Perú, mientras que Colombia ocupa el tercer lugar con alrededor de 187.000 ha y 4.000.000 ton por año (Ñústez et al., 2020). En Colombia la producción comercial se realiza altitudes entre los 2000 y 3500 msnm en los departamentos de Nariño, Cauca, Antioquia, Santanderes, Boyacá y Cundinamarca, donde estos dos últimos aportan el 63% de la producción anual (Ñústez et al., 2020). En Cundinamarca los municipios de Villapinzón, Tausa, Zipaquirá y Sesquilé representan el 46% de la producción anual del departamento (Agronet, 2021). La producción de papa en Colombia es realizada por pequeños productores que siembran hasta tres hectáreas; estos representan el 90% del total de productores y aportan el 45% de la producción de papa (Ñústez et al., 2020). Estos sistemas productivos realizan sus prácticas y manejos con base en el conocimiento empírico o tradicional (IICA, 1999).

En Colombia el cultivo de papa enfrenta diversos problemas fitosanitarios que afectan su desarrollo y generan bajos rendimientos (García et al., 2020). Dentro de estos, se destaca el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), sarna polvosa y camanduleo (*Spongospora subterranea*), Rizoctoniasis y costra negra (*Rhizoctonia solani*) (Ñústez et al., 2020; Betancourth et al., 2020) y en la actualidad la marchitez temprana (MT) causada por *Verticillium* spp. (Gómez y Mendoza, 2020), y otros hongos fitopatógenos del suelo pertenecientes al filo Ascomycota (Pegg y Brady, 2002). La MT es una enfermedad de gran importancia económica a nivel mundial debido a su impacto directo en el rendimiento, la

calidad y los costos asociados a su manejo (Rowe y Powelson, 2002). En el cultivo de papa ocasiona clorosis y necrosis de la lámina foliar, así como marchitamiento generalizado y senescencia prematura de la planta en la etapa de llenado del tubérculo, es decir, 3 o 4 semanas antes de llegar el periodo de marchitez (Steere y Kirk, 2015). Esta enfermedad provoca pérdidas significativas en la producción, estimadas entre el 30% y el 50% (Dung et al., 2012; Johnson y Dung, 2010; Rowe y Powelson, 2002).

Los principales agentes causales de la MT en papa son *Verticillium dahliae* Kleb. y *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, los cuales tienen una distribución amplia en todas las regiones productoras de papa en el mundo (Johnson y Dung, 2010). *V. dahliae* tiene un amplio rango de hospederos con más de 200 especies de plantas entre las que se destacan algodón, lechuga, tomate, fresa, pimentón y girasol, y puede sobrevivir en el suelo por largos periodos de tiempo en condiciones no favorables mediante estructuras de resistencia llamadas microesclerocios (Inderbitzin et al., 2011, Klosterman et al., 2009). Por su parte, *V. albo-atrum* se caracteriza por tener un rango más estrecho de hospederos con alrededor de 60 especies vegetales comerciales como algunos frutales, solanáceas, espinaca y lúpulo, de igual forma puede producir estructuras de resistencia llamadas micelio melanizado que le permiten sobrevivir en ausencia de plantas hospederas (Jing et al., 2018; Inderbitzin et al., 2011).

Para establecer e implementar estrategias de manejo integrado de la MT es necesario realizar el correcto diagnóstico del agente causal, reconocer los síntomas de la enfermedad, conocer los factores conducentes para su desarrollo y sus parámetros epidemiológicos (Dung et al., 2020). En años recientes con la implementación de herramientas moleculares se ha caracterizado el género *Verticillium*, identificando nuevas especies que se han asociado con la MT en papa como *V. nonalfalae* y *V. tricorpus* (Jing et al., 2018). Sin embargo, la información del agente causal de la MT en el contexto productivo de Colombia no ha sido actualizada. La falta de conocimiento sobre el correcto diagnóstico del agente causal y reconocimiento de la enfermedad limita la capacidad de los agricultores y profesionales del sector para identificar y abordar eficazmente su manejo. Además, los factores conducentes que favorecen el desarrollo y diseminación de *Verticillium* en el cultivo de papa aún no han sido adecuadamente investigados en el contexto colombiano. Estos parámetros son fundamentales para comprender la dinámica

de la enfermedad, su dispersión y el impacto potencial en el rendimiento y calidad del cultivo.

El uso de modelos epidemiológicos es un apoyo para el análisis de las variables de cuantificación de una enfermedad como incidencia y severidad. Este tipo de modelos se utilizan para analizar la dinámica de la enfermedad, lo cual a su vez facilita el establecimiento de las herramientas de gestión integrada en los programas de manejo de plagas (MIP). Es así como la implementación de métodos de análisis multivariado, aprendizaje automático y el modelado espacio-temporal han contribuido a una comprensión amplia de la dinámica de las enfermedades, conduciendo al establecimiento de estrategias de manejo enfocadas en aspectos biológicos, genéticos y evolutivos tanto del hospedero como de los patógenos (Ojiambo et al., 2017). Dentro de estos, se destacan estudios realizados en enfermedades ocasionadas por patógenos de suelo, como lo reportado por Jabnoun-Khiareddine et al., (2007), quienes caracterizaron la distribución espacial de *V. dahliae* en el cultivo de tomate en Túnez, estableciendo el riesgo de la enfermedad y estrategias de manejo; así como Wei et al., (2015) que describieron el comportamiento espacio-temporal de plantas de algodón con síntomas de marchitamiento por *Verticillium*. Sin embargo, en la revisión realizada sobre el patosistema *Verticillium*-papa bajo las condiciones de Colombia, no se encontraron trabajos relacionados.

1.2 Planteamiento del problema

En Colombia, el cultivo de papa es uno de los sistemas de producción agrícola de mayor importancia debido a que genera alrededor de 300.000 empleos y a su vez constituye un alimento de consumo frecuente con cerca de 42 kg *per cápita*. Sin embargo, en conformidad con reportes recientes su producción se ha visto limitada por la enfermedad MT causada por *Verticillium* spp. Patógenos de suelo que forman estructuras de resistencia que pueden permanecer viables por largos periodos (entre 10 a 15 años) en ausencia de la planta hospedera (Jonhson y Dung, 2010). Las especies de *Verticillium* se pueden diseminar a través de material vegetal contaminado, suelo infectado o herramientas; factores de riesgo que han llevado a la dispersión e incremento del inóculo en las zonas afectadas. El reconocimiento en campo de la enfermedad se dificulta por el momento de aparición de los síntomas, que se pueden confundir con una marchitez fisiológica de las plantas. Debido a la MT de la papa, el rendimiento y la producción del cultivo se han visto afectados, causando pérdidas entre el 30 y 50% (Dung et al., 2012). En la actualidad, los

productores no cuentan con información vigente sobre esta enfermedad, particularmente aquella relacionada con su reconocimiento en campo, parámetros epidemiológicos, distribución en las áreas de producción e impacto de la enfermedad en los componentes de rendimiento del cultivo.

1.3 Justificación

En ciclos recientes del cultivo en algunas zonas productoras de Colombia, la producción de papa se ha visto afectada por la MT, la cual no había sido reportada como limitante hasta el momento. En inspecciones realizadas en cultivos de Cundinamarca, se ha identificado la presencia de MT por *Verticillium*, con alta incidencia y crecimiento acelerado de los focos, causando reducciones del rendimiento de las plantas afectadas entre 80 y 84% y disminución notable de categorías cero y gruesa del tubérculo (Ramirez-Gil et al., 2019; Fedepapa, 2021). El diagnóstico erróneo e inoportuno de una enfermedad conduce a manejos inadecuados, por lo cual la identificación y la información sobre el comportamiento de las epidemias y su distribución a nivel regional favorece la toma de decisiones. Contar con información detallada sobre la dinámica espacio-temporal del patógeno, permite también comprender su posible diseminación y adoptar medidas de control a nivel de lote. Con este estudio se facilitará la posibilidad de comprender el impacto de la MT en la producción del cultivo, información de alta importancia para preservar la rentabilidad del cultivo. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, se plantea la necesidad de caracterizar la MT de la papa, adelantar estudios en diagnóstico y epidemiología que permitan contar con información para mitigar su efecto en los cultivos.

1.4 Hipótesis

Con base en los análisis de literatura existente, los pocos estudios asociados a la MT en papa en Colombia y la importancia creciente de esta enfermedad en las zonas productoras, nuestras hipótesis de trabajo fueron:

- La MT del cultivo de papa en Cundinamarca es ocasionada por diferentes especies del género *Verticillium*, con variaciones en su prevalencia bajo condiciones de cultivos comerciales.

- Existen parámetros epidemiológicos a escala regional, como la temperatura y la procedencia de la semilla, que inciden en la presencia de la MT en zonas productoras de papa en Cundinamarca.
- La MT de la papa presenta una distribución agregada con dependencia espacial, dando lugar a la generación de focos que aumentan su tamaño en el tiempo.
- La distribución espacial y temporal de la MT a escala local está altamente influenciada por características específicas de cada lote.
- La MT de la papa en Cundinamarca presenta un alto impacto sobre el rendimiento y calidad del cultivo relacionado con menor número y tamaño de tubérculos en los sistemas comerciales.

1.5 Objetivos

En función de las hipótesis planteadas y la necesidad de profundizar en el conocimiento de la epidemiología de la MT de la papa en Cundinamarca y dados los brotes epidémicos recientes de esta enfermedad y su potencial impacto en el rendimiento y calidad del cultivo, los objetivos planteados en esta investigación fueron:

1.5.1 Objetivo general

Determinar el agente causal y las dinámicas espacio-temporales de la MT de la papa a micro y meso escala en Cundinamarca.

1.5.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar el agente causal de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca.
- ✓ Determinar parámetros epidemiológicos a nivel regional (mesoescala) de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca.
- ✓ Analizar el comportamiento espacio-temporal a nivel de lote (microescala) de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca.
- ✓ Determinar el impacto de la MT de papa sobre parámetros de rendimiento y calidad del cultivo y su efecto en la producción comercial en Cundinamarca.

El primer y segundo objetivo específico se desarrollan en el segundo capítulo y el tercer y cuarto objetivo se abordarán en el tercer capítulo de este documento.

2. Identificación del agente causal de la marchitez temprana de la papa y determinación de parámetros epidemiológicos a meso-escala

Resumen

La marchitez temprana (MT) es una enfermedad del cultivo de papa, la cual genera pérdidas económicas importantes para el sector. El correcto diagnóstico y el conocimiento de la distribución de la enfermedad, así como de parámetros epidemiológicos regionales puede considerarse la base para implementar estrategias de manejo. Este estudio tuvo como objetivos: (i) identificar el agente causal de la MT de la papa, y (ii) determinar parámetros epidemiológicos a meso escala (regional) de la MT en zonas productoras de Cundinamarca. Se realizaron evaluaciones en cultivos comerciales de siete provincias de Cundinamarca y se recolectaron plantas afectadas para el aislamiento del patógeno. Se determinó la prevalencia de la enfermedad en Cundinamarca y por provincia durante el segundo semestre de 2020. Con la ubicación de cada lote, se extrajeron los valores de variables de clima de Chelsa y de variables de suelo de SoilGrids. Igualmente, se realizó una encuesta a los productores sobre el manejo del cultivo con énfasis en parámetros asociados a MT y se evaluó su relación a partir de métodos multivariados. Los resultados indican que el causante de la MT de la papa es *Verticillium* spp. La enfermedad se encontró en todas las provincias evaluadas, con un nivel de incidencia variable entre lotes. Variables edafoclimáticas como contenido de arena, temperatura media y precipitación y prácticas de manejo como la siembra de ciclos continuos de papa y el uso de maquinaria sin limpiar se relacionaron con la presencia e incidencia de la enfermedad a nivel regional. El diagnóstico oportuno y preciso, sumado con un entendimiento de los parámetros epidemiológicos regionales de la enfermedad encontrados pueden aportar elementos para mejorar el manejo de la MT.

Palabras clave: *Verticillium* spp., *Solanum tuberosum*, prevalencia, diagnóstico, patrón espacial regional.

Introducción

El marchitamiento causado por *Verticillium* o marchitez temprana (MT) es una enfermedad de importancia económica por las pérdidas que causa en rendimiento y calidad en todas las regiones productoras de papa del mundo (Rowe y Powelson, 2002; Molina, 2016). La enfermedad es causada por el patógeno del suelo *Verticillium* spp., y se ha reportado causando pérdidas entre el 30 y 50% en rendimiento y disminución de la calidad de los tubérculos (Berlanger y Powelson, 2000). Este patógeno coloniza los elementos del xilema, provocando un taponamiento vascular en la planta que reduce la toma de agua y nutrientes, generando una disminución de la tasa de fotosíntesis y la muerte prematura del follaje (Johnson y Dung, 2010). El patógeno ha desarrollado diferentes mecanismos como la producción de enzimas que degradan la pared celular, la activación de genes de virulencia y efectores proteicos para lograr su infección, provocando un desequilibrio hídrico (Palanga et al., 2021; Zhang et al., 2022). De esta forma, los primeros síntomas aparecen como clorosis y necrosis en las hojas de la parte baja de la planta y en días cálidos las hojas pueden perder turgencia y presentan flacidez (Berlanger y Powelson, 2000). Cuando los síntomas avanzan, se presenta decoloración del tejido vascular en los tallos, lo que también puede presentarse en los tubérculos (Johnson y Dung, 2010).

Verticillium dahliae Kleb. y *V. albo-atrum* Reinke & Berthold habían sido considerados los agentes causales de la marchitez temprana de la papa (Fradin y Thomma, 2006; Johnson y Dung, 2010). Sin embargo, en estudios recientes sobre la taxonomía del género *Verticillium* se ha demostrado que *V. albo-atrum* y *V. dahliae* no son los únicos agentes causales de la enfermedad en papa (Inderbitzin et al., 2011; Jing et al., 2018). De otra parte, algunos de los morfotipos reportados previamente en literatura como *V. albo-atrum* se reclasifican actualmente como *V. nonalfalfae* (Jing et al., 2018). Estas especies se caracterizan por tener un limitado rango de hospederos y sobrevivir en el suelo a partir de micelio melanizado (Johnson y Dung, 2010). El marchitamiento causado por *V. albo-atrum* y *V. nonalfalfae* en cultivos de papa se ha reportado en regiones frías en donde la temperatura promedio no excede los 21°C (Jing et al., 2018; Powelson y Rowe, 2008; Rowe et al., 1987). Por su parte, *V. tricorpus*, *V. nigrescens* (sinonimia *Gibellulopsis*

nigrescens), *V. isaacii* y *V. nubilum* son especies fitopatógenas que pueden infectar plantas de papa, pero son considerados de baja virulencia o saprofitos (Wheeler y Johnson, 2019; Li et al., 2019; Barbara y Clewes 2003; Pegg y Brady 2002). Por el contrario, *V. dahliae* genera marchitamiento vascular en más de 200 especies de plantas en el mundo (Johnson y Dung, 2010; Pegg y Brady, 2002) y puede sobrevivir en el suelo como microesclerocios por 10 años o más. En el cultivo de papa, *V. dahliae* predomina en zonas donde la temperatura diaria promedio en verano supera los 27°C (Johnson y Dung, 2010).

Entre los factores más importantes para la diseminación a largas distancias de *Verticillium* spp. se han considerado el movimiento de los tubérculos semilla y el suelo (Berlanger y Powelson, 2000; Johnson y Dung, 2010). El movimiento del inóculo en los tubérculos se ha demostrado por la presencia del patógeno en el tejido vascular del tubérculo o por las estructuras de resistencia como microesclerocios y micelio melanizado en su superficie (Krikun y Orion, 1979; Dung y Johnson, 2012). De igual forma, el movimiento de suelo contaminado con propágulos del patógeno se ha relacionado con el movimiento de la enfermedad hacia lotes sanos (Krikun y Orion, 1979). Estas características del patógeno pueden generar una distribución amplia de la enfermedad en zonas productivas de papa. Sin embargo, a pesar de la importancia del cultivo, por corresponder a uno de los principales productos para el sector agrícola en Colombia, la presencia y distribución de esta enfermedad en las zonas productoras no ha sido completamente abordado.

La interacción planta-patógeno está influenciada por factores edafoclimáticos, características del paisaje y la composición poblacional de plantas y microorganismos. Las condiciones fisicoquímicas y biológicas del suelo se relacionan con la distribución espacial de los microorganismos, permitiendo su supervivencia y capacidad de crecimiento o colonización de la rizosfera (Otten y Gilligan, 2006). Por ser un patógeno de suelo la distribución y supervivencia de *Verticillium* depende de factores como el tipo de suelo, humedad, pH y temperatura, entre otras (Kowalska, 2021). Adicionalmente, los patrones espaciales y temporales de la enfermedad y del inóculo pueden ser alterados por variables climáticas (Moore y Borer, 2012; Ostfeld et al., 2005), las cuales pueden variar también en conformidad con la topografía del paisaje (Smith et al. 2003). El estudio y la caracterización de estas variables ha permitido la identificación y comprensión de la dispersión de epidemias a nivel regional en otros patosistemas como *Verticillium*-olivo (Requena-Mullor et al., 2020). Sin embargo, para MT en condiciones del trópico, las variables

edafoclimáticas y su relación con la enfermedad no han sido estudiadas a profundidad, dando lugar a un rezago en el conocimiento.

La epidemiología vegetal se ha desarrollado como una ciencia cuantitativa con los objetivos de describir, comprender y predecir epidemias, e intervenir para mitigar sus consecuencias en las poblaciones de plantas (Milgroom y Peever, 2007; Madden et al., 2017; Jeger, 2020). Para el estudio de las epidemias se han implementado múltiples análisis a diferentes escalas, las cuales parten del uso y estimación de parámetros como la prevalencia para su monitoreo a nivel regional, curvas de progreso e índices de enfermedad a nivel de finca o lote y la incidencia y la severidad a nivel de planta (Madden et al., 2017). La prevalencia entendida como la proporción o número de lotes con plantas enfermas (Madden et al., 2017) y su localización, ha permitido representar la distribución geográfica de fitopatógenos y a partir del uso de herramientas de análisis multivariado, conocer su relación con condiciones edafoclimáticas y prácticas de manejo en el cultivo como el movimiento de suelo, semilla, material vegetal, maquinaria, entre otros (Netto y Nutter, 2005; Nutter 2007; Ji et al., 2022). El conocimiento epidemiológico permite la implementación de estrategias de manejo integrado sostenibles que evitan la dispersión, el incremento e impacto económico de la enfermedad (Madden et al., 2017).

En Colombia las especies *V. albo-atrum* y *V. dahliae* han sido reportadas causando marchitez o maduración temprana en zonas productoras de papa (Nieto, 1988). Si bien se reconoce la importancia de esta enfermedad, en el país los últimos estudios fueron realizados en la década de los noventa (Nieto, 1988; Benavides et al., 1991). En estos se evaluó la relación entre *V. albo-atrum* y el nematodo *Globodera pallida* en las pérdidas, incidencia y severidad de la enfermedad en el cultivo de papa (Guerrero et al., 1991; Guerrero et al., 1992; Benavides et al., 1995; aspectos de su biología, respuesta de variedades y estrategias de manejo (Nieto, 1988). En la actualidad, la MT ha cobrado importancia en las zonas productoras de papa, con reportes de pérdidas de hasta del 50% por la enfermedad (Klosterman et al., 2009; Li et al., 2019) y amplia diseminación en Colombia (Gómez y Mendoza, 2020).

El cultivo de papa requiere de información actualizada sobre el agente causal y la distribución de la MT en las zonas productoras; su relación con variables edafoclimáticas

y parámetros epidemiológicos regionales. Atendiendo a esta necesidad, esta investigación planteó como objetivos: (i) Identificar el agente causal de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca, y (ii) determinar parámetros epidemiológicos a meso escala (regional) de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Aislamiento e identificación del patógeno

Se colectaron plantas de papa con síntomas de clorosis intervenal, necrosis y marchitamiento en las hojas bajas y/o medias, típicos de marchitez temprana (Nieto, 1988; Hunter et al., 1968). Las colectas se realizaron en nueve lotes de la provincia de Sabana Occidente (Subachoque, Mosquera, Facatativá y Funza), cuatro lotes de Sabana Centro (Zipaquirá) y dos lotes de Almeidas (Chocontá) (Figura 2-1A y Tabla 2-1) para realizar aislamientos del material vegetal en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), en condiciones de laboratorio. El procedimiento se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Xiaojun et al. (2014), donde las cajas de Petri se incubaron a 20°C en oscuridad y se evaluaron a los cuatro y siete días después de siembra (dds). Una vez identificadas, se calculó la frecuencia de las colonias fúngicas obtenidas. Adicionalmente, se realizaron montajes en cajas de Petri con láminas de agua constantes en 15 explantes de 0,3 cm de ancho, tomados de la base del tallo de la planta, los cuales se desinfectaron siguiendo el protocolo según Xiaojun et al. (2014). Posteriormente, se ubicaron en cajas de Petri estériles con una lámina de 5 ml de agua destilada estéril (ADE) y se incubaron a 20°C en oscuridad por siete días. La identificación de los organismos aislados en PDA y en láminas de agua se realizó mediante caracteres macroscópicos y microscópicos (Inderbitzin et al., 2011).

Análisis epidemiológico de la marchitez temprana de la papa

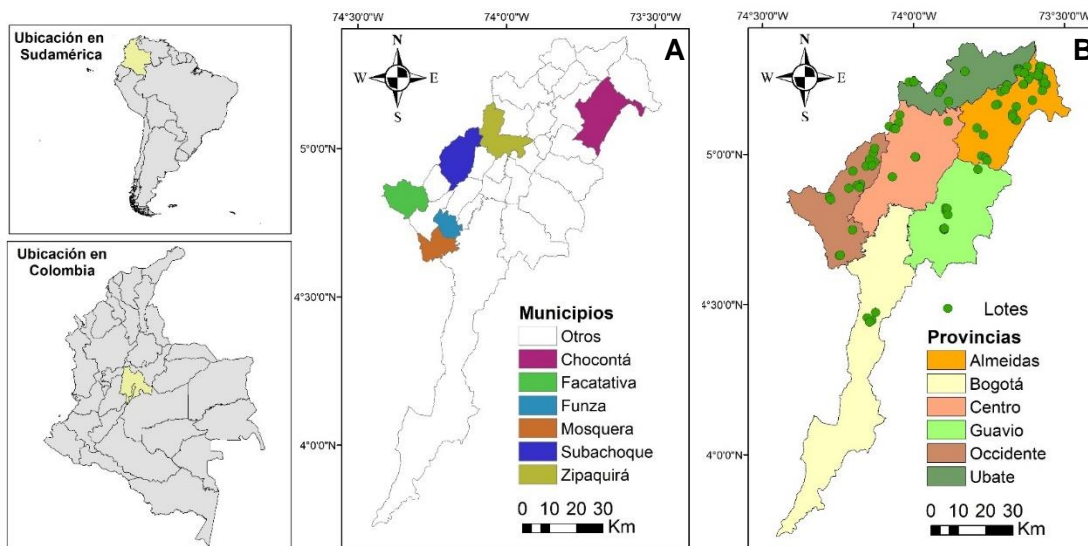


Diagrama tomado de: <https://hub.arcgis.com/documents/cundinamarca-map::mapa-provincias-2017/about> y modificado por Luis Mendoza

Figura 2-1. Mapas de **A.** Municipios en donde se tomaron muestras de plantas de papa con síntomas de marchitez temprana para aislamiento en laboratorio y **B.** Distribución de lotes comerciales de papa evaluados para determinar la prevalencia de la marchitez temprana en seis provincias de Cundinamarca.

Tabla 2-1. Procedencia de las muestras recolectadas para el aislamiento de *Verticillium* en medio de cultivo PDA y láminas de agua a partir de plantas de papa con síntomas asociados a la marchitez temprana provenientes de cultivos comerciales en Cundinamarca.

Código	Procedencia	Variedad
S1	Subachoque	Diacol Capiro
S2	Subachoque	Diacol Capiro
S3	Subachoque	Criolla
S4	Subachoque	Diacol Capiro
Z1	Zipaquirá	Diacol Capiro
Z2	Zipaquirá	Diacol Capiro
Z3	Zipaquirá	Diacol Capiro
Z4	Zipaquirá	Diacol Capiro
M1	Mosquera	Diacol Capiro
M2	Mosquera	Diacol Capiro
C1	Chocontá	Única
C2	Chocontá	Diacol Capiro
F1	Funza	Diacol Capiro
F2	Funza	Diacol Capiro
Fa1	Facatativá	Diacol Capiro

S: Subachoque; Z: Zipaquirá; M: Mosquera; C: Chocontá; F: Funza, Fa: Facatativá

Las colonias fúngicas identificadas como pertenecientes al género *Verticillium* se recuperaron en PDA y posteriormente, se purificaron para la obtención de cultivos monospóricos (Choi et al., 1999). Los aislados monospóricos obtenidos se agruparon por morfotipos de acuerdo con características macroscópicas como aspecto y color; y microscópicas dependiendo de la formación de estructuras como microesclerocios, micelio melanizado y conidióforos verticilados (Inderbitzin et al., 2011).

Para confirmar la identidad del posible agente causal, se realizó un análisis molecular de los tres morfotipos obtenidos en mayor frecuencia a partir de los aislamientos realizados y los cuales correspondieron a Funza (F1), Mosquera (M1) y Subachoque (S1). Para esto se amplificaron por PCR la región intergénica ribosomal (ITS) con los primers ITS1 e ITS4 y el marcador BtuB con los primers bt2a y bt2b (Tabla suplementaria 2-2) (Inderbitzin et al., 2011; Qin et al., 2007).

Con este fin, las colonias fueron incubadas en PDA para la extracción del micelio, el cual se molió y liofilizó en nitrógeno líquido. Posteriormente, la extracción del ADN se realizó mediante el kit FASTDNA (MP Biomedicals, Irvine, CA). La PCR se realizó usando el GoTaq Colorless Master Mix (Promega Corps., Madison, WI, EE. UU.) en un volumen de reacción de 25 μ l. El programa de amplificación consistió en la desnaturalización inicial de 2 min a 94°C, 32 ciclos de 10 s a 94°C, 20 s a la temperatura de hibridación de los primers y 1 min a 72°C, seguidos de una extensión final de 7 min a 72°C. La temperatura de hibridación fue de 49°C para la región ITS y de 57°C para la región BtuB. Los productos de la PCR fueron purificados mediante precipitación con acetato de sodio (Inderbitzin et al., 2011A). Los productos de la PCR fueron sometidas a una reacción de secuenciación SANGER mediante electroforesis capilar. Luego se utilizó el algoritmo CLASSIFIER (Wang et al., 2007; Deshpande et al., 2016) como clasificador bayesiano, usando como referencia para los alineamientos la base de datos del Ribosomal Database Project. El análisis incluyó 14 secuencias de referencia de diferentes especies de *Verticillium*.

2.1.2 Prueba de patogenicidad

El ensayo se realizó bajo las condiciones de los invernaderos de la facultad de ciencias agrarias en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Para el desarrollo de la evaluación se seleccionaron los dos morfotipos con mayor frecuencia de ocurrencia en los aislamientos realizados a partir de las plantas sintomáticas muestreadas y que fueron identificados según lo descrito anteriormente. Se seleccionaron las colonias F1 y M1 (Tabla 2-1); como aislamiento de referencia se usó una colonia de *V. albo-atrum* proveniente de plantas de papa afectadas por MT proporcionada por el laboratorio de microbiología agrícola de la corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia C.I Tibaitatá.

La multiplicación del inóculo se realizó en arroz como sustrato, siguiendo la metodología propuesta por Guerrero et al. (1992). Se tomaron frascos con 30 g de arroz y 20 ml de ADE, que fueron autoclavados durante 30 minutos a 121°C y 21 psi seguido por un secado de 20 minutos. Cada frasco fue inoculado con 1 ml de una suspensión con 1×10^7 conidias ml^{-1} de cada colonia. Posteriormente, los frascos se incubaron en oscuridad a una temperatura de 21°C por un periodo de 10 días.

Se sembraron tubérculos semilla certificados de la var. Diacol Capiro (Plantar de Colombia) en macetas plásticas de 3 kg con suelo autoclavado. En cada maceta se ubicó un tubérculo y se fertilizó al momento de la siembra con el fertilizante MFN Sir 24 (12% N, 24% P₂O₅, 12% K₂O, 10% CaO y 1,5% S) (Cambiagro®). Para la inoculación se realizó una aplicación de 50 ml en drench de una suspensión con 1×10^7 conidias ml⁻¹ de cada colonia a evaluar al momento de la siembra (Li et al., 2019). Por cada colonia se utilizaron cinco macetas como repeticiones, para un total de 20. Las plantas fueron mantenidas bajo condiciones de invernadero a una temperatura media de 18°C y humedad relativa del 80% durante tres meses y se evaluaron cada ocho días para determinar la aparición de síntomas de marchitamiento vascular (clorosis, pérdida de turgencia, epinastia y defoliación). Para confirmar la presencia del patógeno, a los 90 dds se realizaron aislamientos partir de las plantas inoculadas y el control empleando la metodología descrita anteriormente.

2.1.3 Determinación de parámetros epidemiológicos regionales de la marchitez temprana de la papa

La evaluación de la enfermedad se realizó en cultivos comerciales de papa ubicados en las provincias de Almeidas, Sabana occidente, Ubaté, Sabana Centro, Guavio y Bogotá en el departamento de Cundinamarca, donde se ha sembrado históricamente papa de acuerdo con el censo nacional del cultivo de papa 2001 (DANE, 2001) y el censo 2014 (Escobar y Peñuela, 2016). Esta región se caracteriza por presentar temperaturas promedio entre 13 a 18°C, precipitación anual acumulada de 600 a 1500 mm con distribución bimodal y una altitud entre 2000 a 3000 msnm. El estudio comprendió un total de 105 lotes distribuidos en las seis provincias (49 en Almeidas, 19 en Sabana Occidente, 14 en Ubaté, 9 en Sabana centro, 8 en Guavio y 6 en Bogotá) (Figura 2-1B). Los lotes evaluados fueron seleccionados con base en su ubicación dentro de las provincias priorizadas, edad del cultivo entre 60 a 100 días de siembra y la disponibilidad del agricultor para participar en el estudio. Las variedades evaluadas fueron Criolla Colombia, Diacol Capiro, Superior y Única y la recolección de datos se realizó durante los meses de junio a octubre del 2020.

Para determinar el nivel de enfermedad en cada lote se realizó un muestreo de tipo sistemático en zig-zag, evaluando 30 puntos ha⁻¹, con una planta como unidad de muestreo, evitando los bordes. Se registró como positivo para MT cuando se encontraron

plantas con síntomas como clorosis intervenal, necrosis y marchitamiento de hojas bajas y/o medias de forma unilateral con desarrollo acropétalo (Nieto, 1989; Hunter et al., 1968). Cada uno de los lotes evaluados fue georreferenciado con una precisión de 10 metros para lo cual se emplearon sistemas de posicionamiento global (GPS) integrados a teléfonos celulares. A estas posiciones se le asignaron los valores de incidencia calculada como la razón del número de plantas enfermas entre el total de plantas evaluadas por lote (ecuación 2-1) (Madden et al., 2017). La prevalencia para Cundinamarca y por provincia se determinó según la ecuación 2-2, tomando como lotes positivos los que presentaban plantas con síntomas de MT (Cooke 1998; Madden et al., 2017).

$$I = (dp \div tp) \quad \text{Ecuación 2-1}$$

Donde dp: número de individuos con síntomas de marchitez temprana y tp: total de individuos evaluados.

$$Pv = (dl \div tl) * 100 \quad \text{Ecuación 2-2}$$

Donde dl: número de lotes con reporte positivo para la marchitez temprana de la papa y tl: número total de lotes evaluados.

Como una aproximación al análisis espacial a escala regional y con el objetivo de evaluar la distribución de los lotes con presencia de plantas enfermas se utilizó la densidad de Kernel como método no paramétrico de análisis de entidades de puntos (Silverman, 2018; Skelsey, 2021). Para tal efecto, se usó la función Kernel cuartica descrita por Silverman, (1986) con un radio de búsqueda 5 km dada la alta concentración de la producción nacional reflejada en la cercanía de lotes comerciales (Ñústez et al., 2020). La densidad de Kernel fue implementada usando el software ArcGis versión 10,7,1 (Esri®).

2.1.4 Evaluación de las variables del sistema de producción de papa y su relación con la MT

Para caracterizar el sistema de producción de papa en Cundinamarca y evaluar la posible relación entre prácticas de manejo del cultivo y la MT, se aplicó un cuestionario con preguntas estructuradas y de respuesta cerrada dirigida a los productores de papa del área de estudio. Los objetivos y el uso de los datos de la encuesta se explicaron a los

agricultores que participaron en el estudio, previo al inicio de la captura de la información. A los encuestados se les solicitó que indicaran los años de experiencia en el cultivo, el tipo de tenencia de la tierra (arrendado, sociedad o propio), número de ciclos continuos de papa (uno, dos o tres), uso de maquinaria (si o no), tipo de tenencia de la maquinaria (dueño o contratada), limpieza de maquinaria (si o no) y procedencia de la semilla (agricultor conocido, certificada o lotes propios) y tratamiento de la semilla previo a la siembra (si o no), como variables potenciales asociadas a la diseminación y presencia de la MT (Chilipa et al., 2021).

2.1.5 Evaluación de las variables edafoclimáticas de sistemas de producción de papa y su relación con la MT

Se utilizó la ubicación de cada lote para extraer los valores de las normales climatológicas asociadas a variables de importancia epidemiológica de la MT como temperatura media, máxima y mínima y precipitación acumulada anual del grupo de datos especializado a una resolución espacial de ~ 1 km proveniente de la base de datos de libre acceso WorldClim 2,1 (Fick y Hijmans, 2017). En el intervalo de 5 a 15 cm de profundidad a nivel de suelo, se obtuvo la proporción de partículas de limo, arena y arcilla, pH, nitrógeno total, fracción volumétrica de fragmentos gruesos, capacidad de intercambio catiónico (CEC), densidad aparente y el contenido de carbono orgánico del sistema para el mapeo digital global de suelo SoilGrids (Hengl et al., 2017). Posteriormente, y con el fin de eliminar la colinealidad entre predictores se evaluó la posible autocorrelación entre las variables usando un análisis de correlación de Pearson, eliminado una de las variables con menos sentido epidemiológico que tuviera un valor $>0,8$ (Mila et al., 2003).

2.1.6 Análisis de datos

Para la evaluación de las prácticas de manejo asociadas a la enfermedad, se encuestaron 47 productores y se realizó muestreo de MT en sus lotes. Para cuantificar el efecto de las variables cuantitativas edafoclimáticas y cualitativas de la encuesta sobre MT, se utilizaron tres métodos de análisis. El primero de ellos consistió en un análisis factorial de datos mixtos (FAMD) con el objetivo de explorar los patrones de agrupación en el mapa del factor de maximización de la varianza en función de los niveles de la presencia – ausencia de la enfermedad (Bandara et al., 2020; Bertrand et al., 2007). El FAMD es un método multivariado que usa el enfoque de componentes principales para analizar un conjunto de

datos con variables cuantitativas y cualitativas (Pagès, 2004), lo cual permite analizar la similitud entre individuos teniendo en cuenta variables mixtas.

El segundo método fue un modelo lineal generalizado (GLM) utilizando como respuesta el porcentaje de incidencia de la enfermedad por lote y asumiendo que los datos siguen una distribución de Poisson (implementando la función de ligamiento 'log'). Se utilizó el procedimiento *stepwise* para evaluar la relación entre las variables independientes y dependientes, y partiendo de un modelo con todas las variables se eliminaron secuencialmente los predictores que no estaban significativamente asociados con la variable respuesta (incidencia de MT) (Neter y Wasserman, 1974; Mila et al., 2003). Los criterios para evaluar el modelo fueron el coeficiente de determinación (r^2) y el valor P. Los predictores evaluados fueron significativos con valores $p < 0,05$ (Neter y Wasserman, 1974).

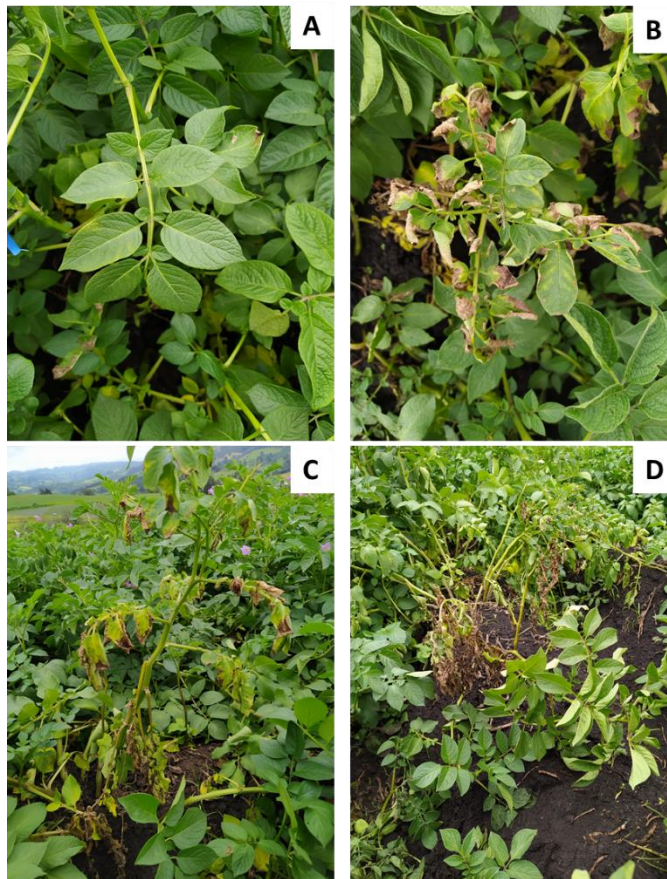
Por último, se implementó un enfoque de *Machine Learning* usando el algoritmo Random Forest (RF) para identificar los principales predictores de la presencia de MT en los lotes de acuerdo con lo descrito por Delgado-Baquerizo et al. (2015). Para esto se usó el paquete "randomForest" implementado en el software de uso libre R versión 4,2,1 (<http://cran.rproject.org/>). La evaluación estadística de la importancia de los predictores sobre la presencia-ausencia de MT se analizó utilizando el paquete rfPermute en r (Zhao et al., 2019). Para esto se obtuvo la disminución media del coeficiente de Gini, que es una medida de la contribución de cada variable a la homogeneidad de los nodos en el RF (Martinez-Taboada et al., 2020). Adicionalmente, se calculó la disminución media de la precisión, que expresa cuanta precisión pierde el modelo al excluir cada variable, por lo que cuanto más se afecta la precisión, más importante es la variable para una clasificación exitosa (Martinez-Taboada et al., 2020). Para el análisis se utilizaron como variables cualitativas las respuestas de la encuesta para las preguntas: tipo de tenencia del lote, número de ciclos continuos de papa, tipo de tenencia de la maquinaria, limpieza de maquinaria y procedencia de la semilla. Como variables cuantitativas se usaron los datos de clima y suelo obtenidos previamente. Los casos usados correspondieron a aquellos para los cuales el productor respondió la encuesta y se realizó el muestreo en campo.

Los cuestionarios fueron procesados, depurados y analizados utilizando Microsoft Excel mediante estadística descriptiva (Chilipa et al., 2021). Se utilizaron los paquetes FactoMineR y factoextra para el análisis y visualización de datos en R (versión 4.2.1).

2.2 Resultados

2.2.1 Aislamiento e identificación del patógeno

Las plantas de papa evaluadas en los lotes presentaron síntomas como clorosis intervenal, necrosis del borde de la lámina foliar, marchitamiento unilateral a nivel de hoja y de tallo en el tercio bajo y medio de la planta, hojas necróticas secas adheridas al tallo y marchitamiento en más del 50% del follaje (Figura 2-2). Estos síntomas se presentaban en uno o varios tallos por planta y en diferente proporción de afectación por tallo. En la base de los tallos de plantas afectadas, en cortes transversales y longitudinales se observó la presencia de haces vasculares de coloración marrón/café.

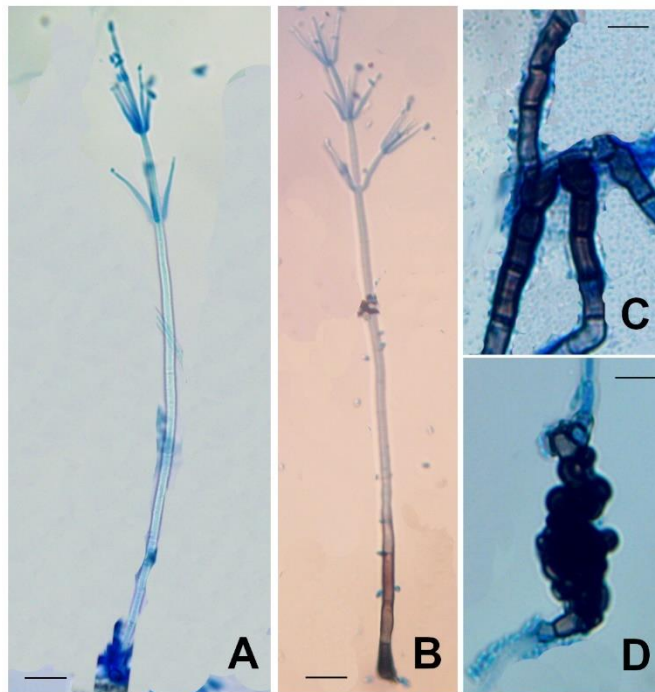


Fotos tomadas por: Luis Mendoza

Figura 2-2. Síntomas de marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* spp. en lotes comerciales de la variedad Diacol Capiro en Cundinamarca. **A.** Síntomas iniciales con decoloración de hojas bajas y clorosis intervenal, **B.** Clorosis intervenal y necrosis de la lámina foliar, **C.** y **D.** Necrosis y clorosis foliar en la mayoría de las hojas de las plantas.

A partir de los aislamientos realizados de plantas sintomáticas, se obtuvo una frecuencia entre el 30 y 92% de colonias identificadas como *Verticillium*. Inicialmente, las colonias presentaron crecimiento de micelio color blanco afelpado a los cuatro días después de la siembra (dds), que luego tomó un color crema a los siete dds. En las láminas de agua se obtuvo una frecuencia de crecimiento de *Verticillium* entre el 62 a 100%. Se observó crecimiento de micelio color blanco o crema escaso sobre el explante a los cuatro dds, que posteriormente presentó un aspecto afelpado a los siete dds. Las colonias fueron identificadas como pertenecientes al género *Verticillium* por la presencia de micelio septado, conidióforos verticilados, conidias ovaladas, microesclerocios y micelio melanizado según Inderbitzin et al. (2011).

A partir de los aislamientos de las plantas enfermas se obtuvieron 15 cultivos monospóricos, que se caracterizaron por su origen y morfología macro y microscópica. En la tabla suplementaria 2-1 se presenta la agrupación de los aislamientos monospóricos según su morfología macro y microscópica, donde la frecuencia hace referencia al porcentaje de aislamientos bajo las mismas características. Se encontró la formación de micelio septado melanizado, microesclerocios melanizados globosos o alargados, conidióforos verticilados con la base melanizada en algunos casos y conidias circulares o elipsoidales (Figura 2-3A, B, C y D). Micelio melanizado se presentó en el 86,8% de los cultivos monospóricos obtenidos, mientras que microesclerocios se formaron en el 13,2% en los aislamientos provenientes de Mosquera (M1 y M2). Para estos, las dos colonias fueron contrastantes respecto a sus características macroscópicas en PDA, donde la colonia M2 presento un aspecto afelpado con anillos de color blanco y negro, mientras que M1 era de color negro con escaso micelio aéreo (tabla suplementaria 2-1). En los demás cultivos monospóricos fue común la presencia de anillos de color blanco, crema, gris y negro en la colonia a los 15 dds.



Fotos tomadas por: Luis Mendoza

Figura 2-3. Estructuras microscópicas observadas en aislamientos en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) 15 días después de la siembra incubados a 20°C en oscuridad obtenidos a partir de plantas de papa con síntomas de marchitez temprana. **A.** Conidióforos

verticilados, **B.** Conidióforos verticilados con la base melanizada, **C.** Micelio melanizado, **D.** Microesclerocios. Barra de escala: 50 μ m.

En la identificación molecular de las colonias F1, M1 y S1, se encontró que todas pertenecen al género *Verticillium*. La región ITS amplificó un fragmento aproximado de 560 bp y el marcador BtuB uno de 280 bp. El análisis filogenético fue realizado con los tres cultivos monospóricos con una buena calidad de la secuencia ITS y BtuB. Este análisis junto con las características microscópicas, confirmaron que los aislamientos corresponden al género *Verticillium*. Las tres colonias presentaron una mayor cercanía con la especie *V. nonalfalae* y *V. alfalae* las cuales no han sido reportadas para Colombia. Las colonias S1 y F1 fueron más cercanas y se separaron de M1 (Figura 2-4).

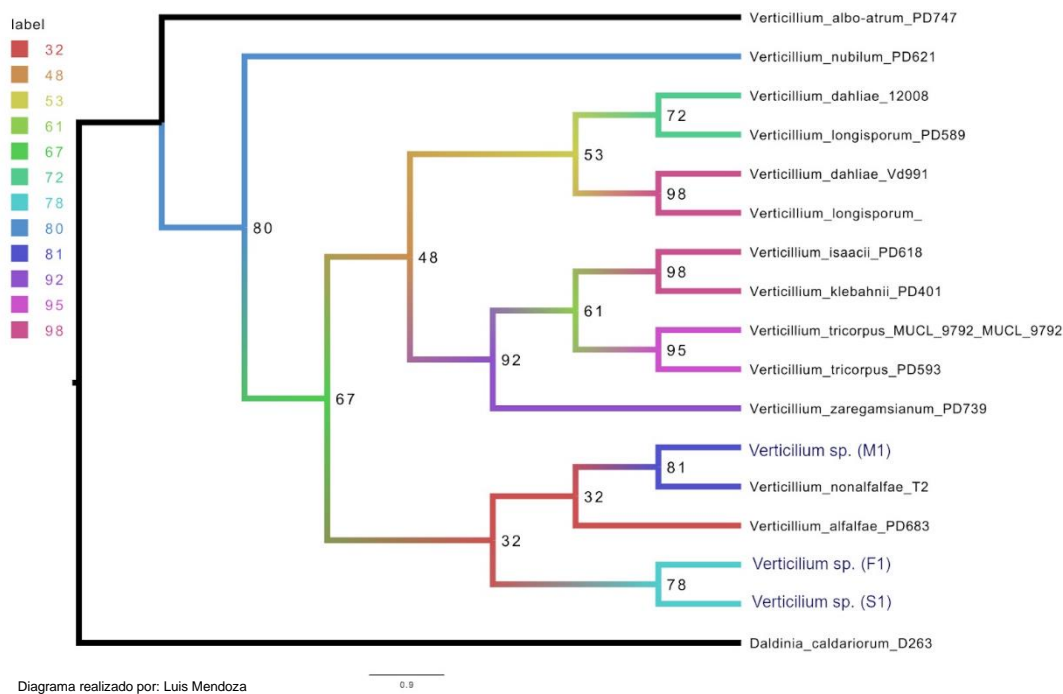
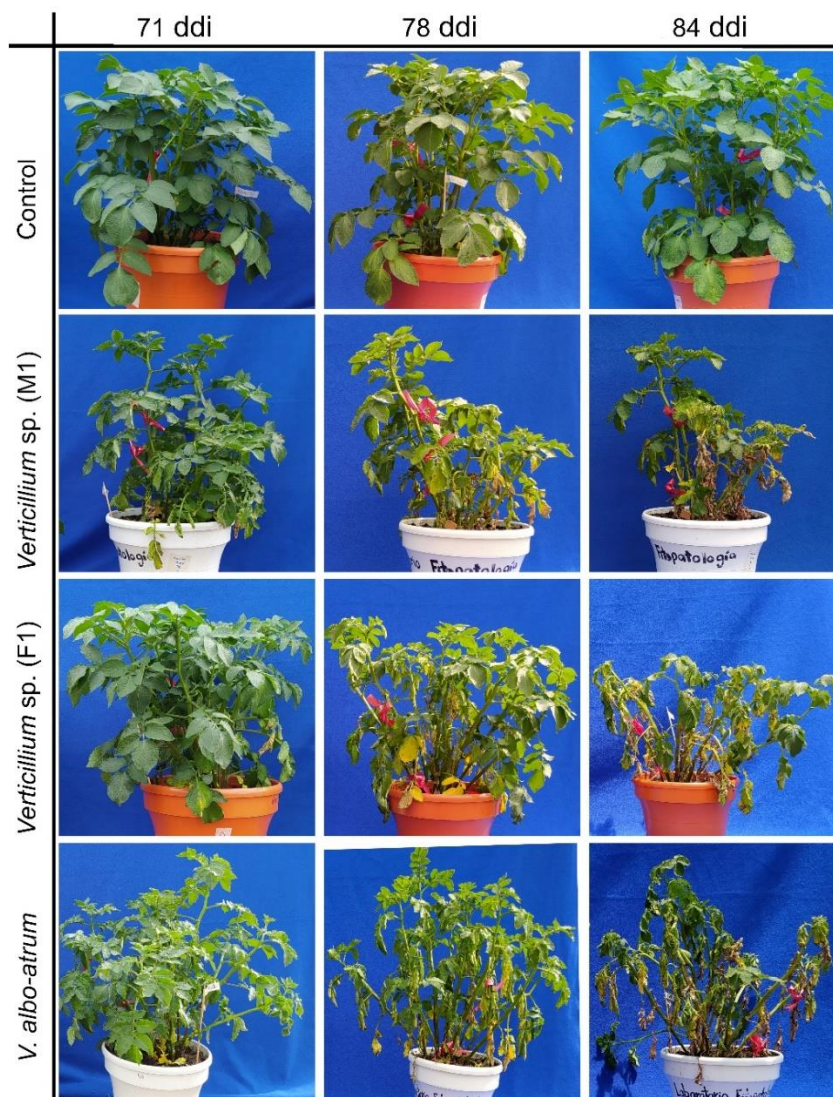


Figura 2-4. Análisis filogenético de las secuencias de la región ITS y BtuB de aislamientos de *Verticillium* obtenidos en lotes comerciales de papa en Cundinamarca. M1: Mosquera, F1: Funza y S1: Subachoque.

2.2.2 Prueba de patogenicidad

Todas las plantas de papa var. Diacol Capiro inoculadas con las colonias de *Verticillium* mostraron síntomas típicos de marchitamiento reportado para marchitez temprana. A los

71 días después de inoculación (ddi) se presentó clorosis y pérdida de turgencia en hojas bajas (Figura 2-5), síntomas observados en la parte media de la planta a los 78 ddi, afectando más del 50% de las hojas que desarrollaron necrosis en el borde de los folíolos. A los 84 ddi se observó marchitamiento generalizado, hojas necróticas, arrugadas y secas adheridas al tallo y pérdida de turgencia en hojas de la parte baja, media y alta de las plantas (Figura 2-5). Los síntomas observados en las plantas fueron similares para las tres colonias evaluadas (F1, M1 y *V. albo-atrum* de referencia). En los re-aislamientos realizados se logró obtener el patógeno en una frecuencia entre el 70 al 90% en las plantas inoculadas. La presencia de conidióforos verticilados y micelio melanizado y las características macroscópicas de las colonias permitieron confirmar que correspondían a las colonias inoculadas.



Fotos tomadas por: Luis Mendoza

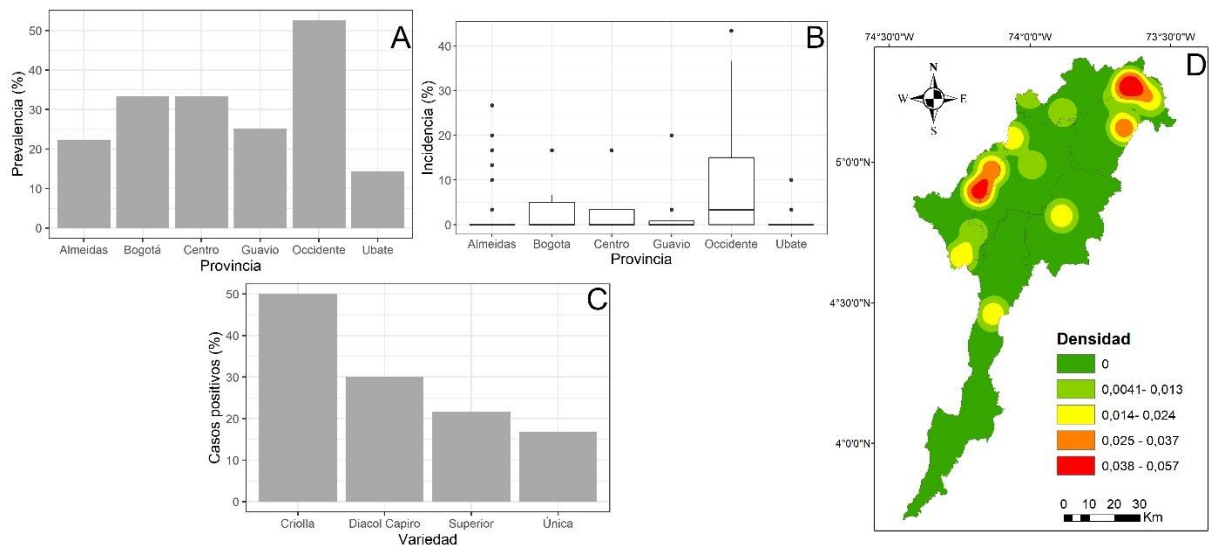
Figura 2-5. Prueba de patogenicidad en plantas de papa var. Diacol Capiro de dos de los morfotipos de *Verticillium* spp. más frecuentes y del aislamiento de *V. albo-atrum* de referencia proveniente de la colección del laboratorio de microbiología agrícola de la Corporación Colombiana de Investigación - Agrosavia C.I Tibaitatá inoculados por drench a los 49 dds.

2.2.3 Parámetros epidemiológicos regionales asociados a MT en papa

En lotes comerciales de papa sembrados con las variedades Diacol Capiro, Criolla, Superior y Única se observaron plantas con alteraciones típicas asociadas a MT causada por *Verticillium* spp. Se encontró que los lotes sembrados con la variedad Criolla

presentaron el mayor porcentaje de presencia de la enfermedad, mientras que la var. Única tuvo el menor valor con 16,7% (Figura 2-6C).

Síntomas de MT de la papa fueron reportados en todas las provincias evaluadas (Figura 2-6). La prevalencia de la enfermedad en Cundinamarca fue de 28,6% con valores de incidencia entre 3 a 43% y un promedio de 14,4% en los lotes afectados (Figura 2-6B). En las provincias de Ubaté y Almeidas se encontraron los menores valores de prevalencia (14,3 y 22,4% respectivamente), mientras que en Sabana Occidente se encontró el mayor valor con 52,6% (Figura 2-6A). La distribución de los lotes con plantas afectadas por *Verticillium* spp. se muestra en la Figura 2-6D. Se observó que en la zona noroeste de las provincias de Sabana Occidente y Almeidas se presentó la mayor densidad de puntos, es decir, una mayor cantidad de lotes con plantas enfermas cercanas entre ellas.



Gráficas y diagramas realizados por: Luis Mendoza

Figura 2-6. Marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* spp. en cultivos comerciales en Cundinamarca. **A.** Valores de prevalencia por provincia, **B.** Valores de incidencia por provincia y **C.** Porcentaje de casos positivos por variedad y **D.** Densidad de kernel (n = 105).

Según las encuestas, se encontró que el 100% de los productores tienen más de siete años de experiencia en el cultivo de papa y todos realizan tratamiento a la semilla previo a la siembra, el cual consiste en la aplicación de fungicidas o insecticidas. Debido a esto, la experiencia y tratamiento a la semilla se omitieron para los análisis posteriores.

A partir del análisis de tipo FAMD se obtuvo que las variables que más aportaron para explicar la variabilidad de los datos fueron temperatura máxima, mínima y media; contenido de arena y carbono orgánico en el suelo, para las variables cuantitativas (Figura 2-7A). En el caso de las variables cualitativas, el uso de maquinaria (dueño), tenencia de la tierra (arrendado), número de ciclos continuos de papa (uno y tres) y procedencia de la semilla (agricultor conocido) explican la tendencia de los datos (Figura 2-7B). El análisis con dos dimensiones logró explicar el 48,9% de la variabilidad de los datos. Aunque la distribución de los puntos de datos no mostró un patrón de agrupación basado en el estado del lote (sano-enfermo), se observa que estos se distancian, al ubicarse en lados opuesto de las dos dimensiones (Figura 2-7C). Se encontró que los agricultores que realizan tres ciclos continuos de papa usan semilla de un agricultor conocido, siembran en lotes en arriendo y no realizan el lavado de maquinaria se agrupan con la presencia de MT. El uso de maquinaria contratada y tenencia del suelo en sociedad se agrupa tanto en lotes sanos como enfermos (Figura 2-7C).

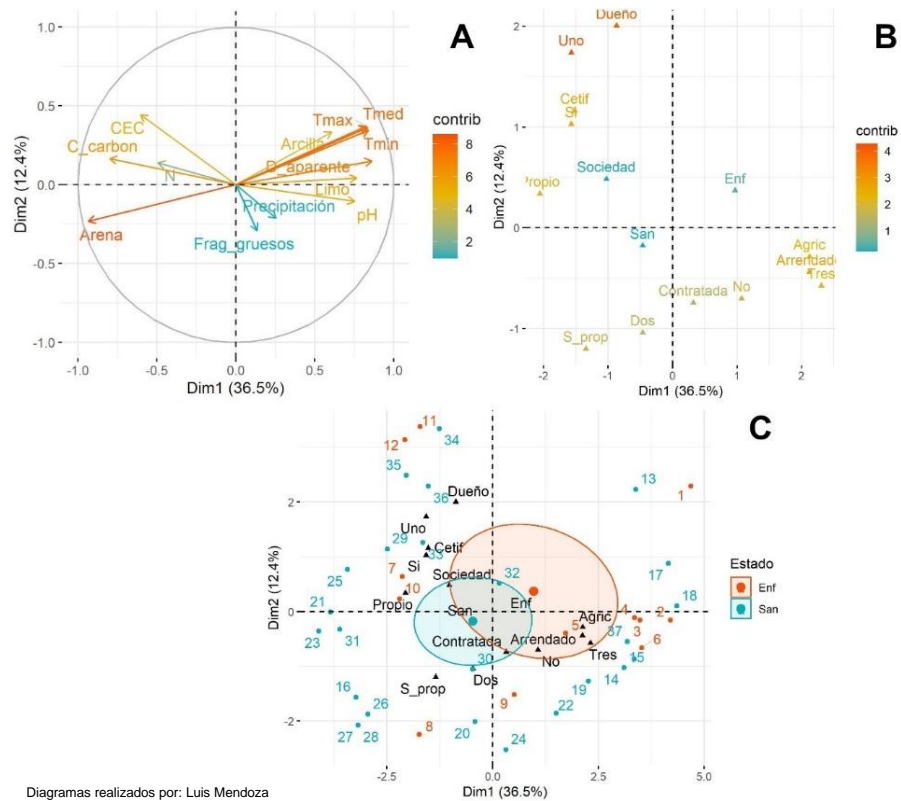


Figura 2-7. Distribución de factores obtenidos del análisis factorial de datos mixtos (FAMD) que muestran el patrón de distribución que maximiza la varianza de los datos. **A.** Contribución de las variables cuantitativas. **B.** Contribución de las variables cualitativas y **C.** Distribución de los lotes en sanos – enfermos respecto a las variables cualitativas. Tmax: temperatura máxima, Tmin: temperatura mínima, Tmed: temperatura media, CEC: capacidad de intercambio catiónico, D_aparente: densidad aparente, C_carbon: contenido de carbono orgánico, N: nitrógeno, Frag_gruesos: fracción volumétrica de fragmentos gruesos, Dueño: dueño de la maquinaria, Contratada: maquinaria contratada, Uno, Dos y Tres: número de ciclos continuos de siembra, Propio: tenencia de la tierra propia, Sociedad: tenencia de la tierra en sociedad, Arrendado: tenencia de la tierra arrendada, Enf: enfermo, San: sano, Si y No: lavado de la maquinaria, Certif: semilla certificada, Agric: semilla de agricultor conocido, S_propio: semilla obtenida de los propios lotes.

Respecto a las medidas de asociación entre las variables, se encontraron correlaciones positivas significativas entre la temperatura media, máxima y mínima, y entre arena, densidad aparente y contenido de carbono con al menos tres variables cada una. Debido a esto, la temperatura máxima y mínima, el porcentaje de arena, densidad aparente y contenido de carbono en el suelo fueron descartadas para el GLM. De las 13 variables

evaluadas, 9 presentaron una relación con la incidencia de MT (Tabla 2-2). La tenencia de la maquinaria (dueño), ciclos continuos de papa (tres), procedencia de la semilla (lotes propios), tenencia del suelo (propio) y la temperatura media fueron las variables significativas ($p < 0,05$). Sin embargo, el intercepto no fue significativo en el modelo (Tabla 2-2).

Tabla 2-2. Estimación de parámetros en un GLM con función de ligamiento tipo Poisson de las prácticas de manejo y los efectos de las variables edafoclimáticas en la incidencia de la marchitez temprana de la papa (MT) causada por *Verticillium*.

Variable	Parámetro estimado	Error estándar
Intercepto	3,2	6,8
Maquinaria (dueño)	1,4**	0,5
Ciclos continuos (tres)	2,4***	0,4
Ciclos continuos (uno)	1,0	0,5
Limpieza maquinaria	-0,7	0,4
Procedencia semilla (certificado)	0,4	0,5
Procedencia semilla (lotes propios)	-1,2*	0,5
fragmentos gruesos del suelo	-0,9	0,5
pH	9,8	12,5
Tenencia del suelo (propio)	-1,8***	0,5
Tenencia del suelo (sociedad)	-18,0	11,4
Contenido de carbono del suelo	0,2	0,2
Temperatura media	-0,1***	0,1

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Al implementar RF para la evaluación de la presencia – ausencia de lotes con plantas con síntomas de MT respecto a las variables predictoras, se encontró una exactitud global de 67%. Para el análisis de las variables, la disminución media del coeficiente de Gini y de la precisión indicaron que el número de ciclos continuos de papa y la precipitación fueron las más importantes (Figura 2-8A y B). Respecto a su aporte en el coeficiente de Gini, la CEC y la temperatura media se destacan, mientras que, su efecto en la precisión, la tenencia de la tierra es importante para la clasificación entre un lote sano o enfermo (Figura 2-8A y B).

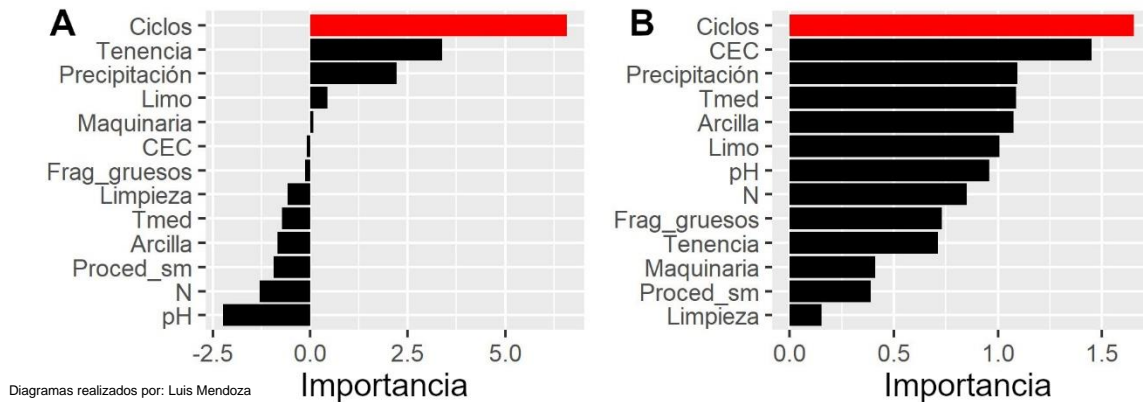


Figura 2-8. Valor de importancia de las variables respecto a la presencia-ausencia de plantas con síntomas de marchitez temprana de la papa en lotes comerciales en Cundinamarca. **A.** Disminución media de la precisión y **B.** Disminución media del coeficiente de Gini. Proced_sm: procedencia de la semilla, Tmed: temperatura media, Frag_gruesos: fracción volumétrica de fragmentos gruesos del suelo, Limpieza: limpieza de la maquinaria, Tenencia: tipo de tenencia de la tierra, Maquinaria: tipo de tenencia de la maquinaria, Ciclos: ciclos continuos de siembra.

2.3 Discusión

En este trabajo se identificaron los síntomas de la MT en lotes comerciales de papa, se aislaron diferentes morfotipos del género *Verticillium* asociados a la MT, se establecieron zonas de producción con presencia de la enfermedad en Cundinamarca y se determinaron factores epidemiológicos de suelo, clima y manejo asociados con la enfermedad.

A partir de características morfológicas como las estructuras de resistencia y conidióforos y de su patogenicidad en plantas de papa variedad Diacol Capiro se identificó a *Verticillium* spp. como el agente causal de MT en plantas afectadas en cultivos comerciales en Cundinamarca (Robinson et al., 2006; Inderbitzin et al., 2011; Inderbitzin et al., 2013; Molina, 2016). De manera preliminar, el análisis molecular reveló una similitud con *V. nonalfalae*, la cual no ha sido previamente reportada en el cultivo de papa en Colombia. Esta especie se ha identificado como patógena en papa causando pérdidas en rendimiento y calidad en el mundo (Jing et al., 2018). De igual forma que *V. albo-atrum*, esta especie presenta un rango de hospederos limitado y un óptimo desarrollo a temperaturas inferiores a 21°C (Powelson y Rowe, 2008; Rowe et al., 1987). Sin embargo, para una identificación precisa a nivel de especie, es necesario complementar la información con el análisis

molecular de otras regiones de ADN como 18S rDNA, 5.8S rDNA, actina (ACT), factor de elongación 1- α (EF1 α), Gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa (GDP) y triptófano sintasa (TS) preferiblemente utilizando métodos como multiplex-PCR (Inderbitzin et al., 2013; Zou et al., 2020) o análisis filogenético multigen (Rui et al., 2019). En este sentido, es crucial continuar avanzando en la caracterización molecular, teniendo en cuenta que se encontró variación en el aspecto y morfología de las colonias obtenidas y que se han reportado especies como *V. nonalfalfae*, *V. longisporum*, *V. tricorpus* y *V. isaacii* causando síntomas de MT en papa (Wheeler y Johnson, 2019; Li et al., 2019).

En todas las provincias evaluadas cultivadas con papa en Cundinamarca se identificó la MT, con una prevalencia media del 28%. Regiones tradicionalmente dedicadas al cultivo de la papa, y en los últimos años se ha presentado un aumento del área de producción (DANE, 2022). Estos resultados son un indicio de que esta zona presenta condiciones edafoclimáticas favorables para el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, tomando en cuenta que la variabilidad de estos factores incide en la actividad fúngica, esto puede relacionarse con el comportamiento estacional de la MT, representado por picos epidémicos en algunos periodos o ciclos de cultivo (Levin et al., 2003). La provincia de occidente, en donde se encontraron los valores más altos de prevalencia (superior al 50%) e incidencia (entre 10 y 40%) y en Almeidas donde se observó una alta presencia de lotes vecinos con la enfermedad según la densidad de Kernel, se clasifican como áreas frías áridas a semiáridas de acuerdo con la zonificación bioclimática de Cundinamarca (Medina et al., 2018). Estas provincias hacen parte del altiplano cundiboyacense caracterizándose como zonas frías, con altitudes superiores a los 2.600 msnm, velocidad del viento cercana a $1,5 \text{ m s}^{-1}$, baja radiación solar y alto número de días lluviosos con precipitaciones bajas. Lo anterior indicaría que la presencia y desarrollo de la MT son favorecidas por estas condiciones.

Lotes con plantas enfermas mostraron la agrupación de prácticas de manejo del cultivo que pueden favorecer la distribución y multiplicación del patógeno a nivel intra y entre lotes, de acuerdo con el análisis FAMD. Dentro de estas se pueden mencionar, la siembra de tubérculo semilla de un agricultor conocido y el uso de maquinaria contratada y sin limpieza previo al ingreso al cultivo para la preparación de suelo. Respecto a los tubérculos semilla, este patógeno puede colonizar y permanecer latente en la zona vascular del extremo basal

(Nair et al., 2019), además se han encontrado propágulos en el suelo adherido a los tubérculos y en los camiones que transportan semilla proveniente de zonas enfermas (Dung et al., 2012). Lo anterior indicaría que es posible introducir el patógeno en lotes donde no se haya cultivado papa previamente o contaminar aquellos en donde se han realizado prácticas de manejo previas a la siembra (Dung y Johnson, 2012). Debido a que *Verticillium* produce estructuras de resistencia las cuales pueden permanecer adheridos al suelo de herramientas y maquinaria, el uso de estos implementos en arriendo y sin desinfección, puede contribuir con la presencia de la enfermedad y al movimiento de los propágulos del patógeno (Krikun y Orion, 1979; Berlinger y Powelson, 2000; Johnson y Dung, 2010; Land et al., 2017).

De los parámetros epidemiológicos regionales de importancia encontrados en este estudio, el ciclo continuo de siembras de papa y la tenencia de la tierra se relacionaron tanto con la presencia como con la incidencia de la MT. Los residuos vegetales luego de la cosecha son una fuente importante de inóculo de *Verticillium* spp. para posteriores ciclos productivos (Johnson y Dung; 2010). En papa se ha reportado que la producción de propágulos de *V. dahliae* depende de las condiciones ambientales, la resistencia del material vegetal y el órgano de la planta afectado; siendo las variedades susceptibles y la parte aérea las más favorables para su multiplicación y propagación a corta escala (Mol y Scholte, 1995). El incremento de propágulos de *V. dahliae* y *V. albo-atrum* luego de la incorporación de los residuos vegetales de plantas enfermas al suelo se ha visto reflejado en la mayor liberación de propágulos favorecidos por la descomposición del material vegetal (Carlstrom, 1969; Farley et al., 1971; Green, 1980). Lo anterior se ha demostrado en ciclos continuos de cultivo de papa donde el aumento de la densidad de inóculo en valores entre 1 a más de 25 propágulos por gramo de suelo, generan un aumento de la incidencia y la severidad de la MT (Nicot y Rouse, 1987). En este estudio, las variedades evaluadas, que son ampliamente usadas en Cundinamarca (Ñústez et al., 2020) fueron susceptibles a MT, por lo que las prácticas relacionadas con la enfermedad encontradas, pueden ser un factor importante a considerar para limitar el establecimiento y la multiplicación del patógeno en las regiones o los lotes donde se siembren estos materiales.

Basados en tres métodos robustos y con enfoques diferentes como FAMD, GLM y RF, se encontró que la temperatura y la precipitación son relevantes para el nivel de incidencia y la presencia de lotes con MT. El desarrollo del marchitamiento causado por *V. dahliae* y *V.*

albo-atrum se ha reportado ocurriendo entre 10 a 30°C (Ashagari, 1967; Calderón et al., 2014; Li et al., 2017), sin embargo, cambios en la temperatura se han relacionado con el incremento o disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad (Berlanger y Powelson, 2000; Johnson y Dung 2009). Por su parte, la precipitación afecta directamente la temperatura del suelo, relacionándose con el aumento de la incidencia y severidad del marchitamiento causado por *Verticillium* spp. al modificar los deltas de temperatura diurno y nocturno (Talboys y Wilson, 1970). Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Requena-Mullor et al., (2020) en olivo, quienes encontraron que la precipitación es una de las principales variables que influyen la aparición de la enfermedad causada en esta especie por *Verticillium* spp.

Variables como el contenido de arena y de carbono orgánico y CEC, fueron las que más aportaron en la explicación de la presencia de la enfermedad. Estos resultados coinciden con lo reportado por Land et al. (2017), quienes encontraron que en plantas de algodón el contenido de arena, arcillas y limos son importantes para la incidencia y severidad del marchitamiento causado por *V. dahliae*. Las condiciones físicas del suelo, como el contenido de arena y carbono orgánico afectan la porosidad y estructura, lo que directamente incide con la capacidad del patógeno para colonizar el suelo e infectar hospederos susceptibles (Otten y Gilligan, 2006). Así mismo, la CEC que es la capacidad del suelo para retener y liberar iones, incide en la disponibilidad de nutrientes para la planta y de esta forma en la capacidad de respuesta de defensa (Tripathi et al., 2022). Adicionalmente, el balance de K, Mg y Na puede afectar la incidencia y severidad de la enfermedad (López-Moral et al., 2022). Por lo que este tipo de variables pueden ser una base para continuar estudios relacionados con la incidencia y factores conducentes de la MT en papa causada por *Verticillium* spp.

Nuestros resultados proporcionan una línea base de la información de MT en las zonas de mayor producción de papa en Cundinamarca, en donde la prevalencia y la incidencia sugieren que esta enfermedad no ha sido controlada. Si bien esta investigación proporciona un panorama del estatus de la enfermedad en las zonas evaluadas, se debe tener presente que una vez el patógeno es introducido en un lote, éste tiene la capacidad de diseminarse desde los focos iniciales a nuevos sitios de siembra a través de semilla infectada o movimiento de suelo, maquinaria y equipos entre lotes (Krikun y Orion, 1979;

Johnson y Dung, 2010). Por lo tanto, es probable que esta enfermedad pueda ser considerada una amenaza para la producción de papa en Cundinamarca y en otros departamentos productores en Colombia.

Aunque este estudio proporciona un panorama del estado de la MT en las zonas de mayor producción de papa en Cundinamarca, es necesario ampliar su evaluación a más localidades donde se cultiva papa con el fin de completar el mapa de prevalencia de MT en este Departamento. Para plantear estrategias de control, es necesario conocer la distribución y la estructura de la población del patógeno, teniendo en cuenta que *Verticillium* se disemina a partir de estructuras de resistencia entre y dentro de los lotes, siendo persistente por largos periodos de tiempo en el suelo (Berlanger y Powelson, 2000). En este sentido la contribución de este trabajo es relevante para los productores y el sector de la papa en general, ya que aporta en el reconocimiento de la enfermedad, el patógeno, evidencia las zonas donde es prevalente y las variables conducentes para su ocurrencia.

2.4 Conclusiones

La marchitez temprana de la papa se presentó como clorosis y necrosis de hojas que posteriormente enrollan, se secan y quedan adheridas al tallo. El agente causal de esta sintomatología fue identificado como *Verticillium* spp. del cual se identificaron cinco morfotipos, afectando las variedades Diacol Capiro, Criolla y Única. La enfermedad tuvo una prevalencia del 28,6% en Cundinamarca, con presencia en todas las provincias evaluadas; siendo común que lotes vecinos presenten plantas con síntomas. Respecto a las prácticas de manejo, el número de ciclos continuos de papa, la procedencia de la semilla y la tenencia de la tierra fueron las variables que más se relacionaron con la presencia e incidencia de la enfermedad. Por su parte, variables como la temperatura media, la precipitación, la CEC y el contenido de arena en el suelo fueron relacionadas con MT a nivel de región.

2.5 Referencias

Agronet. 2023. Red de información y comunicación del sector agropecuario colombiano. Documento consultado en: <http://www.agronet.gov.co/Paginas/default.aspx>.

- Ashagari, D. 1967. Verticillium wilt of cotton: 1) effect of media and temperature on morphology and pathogenicity, 2) vascular plugging in resistant and susceptible cottons. Alemya, Ethiopia. Oklahoma state university. Master's degree.
- Bandara, A. Y., Weerasooriya, D. K., Conley, S. P., Bradley, C. A., Allen, T. W., Esker, P. D. 2020. Modeling the relationship between estimated fungicide use and disease-associated yield losses of soybean in the United States I: Foliar fungicides vs foliar diseases. *PLoS ONE*, 15(6 June). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234390>.
- Barbara, D. J., y Clewes, E. 2003. Plant pathogenic Verticillium species: How many of them are there? *Mol. Plant Pathol.* 4:297-305. [10.1046/j.1364-3703.2003.00172.x](https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00172.x).
- Benavides, J., Rodriguez, R., Meneses, G., Guerrero, O. 1995. Comportamiento de dos variedades de papa a la inoculación de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth Y *Globodera pallida* (Stone) Behrens. *Revista de ciencias agrícolas.* 13: 103 - 122.
- Berlanger, I. y Powelson. M.L. 2000. Verticillium wilt. *The Plant Health Instructor.* DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0801-01.
- Bertrand, F., Maumy, M., Fussler, L., Kobes, N., Savary, S., Grosman, J. 2007. Using Factor Analyses to explore data generated by the National Grapevine Wood Diseases Survey. En: *Business, Industry and Government Statistics* (Vol. 1, Issue 2). pp. 183 - 202. <https://hal.science/hal-00166970>.
- Betancourth, C., Sañudo, C., Castro, B. L., Arteaga, F., Lagos, L. E., Salazar, C. 2020. Vulneración del cultivo de papa ante problemas sanitarios emergentes en Nariño. Editorial Universidad de Nariño, Colombia.
- Calderón, R., Lucena, C., Traperó-Casas, J. L., Zarco-Tejada, P. J., Navas-Cortés, J. A. 2014. Soil Temperature Determines the Reaction of Olive Cultivars to *Verticillium dahliae* Pathotypes. *PLoS ONE* 9(10): e110664. doi:10.1371/journal.pone.0110664.
- Çalışkan, M. E., Yousaf, M. F., Yavuz, C., Zia, M. A. B., Çalışkan, S. (2023). History, production, current trends, and future prospects. *Potato Production Worldwide*, 1–18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822925-5.00016-5>
- Chilipa, L., Mukuma, C., Tembo, L., Chalwe, A., Bwembya, S., Chama, C. 2021. A survey on potato productivity, cultivation and management constraints in Mbala district of Northern Zambia. *Open Agriculture*, 6(1), 400-412. [10.1515/opag-2021-0020](https://doi.org/10.1515/opag-2021-0020).
- Choi, Y.W., Hyde, K.D., Hong, W., Choi, Y. W., Ho, W.H. 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal Diversity* 3: 29-38.

- Cooke, B. M. 1998. Disease Assessment and yield loss. en: Jones, G. (eds). The epidemiology of plant diseases. Kluwer Publishers, Dordrecht.
- DANE, 2001. I censo nacional del cultivo de papa departamento de Cundinamarca. III separata de resultados semestre B. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. Colombia, Bogotá D. C.
- Delgado-Baquerizo, M., Gallardo, A., Covelo, F., Prado-Comesaña, A., Ochoa, V., Maestre, F. T. 2015. Differences in thallus chemistry are related to species-specific effects of biocrust-forming lichens on soil nutrients and microbial communities. *Funct Ecol* 29(8):1087–1098. 10.1111/1365-2435.12403.
- Deshpande, V., Wang, Q., Greenfield, P., Charleston, M., Porras-Alfaro, A., Kuske, C., Cole, J., Midgley, D., Tran-Dinh, N. 2016. Fungal identification using a Bayesian classifier and the Warcup training set of internal transcribed spacer sequences, *Mycologia*, 108:1, 1-5, DOI: 10.3852/14-293.
- Dung, J. K. S. 2020. Verticillium Wilt of Mint in the United States of America. *Plants (Basel)*. 9:1602. 10.3390/plants9111602
- Dung, J. K. S., Hamm, P. B., Eggers, J. E., Johnson, D. A. 2013. Incidence and impact of *Verticillium dahliae* in soil associated with certified potato seed lots. *Phytopathology* 103:55-63. 10.1094/PHYTO-04-12-0073-R.
- Dung, J. y Johnson, D. 2012. Roles of Infected Seed Tubers and Soilborne Inoculum on Verticillium Wilt of 'Russet Burbank' Potato. *Plant Dis.* 96:379-383. 10.1094/PDIS-07-11-0583.
- Escobar, S. M., Peñuela, E. C. (Eds.). 2016. 3er censo nacional agropecuario. Tomo 2 - resultados. DANE, Colombia, Bogotá D.C.
- Farley, J. D. 1971. Repeated Germination and Sporulation of Microsclerotia of *Verticillium Albo-atrum* in Soil. *Phytopathology* 61, 264. doi: 10.1094/PHYTO-61-260.
- Fedepapa. 2021. Informe de gestión vigencia 2021 – 1. <https://fedepapa.com/wp-content/uploads/2022/02/INFORME-DE-GESTION-SEMESTRE-A-2021.pdf>
- Fick, S. E., y Hijmans, R.J. 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*. 37 (12): 4302-4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>.
- Fradin, E. F. y Thomma, B. P. 2006. Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular plant Pathology*. 7:71-86. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00323.x>

- Gómez, S. y Mendoza, L. 2020. Marchitez temprana del cultivo de papa, una enfermedad limitante que todos debemos conocer. *Revista papa*. 51: 32-40.
- Green, Jr., R. J. 1980. Soil Factors Affecting Survival of *Microsclerotia* of *Verticillium dahlia*. *Phytopathology* 70, 355. doi: 10.1094/PHYTO-70-353.
- Guerrero, O., Benavides, J., Rodríguez, R. 1992. Pérdidas ocasionadas por *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth., *Globodera pallida* (Stone) Behrens y sus interacciones en dos variedades de papa. *Revista ICA*. 27: 13 - 23.
- Guerrero, O., Benavides, J., Rodríguez, R. 1991. efecto de la inoculación de *Verticillium albo-atrum* reinke & berth y *Globodera pallida* (stone) beherens en las variedades de papa ica-nariño y parda pastusa. *Revista ICA*. 26: 9-18.
- Hengl, T., De Jesus, J. M., Heuvelink, G. B. M., Gonzalez, M. R., Kilibarda, M., Blagotić, A., Shangquan, W., Wright, M. N., Geng, X., Bauer-Marschallinger, B., Guevara, M. A., Vargas, R., MacMillan, R. A., Batjes, N. H., Leenaars, J. G. B., Ribeiro, E., Wheeler, I., Mantel, S., & Kempen, B. 2017. SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning. *PLoS ONE*, 12(2). 10.1371/journal.pone.0169748
- Hunter, D. E., Darling, H. M., Stevenson, F. J., Cunningham, C. E. 1968. Inheritance of resistance to *Verticillium* wilt in Wisconsin. *Am. Potato J.* 45:72-78.
- IICA, 1999. Acuerdo marco de competitividad de la cadena agroalimentaria de la papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura – IICA. Tercer Mundo Editores.
- Inderbitzin, P., Davis R.M., Bostock R.M., Subbarao K.V. 2013. Identification and differentiation of *Verticillium* species and *V. longisporum* lineages by simplex and multiplex PCR assays. *PLoS ONE*.6:e65990. doi: 10.1371/journal.pone.0065990.
- Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, M., Usami, T., Platt, H. W., Subbarao, K. V. 2011. Phylogenetics and Taxonomy of the Fungal Vascular Wilt Pathogen *Verticillium*, with the Descriptions of Five New Species. *PLoS ONE* 6(12): e28341. 10.1371/journal.pone.0028341.
- Inderbitzin, P., Davis, R. M., Bostock, R. M., Subbarao, K. V. 2011A. The Ascomycete *Verticillium longisporum* Is a Hybrid and a Plant Pathogen with an Expanded Host Range. *PLOS ONE*, 6(3), e18260. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0018260>
- Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, F., El Mahjoub, M. 2007. Incidence and distribution of *Verticillium dahliae* races infecting tomato in Tunisia. *Tunisian*

- Journal of Plant Protection, 2, 63–70.
<https://www.researchgate.net/publication/311653156>
- Jeger, M. J. (2020). The Epidemiology of Plant Virus Disease: Towards a New Synthesis. *Plants* (Basel, Switzerland), 9(12), 1–50. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9121768>
- Ji, Y., Li, X., Gao, Q., Geng, C., Dian, K. 2022. Colletotrichum species pathogenic to strawberry: discovery history, global diversity, prevalence in China, and the host range of top two species. *Phytopathology Research* 4:42. 10.1186/s42483-022-00147-9.
- Jia, J. X., Yang, D. Q., Li, J. D., and Li, Y. 2011. Research and comparative analysis about potato production situation between China and continents in the world. *Agric. Eng.* 1:84-86.
- Jing, R., Li, H. Y., Hu, X. P., Shang, W. J., Shen, R. Q., Guo, C. J., Guo, Q. Y., Subbarao, K. V. 2018. Verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* and *V. nonalfalfae* in potato. *Plant Dis.* 102:1958-1964. 10.1094/PDIS-01-18-0162-.
- Johnson, D. A., Dung, J. K. 2010. Verticillium wilt of potato - The pathogen, disease and management. *Canadian Journal of Plant Pathology.* 32: 58-67. 10.1080/07060661003621134.
- Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., Subbarao, K. V. 2009. Diversity, pathogenicity, and management of Verticillium species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47:39-62. 10.1146/annurev-phyto-080508-081748.
- Kowalska, B. 2021. Management of the soil-borne fungal pathogen – *Verticillium dahliae* Kleb. causing vascular wilt diseases. *Journal of Plant Pathology.* 103:1185-1194. 10.1007/s42161-021-00937-8.
- Krikun, j., y Orion, D. 1979. Verticillium wilt of potato: importance and control. *Phytoparasitica.* 7(2): 107-116. 10.1007/BF02981584.
- Land, C. J., Lawrence, K. S., Burnester, C. H., Meyer, B. 2017. Cultivar, irrigation, and soil contribution to the enhancement of Verticillium wilt disease in cotton. *Crops protection.* 96: 1-6. 10.1016/j.cropro.2017.01.002.
- Levin, A.G., Lavee, S., Tsrur L. 2003. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant Pathology* 52: 212-218. 10.1046/j.1365-3059.2003.00809.x.
- Li, H., Wang, Z., Hu, X., Shang, W., Shen, R., Guo, C., Guo, Q., Subbarao, K. 2019. Assessment of Resistance in Potato Cultivars to Verticillium Wilt Caused by *Verticillium dahliae* and *Verticillium nonalfalfae*. *Plant disease.* 103: 10357-1362. 10.1094/PDIS-10-18-1815-RE.

- Li, X., Zhang, Y., Ding, C., Xu, W., Wang, X. 2017. Temporal patterns of cotton Fusarium and Verticillium wilt in Jiangsu coastal areas of China. *Scientific Reports*. 7:12581. [10.1038/s41598-017-12985-1](https://doi.org/10.1038/s41598-017-12985-1).
- Li, Z. H., and Yang, X. J. 2016. Analysis on potato industry of world and China. *Food Nutr. China* 22:5-9
- López-Moral, A., Agustí-Brisach, C., Alcántara, E., Trapero, A., Ruiz-Blancas, C., & Antón-Domínguez, B. I. 2022. Elucidating the Effect of Nutritional Imbalances of N and K on the Infection of *Verticillium dahliae* in Olive. *Journal of Fungi*, 8(2), 139. <https://doi.org/10.3390/JOF8020139>.
- Madden, L. V., Hughes, G., van den Bosch, F. (2017). *The Study of Plant Disease Epidemics*. The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/9780890545058>
- Martinez-Taboada, F. y Redondo, J. I. 2020. Variable importance plot (mean decrease accuracy and mean decrease Gini). *PLOS ONE*. Figure. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230799.g002>
- Medina, L., Ortega, J. A., Hinestrosa, L. A., Plazas, L., Perea, M. A. 2018. Aproximación a la zonificación bioclimática de Cundinamarca. Tomado de: Blanco, J. A. *Diario de Campo La experiencia; requisito para la visibilidad, la divulgación y el impacto de la investigación (tomo I)*. Ed. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Pp. 192 – 218.
- Mila, A. L., Carriquiry, A. L., Zhao, J., Yang, X. B. 2003. Impact of management practices on prevalence of soybean Sclerotinia stem rot in the north-central United States and on farmers' decisions under uncertainty. *Plant Dis.* 87:1048-1058. [10.1094/PDIS.2003.87.9.1048](https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.9.1048).
- Milgroom, M. G. y Peever, T. L. 2007. Population Biology of Plant Pathogens: The Synthesis of Plant Disease Epidemiology and Population Genetics. 87(6), 608–617. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.6.608>
- Mol, L., y Scholte, K. 1995. Formation of microsclerotia of *Verticillium dahliae* Kleb. on various plant parts of two potato cultivars. *Potato Res* 38, 143–150. doi: [10.1007/BF02357927/METRICS](https://doi.org/10.1007/BF02357927/METRICS).
- Molina, O. 2016. Identification of *Verticillium* species and control methods for *Verticillium* wilt of potato in Manitoba. Tesis PhD., The University of Manitoba.


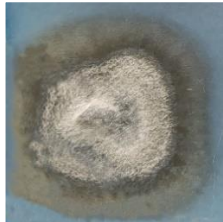



- Moore, S. M., y Boreer, E. T., 2012. The influence of host diversity and composition on epidemiological patterns at multiple spatial scales. *Ecology*. 93: 1095-1105.10.1890/11-0086.1.
- Nair, P., Wiechel, T., Crump, N., Taylor, P. 2019. Seed tuber incidence, identification and pathogenicity of *Verticillium* species infecting potatoes in South East Australia. *Australasian plant pathology*. 48: 637-650. 10.1007/s13313-019-00667-7.
- Neter, J., y Wasserman, W. 1974. *Applied Linear Statistical Models*. Richard D. Irwin, Inc., Homewood, IL.
- Netto, R. A., y Nutter, F. W. 2005. Use of GPS and GIS technologies to map the prevalence of Moko disease of banana in the Amazonas region of Brazil. 3rd International Bacterial Wilt Symposium, White River, South Africa, APS Press, St. Paul, MN, 431-436.
- Nicot, P. C., y Rouse, D. I. 1987. Relationship Between Soil Inoculum Density of *Verticillium dahliae* and Systemic Colonization of Potato Stems in Commercial Fields Over Time . *Phytopathology*, 77(9), 1346–1355. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-77-1346>
- Nieto, L. E. 1988. La marchitez prematura de la papa causada por *Verticillium* spp. en Colombia. *Revista ICA*. 4: 334-340.
- Nutter, F. F. 2007. The Role of Plant Disease Epidemiology in Developing Successful Integrated Disease Management Programs. In: Ciancio, A., Mukerji, K.G. (eds) *General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Integrated Management of Plants Pests and Diseases*, vol 1. Springer, Dordrecht. 10.1007/978-1-4020-6061-8_3
- Ñústez, C. E. 2020. El cultivo de papa: revisión del contexto internacional y local. En: Ñústez, C. E., Delgado-Niño, M. C., Alba-Chacón, A. F., Duque-Puentes, L. D., Mosquera-Vásquez, T. Rodríguez-Molano, L. E., García-Domínguez, C., Cotes-Prado, A. M., Beltrán-Acosta, C. R., Espitia-Malagón, E., Barreto-Triana, N., Cely-Pardo, L., Wilches-Ortiz, W. y Ospina-Parra, C. E. (Eds). *Papa de año (Solanum tuberosum) Grupo Andigenum: Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca*. Bogotá, D. C.: Corredor Tecnológico Agroindustrial CTA-2.
- Omer, M. A., Johnson, D. A., Rowe, R. C. 2000. Recovery of *Verticillium dahliae* from North American certified seed potatoes and characterization of strains by vegetative compatibility and aggressiveness. *Am. J. Potato Res.* 77:325-331. 10.1007/BF02853954

- Ostfeld, R. S., Glass, G. E., Keesing, F. 2005. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends in Ecology and Evolution* 20:328–336. 10.1016/j.tree.2005.03.009
- Otten, W., Gilligan, C. A. 2006. Soil structure and soil-borne diseases: using epidemiological concepts to scale from fungal spread to plant epidemics. *European Journal of Soil Science*. 57: 26-37. 10.1111/j.1365-2389.2006.00766.x
- Pagès, J. 2004. Analyse factorielle de données mixtes. *Rev. Stat. Appl.* 4:93–111.
- Palanga, Koffi Kibalou Liu, Ruixian Ge, Qun Gong, Juwu Li, Junwen Lu, Quanwei Li, Pengtao Yuan, Youlu Gong, Wankui. 2021. Current advances in pathogen-plant interaction between *Verticillium dahliae* and cotton provide new insight in the disease management. *Journal of Cotton Research*. 4:25. 10.1186/s42397-021-00100-9
- Pegg, G. F., Brady, B. L., eds. 2002. *Verticillium Wilts*. CABI International, Wallingford, UK.
- Powelson, M. L., Rowe, R. C. 2008. Managing diseases caused by seedborne and soilborne fungi and fungus-like pathogens. Pages 183-195 in: *Potato Health Management*. D. A. Johnson, ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Qin, Qing Ming Vallad, Gary E. Wu, Bo Ming Subbarao, Krishna V. 2007. Phylogenetic Analyses of Phytopathogenic Isolates of *Verticillium* spp. *Population Biology. Phytopathology*, 96, 582–592. 10.1094/PHYTO-96-0582
- Ramírez-Gil, J., Garcia, C., Navas, J., López, D., León, J., Gómez, C. 2019. *Verticillium* sp., implicaciones epidemiológicas y económicas en una región productora de Cundinamarca. XXXIV Congreso Colombiano de Fitopatología y Ciencias Afines. 43(2).
- Requena-Mullor, J. M., García-Garrido, J. M., García, P. A., & Rodríguez, E. (2020). Climatic drivers of *Verticillium dahliae* occurrence in Mediterranean olive-growing areas of southern Spain. *PLoS ONE*, 15(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0232648>.
- Robinson, N., Platt, H.W., Hale, L. 2006. Potato plant and tuber infection and soil colonization by *Verticillium tricorpus* and *Verticillium albo-atrum* "group 2". *Epidemiology*. 540:547. 10.1080/07060660609507332
- Rowe, R. C., y Powelson, M. L. 2002. Potato early dying: management challenges in a changing production environment. *Plant Dis.* 86:1184-1193. 10.1094/PDIS.2002.86.11.1184

- Rowe, R. C., Davis, J. R., Powelson, M. L., Rouse, D. I. 1987. Potato early dying: causal agents and management strategies. *Plant Dis.* 71:482-489. 10.1094/PD-71-0482.
- Rui, J., Fangjie, Z., Yfan, L., Wenjing, S., Shen, R., XiaoPing, H. 2019. Isolation and identification of potato *Verticillium* wilt pathogen in Ningxia and its host range. *Acta Phytopathologica Sinica.* 49:11-19. 10.13926/j.cnki.apps.000191
- Rui, J., Haiyuan, L., Xiaoping, Hu., Wenjing, S. 2018. *Verticillium* Wilt Caused by *Verticillium dahliae* and *V. nonalfalfae* in Potato in Northern China. 102: 1958-1964. 10.1094/PDIS-01-18-0162-RE.
- Silverman, B. W. 2018. Density estimation for statistics and data analysis. Page 176 Routledge, 783 New York.
- Silverman, B. W. 1986. Estimación de densidad para las estadísticas y el análisis de datos. New York: Chapman and Hall.
- Skelsey, P. 2021. Forecasting Risk of Crop Disease with Anomaly Detection Algorithms. *Phytopathology.* 111(2):321-332. 10.1094/PHYTO-05-20-0185-R.
- Smith, D. L., Ericson, L. J., Burdon, J. 2003. Epidemiological patterns at multiple spatial scales: an 11-year study of a *Triphragmium ulmariae*–*Filipendula ulmaria* metapopulation. *Journal of Ecology* 91:890–903. 10.1046/j.1365-2745.2003.00811.x
- Steere, L. y Kirk, W., 2015. Potato Early Die Complex (*Verticillium* wilt). *Extension Bulletin.* E-3207.
- Talboys, P. W., Wilson, J. F. 1970. Effects of temperature and rainfall on the incidence of wilt (*Verticillium albo-atrum*) in hops. *Annals of applied biology.* 66: 51-58. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1970.tb04602.x>
- Tripathi, R., Tewari, R., Singh, K. P., Keswani, C., Minkina, T., Srivastava, A. K., De Corato, U., & Sansinenea, E. 2022. Plant mineral nutrition and disease resistance: A significant linkage for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 13, 3116. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.883970/BIBTEX>
- Wang, Q, G. M. Garrity, J. M. Tiedje, J. R. Cole. 2007. Naive Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Appl Environ Microbiol.* 73: 5261-5267. 10.1128/AEM.00062-07
- Wei, F., Shang, W., Yang, J., Hu, X., Xu, X. 2015. Spatial Pattern of *Verticillium dahliae* Microsclerotia and Cotton Plants with Wilt Symptoms in Commercial Plantations. *PLoS One* 10, e0132812. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0132812.

- Wheeler, D. L., y Johnson, D. A. 2019. *Verticillium isaacii* is a Pathogen and Endophyte of Potato and Sunflower in the Columbia Basin of Washington. *Plant Disease*. 103: 3150-3153. 10.1094/PDIS-04-19-0779-RE
- Xiaojun, C., Wongkaew, S., Jie, Y., Xuehui, Y., Haiyong, H., Shiping, W., Qigqun, T., Lushiang, W., Dusit, A., Natthiya, B. 2014. *In vitro* inhibition of pathogenic *Verticillium dahliae*, causal agent of potato wilt disease in China by *Trichoderma* isolates. *Academic journals*. 13: 3402-3412. 10.5897/AJB2013.12195
- Zeng, S., y Luo, Y. 2007. Long-Distance Spread and Interregional Epidemics of Wheat Stripe Rust in China. *Plant Disease*. 90: 980-988. 10.1094/PD-90-0980.
- Zhang, Y., Zhou, J., Zhao, L., Feng, Z., Wei, F., Bai, H., Feng, H., Zhu, H. 2022. A review of the pathogenicity mechanism of *Verticillium dahliae* in cotton. *Journal of Cotton Research*. 10.1186/s42397-021-00111-6.
- Zhao, F., Zhang, Y., Dong, W., Zhang, Y., Zhang, G., Sun, Z., Yang, L. 2019. Vermicompost can suppress *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* via generation of beneficial bacteria in a long-term tomato monoculture soil. *Plant Soil*. 440: 491–50. 10.1007/s11104-019-04104-y.
- Zou, Z., Bisht, V., Dilantha, W. G. 2020. Identification and Characterization of *Verticillium longisporum* Lineage A1/D1 from Brassica Crops in Manitoba, Canada. *Int J Mol Sci*. 21(10): 3499. 10.3390/ijms21103499.

Tabla suplementaria 2-1. Descripción macro y microscópica y frecuencia de 15 cultivos monospóricos de *Verticillium* spp. agrupados en cuatro morfotipos en medio PDA 20 días después de la siembra. Los aislamientos fueron obtenidos a partir de plantas de papa con síntomas de marchitez temprana en cultivos comerciales en Cundinamarca.

Morfotipo	Código	Frecuencia	Aspecto	Descripción
1	M1	6,6		Escaso micelio aéreo, color negro, con bordes irregulares. Formación de microesclerocios.
2	M2	6,6		Micelio afelpado de color blanco en el centro, anillo color negro externo, borde regular. Formación de microesclerocios.
3	S1, S2, S3, S4, Z1, C2, Fa1	46,9		Micelio afelpado, color crema en el centro, anillos de color gris, y negros más intensos en el exterior de la colonia. Formación de micelio melanizado.
4	A1, C1	6,6		Micelio afelpado de color blanco o crema. Formación de micelio melanizado y base de los conidióforos melanizada.
5	F1, F2, Z2, Z3, Z4	33,3		Apariencia afelpada, en el centro color blanco, con anillos de color negro y borde blanco. Formación de micelio melanizado y base de los conidióforos melanizada.

Fotos tomadas por: Luis Mendoza

Tabla suplementaria 2-2. Secuencias de ADN de los primer usados para el análisis filogenético.

Primer	Secuencia (5' →3')
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC

3. Análisis espacio-temporal de la marchitez temprana causada por *Verticillium* spp. en el cultivo de papa

Resumen

La marchitez temprana (MT) causada por *Verticillium* spp. es una enfermedad limitante para la producción de papa en Colombia. El conocimiento y la actualización de la información sobre sus patrones de comportamiento en espacio y tiempo como indicadores de la enfermedad y su relación con las pérdidas causadas puede ser utilizada para la toma de decisiones. Los objetivos de este trabajo fueron: (i) analizar el comportamiento espacio-temporal a microescala de la MT de la papa en zonas productoras de Cundinamarca y (ii) determinar el impacto de la MT de papa sobre parámetros de rendimiento y calidad en producción comercial. La incidencia y severidad de la enfermedad se evaluaron semanalmente por dos meses en siete lotes, asignando una georreferenciación a cada planta. Al final del ciclo de producción, se cosecharon y evaluaron los tubérculos de plantas sanas y enfermas en términos de parámetros de rendimiento en cinco lotes. El análisis temporal consistió en el ajuste de los modelos matemáticos a las curvas de progreso de la enfermedad obtenidas. Para el análisis espacial se evaluaron los índices de Fisher, Morisita, el ajuste a los modelos binomial y beta-binomial, índices de distancia espacial de SADIE y mapas de probabilidad con indicador kriging. Los resultados indicaron que el modelo logístico, monomolecular y exponencial fueron los que mejor describieron el progreso de la enfermedad. La marchitez temprana presentó patrones de distribución aleatorios y agregados además de focos de plantas enfermas en cada lote. La enfermedad generó pérdidas en peso y calidad de los tubérculos, siendo dependiente de la incidencia y la severidad. Este estudio demuestra que las dinámicas espaciales y temporales de la

MT en papa son variables y tienen implicaciones importantes para ser consideradas en el manejo y en la determinación del riesgo de pérdidas a causa de esta enfermedad.

Palabras clave: Patrones espaciales, modelación epidemiológica, *Solanum tuberosum*, kriging indicador, patógenos de suelo.

Introducción

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es el tercer alimento más importante en el mundo, después del arroz y el trigo en términos de consumo humano, gracias a sus altos rendimientos y valor nutritivo; su producción anual supera los 300 millones de toneladas métricas (Zaheer y Akhtar, 2016). Sin embargo, la producción de papa se ve afectada por múltiples factores, en especial enfermedades causadas por diferentes patógenos. La enfermedad conocida como marchitez temprana (MT) causada por el hongo fitopatógeno *Verticillium* spp., ha empezado a tomar relevancia a nivel mundial (Johnson y Dung, 2010; Nair et al., 2019). A nivel de especies *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold y *Verticillium dahliae* Kleb han sido reportadas como las especies de este género que causan las mayores pérdidas en todo el mundo (Pegg et al., 2002). En papa se ha reportado que la MT genera pérdidas entre 10 al 15% en producción, pero puede alcanzar el 50% en lotes severamente afectados (Johnson et al., 1986; Powelson y Rowe, 1993; Jing et al., 2018).

Las especies del género *Verticillium* se caracterizan por su reproducción clonal a través de microsclerocios o micelio melanizado, como estructuras de resistencia que le permiten sobrevivir sin el hospedero por periodos entre 3 y 15 años (Johnson y Dung, 2010). El inóculo primario son estas estructuras de resistencia en el suelo, semilla contaminada o propágulos del patógeno en residuos de cosecha (Dung et al., 2013). Cuando las condiciones ambientales son propicias y hay presencia de plantas susceptibles, estas estructuras son estimuladas para germinar favorecidas por los exudados de las raíces de las plantas hospederas (Schreiber y Green, 1963). El hongo penetra la zona de elongación de las raíces e invade los vasos del xilema, donde se producen las conidias que son trasladadas para colonizar los órganos aéreos de la planta (Liu et al., 2021; Schnathorst, 1981). De esta forma, ocurre una infección sistémica, provocando una sintomatología de marchitamiento, clorosis y necrosis. Las estructuras de propagación del patógeno se forman en plantas senescentes o muertas y se liberan al suelo luego de la descomposición

de los residuos vegetales (Chawla et al., 2012; Schnathorst, 1981). Cuando las condiciones favorables ocurren nuevamente en presencia de un hospedero susceptible, se generan ciclos sucesivos de la enfermedad (Schnathorst, 1981).

Para el estudio de las epidemias, los patrones espaciales y temporales de las enfermedades en plantas se han relacionado con factores ecológicos y biológicos asociados con el ciclo de vida del patógeno (Campbell y Benson, 1994). En patógenos de suelo el estudio de los patrones espaciales se ha concentrado en la cantidad y distribución de sus propágulos. Respecto al cultivo de papa, Morgan et al. (2002) indican que plantas con síntomas de marchitamiento por *V. dahliae* presentaron un bajo grado de agregación. Así mismo, Borza et al. (2017), encontraron una distribución irregular de la incidencia de la enfermedad en localidades diferentes y en dos ciclos consecutivos del marchitamiento causado por *V. dahliae* en papa, en Canadá. Sin embargo, en las condiciones del sistema productivo en Colombia no se ha abordado el estudio del comportamiento espacial de la MT. El modelado del progreso de la enfermedad para epidemias policíclicas ha sido ampliamente estudiado debido a su alto impacto económico, derivado de su capacidad de infección y rápido progreso (Madden y Hughes, 1995). Sin embargo, las dinámicas de las enfermedades de suelo, como en este caso la MT de la papa, han sido poco exploradas debido su comportamiento monocíclico, amplios periodos de supervivencia del patógeno y la baja tasa de transmisión (Liu et al., 2021; Wu y Subbarao, 2014).

Para el estudio temporal de las epidemias se ha implementado el uso de modelos matemáticos ajustados a las curvas de progreso de la enfermedad como método para describir, entender y comparar su desarrollo en plantas (Madden, 2017). Debido a que existen múltiples factores que pueden afectar el desarrollo de una epidemia, como la susceptibilidad del hospedero, la densidad y distribución del inóculo, las condiciones ambientales y las prácticas de manejo entre otras, la modelación no lineal se ha implementado como herramienta que puede presentar un mejor ajuste al comportamiento temporal (Madden, 2017). Dentro de los modelos no lineales, los más ampliamente usados son los modelos de crecimiento como el exponencial, monomolecular, logístico y Gompertz (Campbell y Madden, 1990; Madden y Hughes, 1995). A partir de esto, se ha reportado que los modelos Gompertz y logístico fueron los que mejor se ajustaron a la curva de progreso del marchitamiento causado por *V. dahliae* en el cultivo de lechuga (Liu et al.,

2021). Sin embargo, en la revisión realizada, no se encontraron estudios relacionados con el comportamiento temporal de la MT en papa.

La evaluación de la distribución y patrones espaciales de enfermedades en plantas ha implementado métodos geoestadísticos, índices de distancia y de agregación que apoyan el análisis de los datos (Madden y Huhes, 1995, Madden et al., 2017). Las herramientas geoestadísticas y el análisis espacial por índices de distancia (SADIE) se han usado para caracterizar el grado de asociación de la enfermedad entre las unidades de muestreo y su heterogeneidad dentro del área evaluada. Así mismo, índices como los de Morisita (Morisita, 1962) y Fisher (Fisher, 1922) determinan el patrón espacial de los individuos enfermos, clasificándolos entre una distribución uniforme, aleatoria o agregada (Golay et al., 2014; Amaral et al., 2015). El uso en conjunto de estas metodologías proporciona una interpretación de los patrones espaciales de la enfermedad, lo que ha permitido describir epidemias en otros patosistemas y determinar estrategias de manejo (Heck et al., 2021).

En la actualidad, el patosistema *Verticillium*-papa bajo las condiciones de Colombia carece de información actualizada sobre las dinámicas espacio-temporales donde esta enfermedad empieza a ser limitante por el impacto económico que puede representar. El análisis y estudio de los patrones y las dinámicas espacio-temporales de las enfermedades de plantas tiene potencial uso en la identificación de alternativas de manejo basadas en información sobre los cambios en la incidencia y severidad, el origen del inóculo y la dispersión de la enfermedad, adicionalmente permiten la evaluación de pérdidas ocasionadas en el cultivo derivadas de la incidencia de este patógeno de suelo (Madden y Hughes, 1995; Johnson et al., 2010). Con base en estos enunciados, los objetivos de este estudio fueron (i) analizar el comportamiento espacio-temporal a microescala (lote) de la MT y (ii) determinar el impacto de la MT de papa sobre parámetros de rendimiento y calidad en zonas productoras en Cundinamarca.

3.1 Materiales y métodos

3.1.1 Zona de estudio

El estudio fue realizado en seis lotes comerciales cultivados con papa con reportes de síntomas de MT en el periodo de septiembre de 2020 a junio de 2021 en el departamento

de Cundinamarca, Colombia. Los lotes se ubicaron en los municipios de Mosquera (M), Funza (F), Zipaquirá (Z) y tres en Subachoque (S_1, S_2 y S_3). De estos, cinco fueron evaluados en el segundo semestre del 2020 (M, F, Z_20, S_1 y S_2) y dos en el primer semestre del 2021 (Z_21 y S_3). El lote Z fue evaluado en ambos periodos (2020 y 2021), debido a la siembra de dos ciclos consecutivos de producción de papa en el mismo lote. El tamaño de los lotes varió entre 0,8 a 6 ha y todos fueron sembrados con semilla certificada de la variedad Diacol Capiro mediante un manejo convencional del cultivo. Las zonas de estudio se caracterizan por presentar temperaturas medias en el rango entre 12 y 15°C, precipitación acumulada anual entre 600 y 1.000 mm con distribución bimodal, altitud entre 2.550 y 2.750 msnm y humedad relativa entre 80 y 85%.

3.1.2 Evaluación de la enfermedad en campo

Para la evaluación de la incidencia y severidad de MT de la papa, se seleccionó un área de 0.8 ha en cada uno de los lotes. Dentro de esta área, se realizó un muestreo sistemático en grilla (15 x 20 m), con 30 puntos. En cada punto se tomaron 15 plantas para un total de 450 individuos evaluados por lote. Cada uno de los puntos fue georreferenciado usando el dispositivo GPS Reach RS2® (EMLID, HU). La toma de datos se realizó a partir de los 60 - 65 días después de la siembra (dds) con una frecuencia semanal hasta los 100 a 110 dds.

La severidad de la enfermedad fue evaluada en cada una de las plantas, asignando a cada individuo (planta) un nivel de la escala propuesta para MT en papa por Hunter et al. (1968), constituida por 5 niveles donde, 0 = sin síntomas de enfermedad, 1 = marchitamiento leve y decoloración de las hojas inferiores, 2 = marchitamiento moderado que involucra menos de la mitad de las hojas en las plantas, 3 = marchitamiento severo que involucra más de la mitad de las hojas en las plantas, 4 = planta muerta. Con los datos obtenidos se calcularon las siguientes variables: (i) incidencia como la razón del número de plantas enfermas entre el total de plantas evaluadas por lote para cada muestreo, (ii) severidad en términos del índice de severidad calculado según la ecuación 3-1 para cada muestreo y (iii) área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) con base en la ecuación 3-2 a partir de los valores de incidencia (Madden et al., 2017).

$$DSI = \frac{\sum(n * v)}{N * c} \quad \text{Ecuación 3-1}$$

Donde: Σ : sumatoria de n observaciones, n: número de individuos en el nivel de la escala de severidad v, v: nivel de severidad, N: número total de plantas evaluadas y c: severidad máxima.

El índice de severidad obtenido en cada caso consideró el número de individuos calificados con valores de 0, 1, 2, 3 y 4 dependiendo del nivel de afectación de la escala (Hunter et al., 1968) y la cantidad total de individuos evaluados.

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) * (t_{i+1} - t_i) \quad \text{Ecuación 3-2}$$

Donde: Σ : sumatoria de n observaciones, i: iésima observación, y_i : nivel de incidencia en la iésima observación, t_i : tiempo en la iésima observación o muestreo.

3.1.3 Análisis temporal de la MT

Para evaluar el progreso temporal de MT de la papa, se utilizó la incidencia en términos de porcentaje (0 a 100) como medida de la enfermedad en función del tiempo. A partir de las curvas de progreso obtenidas, se ajustaron a los modelos exponencial (ecuación 3-3), monomolecular (ecuación 3-4), logístico (ecuación 3-5), y Gompertz (ecuación 3-6). Modelos que se utilizan comúnmente en epidemiología de plantas, para realizar la caracterización temporal de epidemias (Campbell y Madden, 1990). Para estimar los parámetros de los modelos se utilizó la metodología de mínimos cuadrados ordinarios implementada con la librería Epifitter en el software libre R (Alves y Del Ponte, 2021). Se calculó el error cuadrático medio (RSE, por sus siglas en inglés), r^2 y el coeficiente de correlación de concordancia de Lin (CC) como parámetros de selección de los modelos con mejor ajuste a la curva de progreso en cada lote evaluado. Asimismo, para todos los modelos se analizaron los residuales para garantizar los supuestos de normalidad, independencia y varianzas constantes de los errores con un nivel de significancia del 95% (Madden et al., 2017).

$$y = y_0 \exp(rt) \quad \text{Ecuación 3-3 Modelo exponencial}$$

$$y = y_0 rt \quad \text{Ecuación 3-4 Modelo monomolecular}$$

$$y = y_0 e^{rt} \quad \text{Ecuación 3-5 Modelo logístico}$$

$$y = ry_0[-\ln(y_0)] \quad \text{Ecuación 3-6 Modelo Gompertz}$$

Donde y representa la incidencia de la enfermedad en un rango de 0 a 100, t es el tiempo en días después de siembra (dds), r es la tasa de crecimiento de la enfermedad y y_0 es la incidencia inicial de la enfermedad.

3.1.4 Análisis espacial de la MT

El mapeo de la enfermedad se realizó tomando la posición de cada planta evaluada en cada uno de los lotes, asignando las coordenadas obtenidas con el GPS de precisión. Los datos de la enfermedad utilizados fueron presencia (1) y ausencia (0) de plantas con síntomas. Con esta información se realizaron análisis espaciales que se describen a continuación.

Se estimó la agregación con los índices de Fisher (Fisher et al., 1922; Madden y Hughes, 1995) y Morisita (Morisita, 1959) que pueden ser calculados para variables nominales (sanos (0) y enfermos (1)), donde valores <1 , $=1$ y >1 indican un patrón uniforme, aleatorio y agregado respectivamente. Las pruebas Chi cuadrado y Z test se calcularon para evaluar la hipótesis nula donde el índice es igual a uno. Adicionalmente, con los datos de incidencia por punto de muestreo (valores de 0 a 15) se calculó la frecuencia, para posteriormente evaluar el ajuste de las distribuciones binomial (aleatorio) y beta-binomial (agregado) (Hughes y Madden, 1993). Las pruebas de bondad de ajuste χ^2 y máxima verosimilitud fueron usadas como medidas de evaluación, en las cuales valores de p-valor $> 0,05$ indican el ajuste respecto a cada una de las distribuciones evaluadas (Hughes y Madden, 1993). Para determinar el tipo de distribución espacial, se calcularon los índices de agregación y el ajuste de las frecuencias desde el primer muestreo.

Teniendo en cuenta que la variable de respuesta fue de tipo conteo (nominal-dicotómica), con distribución aleatoria en el espacio, se utilizó el análisis espacial por indicadores de distancia (SADIE), el cual es un método de tipo patrón puntual (Cressie, 1993). SADIE calcula índices y probabilidades en función de la distancia más regular para el patrón espacial observado y un número de permutaciones aleatorias de este patrón (Perry, 1995; Perry et al., 1999; Winder et al., 2019). Este índice muestra la probabilidad de que un determinado fenómeno ocurra en el espacio (Ledo et al., 2012).

En este trabajo se utilizaron los parámetros estadísticos de SADIE del índice absoluto, índice de rango y la representación gráfica que se basa en el índice llamado “red-blue plots”, el cual permite detectar las agrupaciones (clusters) del fenómeno de interés y facilitan la definición de su tamaño y dimensión (Perry et al., 1999). La interpretación biológica de estos índices está asociada a que valores superiores a 1,5 indican agregación del fenómeno evaluado, mostrando áreas donde se encuentra la fuente de inóculo o plantas enfermas (círculos rojos); valores inferiores a -1,5 indican la agregación del caso contrario, es decir, plantas sanas (círculos azules), que representan áreas que potencialmente pueden infectarse (González-Concha et al., 2021). Por otro lado, valores entre -1,5 y 1,5 indican áreas de intersección de los dos fenómenos (González-Concha et al., 2021). El tamaño de los círculos en el índice absoluto indica el tamaño, la intensidad y la dimensión del fenómeno, ya sean zonas sanas o infectadas. Para conocer la distribución de las áreas sanas - enfermas en cada lote, los “red-blue plots” se evaluaron en los últimos dos muestreos.

Los análisis realizados se desarrollaron con el software libre R utilizando las librerías Epiphy (Gigot, 2018) y gstat (Pebesma y Wesseling, 1998; Pebesma, 2004).

3.1.5 Modelos de interpolación espacial aplicados al análisis de la MT

Dado que los datos de presencia y ausencia de la enfermedad no cumplieron los principios básicos para aplicar los métodos de geoestadística tradicional, como ser una variable continua con distribución normal (Cressie, 1993), se implementó el denominado kriging de indicadores con el fin de emplear un método para la interpolación sin incumplir las asunciones. Este método no hace suposiciones sobre la distribución invariante subyacente, y las transformaciones de datos de indicadores presencia-ausencia hacen que el predictor sea robusto frente a valores atípicos (Cressie, 1993). Igualmente, permite que los datos se utilicen a través de su orden de clasificación, mediante un enfoque no paramétrico de la distribución bivariada de los datos, así entonces permitiendo conocer distribuciones espaciales locales y globales (Journel, 1983).

El kriging de indicadores se utilizó para generar mapas de distribución de MT en el tiempo, en los lotes evaluados. Para esto, se generó como umbral de la enfermedad la presencia de plantas con síntomas de marchitamiento. La semivarianza se obtuvo a partir de la función definida en la ecuación 3-7.

$$\gamma(h) = \frac{1}{2n(h)} \sum [Z(x_i) - Z(x_{i+h})]^2 \quad \text{Ecuación 3-7}$$

Donde $\gamma(h)$ es el valor de la función de semivarianza a una distancia h , $n(h)$ es la cantidad de puntos que se pueden formar (x_i, x_{i+h}) , $Z(x_i)$ y $Z(x_{i+h})$ son los valores obtenidos para la variable en la posición x_i y x_{i+h} respectivamente y h es la distancia de separación entre dos puntos.

En la semivarianza se definieron tres parámetros: el nugget (C_0), la silla ($C_0 + C$) y el rango (A). Posteriormente, se evaluó el ajuste de los modelos esférico, gaussiano, exponencial y nugget al semivariograma empírico con la metodología de mínimos cuadrados. Para evaluar la precisión del modelo se utilizó la raíz del error cuadrático medio (RMSE, por sus siglas en Inglés) (Huang et al., 2021). Por su parte, la interpolación usando el kriging indicador se realizó mediante el semivariograma experimental para estimar la correlación espacial de la variable y el ajuste a los modelos teóricos. La predicción espacial de la variable Z en un punto X sin muestrear se obtuvo mediante la ecuación 3-8 con el modelo seleccionado previamente sobre el semivariograma experimental. Adicionalmente, se realizó una validación cruzada *leave one out* para evaluar la predicción del modelo (Steere et al. 2015).

$$Z(X_0) = \sum_{i=1}^n \lambda_i Z(X_i) \quad \text{Ecuación 3-8}$$

Donde, Z es la variable de interés a predecir en las coordenadas X_i y X_0 , n es el número de vecinos asociados con la muestra, λ es el peso asociado con el punto X_i en la i ésima observación (Stein, 2012).

La semivarianza, los parámetros y la interpolación se calcularon con las funciones `fit.variogram`, `krige.cv` y `krige` del paquete `gstat` en el software R 4,2,1 y los mapas fueron desarrollados en ArcGis 10,7.

3.1.6 Evaluación de la producción y calidad de plantas con MT

Plantas sanas y con síntomas de MT fueron seleccionadas y marcadas entre los 100 y 110 dds en los lotes de Mosquera, Funza, Zipaquirá_20, Subachoque_1 y subachoque_3. En cada lote se seleccionaron plantas con todos los niveles de severidad de MT a los 110 dds según la escala descrita previamente y de acuerdo con la disponibilidad del agricultor para la evaluación en la cosecha. El número de plantas enfermas y sanas a cosechar en cada lote fue igual, sin embargo, la cantidad varió entre lotes: 16 sanas y 16 enfermas en Mosquera, 22 sanas y 22 enfermas en Funza, 10 sanas y 10 enfermas en Zipaquirá_20, 20 sanas y 20 enfermas en Subachoque_2 y 50 sanas y 50 enfermas en Subachoque_3. En Zipaquirá_21 no se realizó la recolección de tubérculos debido a la baja incidencia de la enfermedad.

Al momento de la cosecha para venta comercial se realizó la recolección de todos los tubérculos producidos por cada planta marcada. Posteriormente, los tubérculos fueron clasificados por peso y tamaño en las categorías cero, primera, segunda y tercera de acuerdo con la Norma técnica colombiana 341 de 2018. Se registró el número de tubérculos y el peso por categoría para su posterior análisis. Las categorías cero y primera se agruparon debido a la baja cantidad de tubérculos clasificados como cero.

Para estimar la pérdida causada por MT, se tomó por cada lote la incidencia a los 110 dds y la producción promedio en peso de plantas sanas y enfermas. Asumiendo una densidad de siembra de 23.000 plantas por hectárea según Núñez et al., (2020), se calculó la cantidad de plantas enfermas y sanas en una hectárea y se estimó la producción en peso. La pérdida en producción por hectárea a causa de *Verticillium* spp. se calculó como la diferencia de estos dos valores. Los resultados obtenidos se asociaron con los parámetros de tasa de progreso de la enfermedad, severidad, tipo de patrón espacial y el rango del semivariograma.

El análisis de los datos se realizó a partir de una prueba de Kruskal-Wallis, como método no paramétrico, para comparar la calidad de los tubérculos entre plantas sanas y enfermas por lote usando el software R 4.2.1

3.2 Resultados

3.2.1 Dinámica temporal de la MT

En todos los lotes evaluados se reportaron síntomas de MT por *Verticillium* asociados a decoloración, clorosis, pérdida de turgencia y necrosis (Figura suplementaria 3-1). Los primeros síntomas de la enfermedad se reportaron entre los 62 a 80 dds como clorosis intervenal de folíolos de hojas bajas de forma unilateral, las cuales luego presentaron necrosis seca en el borde (Figura suplementaria 3-1B). Posteriormente, se observó hiponastia de las zonas necróticas y los síntomas avanzaron hasta comprometer todos los folíolos de las hojas de la parte baja de la planta (Figura suplementaria 3-1C). Los síntomas ascendieron de forma gradual y todas las hojas tomaron un aspecto marchito (Figura suplementaria 3-1C). Finalmente, las hojas secas y enrolladas permanecieron adheridas al tallo, el cual permaneció erguido (Figura suplementaria 3-1D).

En las curvas de progreso de la enfermedad se observó un comportamiento variable entre los lotes evaluados (Figura 3-1A y B). La dinámica temporal de la MT en Subachoque_1 y Subachoque_2 presentaron un comportamiento similar respecto a la aparición de los primeros síntomas, al igual que el progreso de la incidencia y el índice de severidad (Figura 3-1A y B). En el lote de Zipaquirá, el cual fue evaluado en dos ciclos continuos, se presentaron niveles de la enfermedad contrastantes; para el primer y segundo ciclo la incidencia tuvo un valor de 16,9% y 0,4% respectivamente a los 110 dds, lo cual representa una diferencia del 16,5% entre los ciclos (Figura 3-1A). En el caso de Mosquera se observó un crecimiento rápido entre los 85 y 100 dds alcanzando niveles de 67% de incidencia y 0,5 en el índice de severidad, mientras que en Funza el crecimiento fue constante entre los 80 y 100 dds con un máximo de 42% de incidencia y 1 de índice de severidad (Figura 3-1A y B).

Se encontró que los mayores valores del índice de severidad se presentaron en los lotes de Mosquera y Funza, mientras que el lote de Zipaquirá_21 presentó los menores valores (Figura 3-1 C). Respecto al AUDPC, los valores superiores se observaron para los lotes de Mosquera, Zipaquirá_20 y Funza, mientras que Zipaquirá_21 y Subachoque_2 presentaron los menores valores (Figura 3-1D).

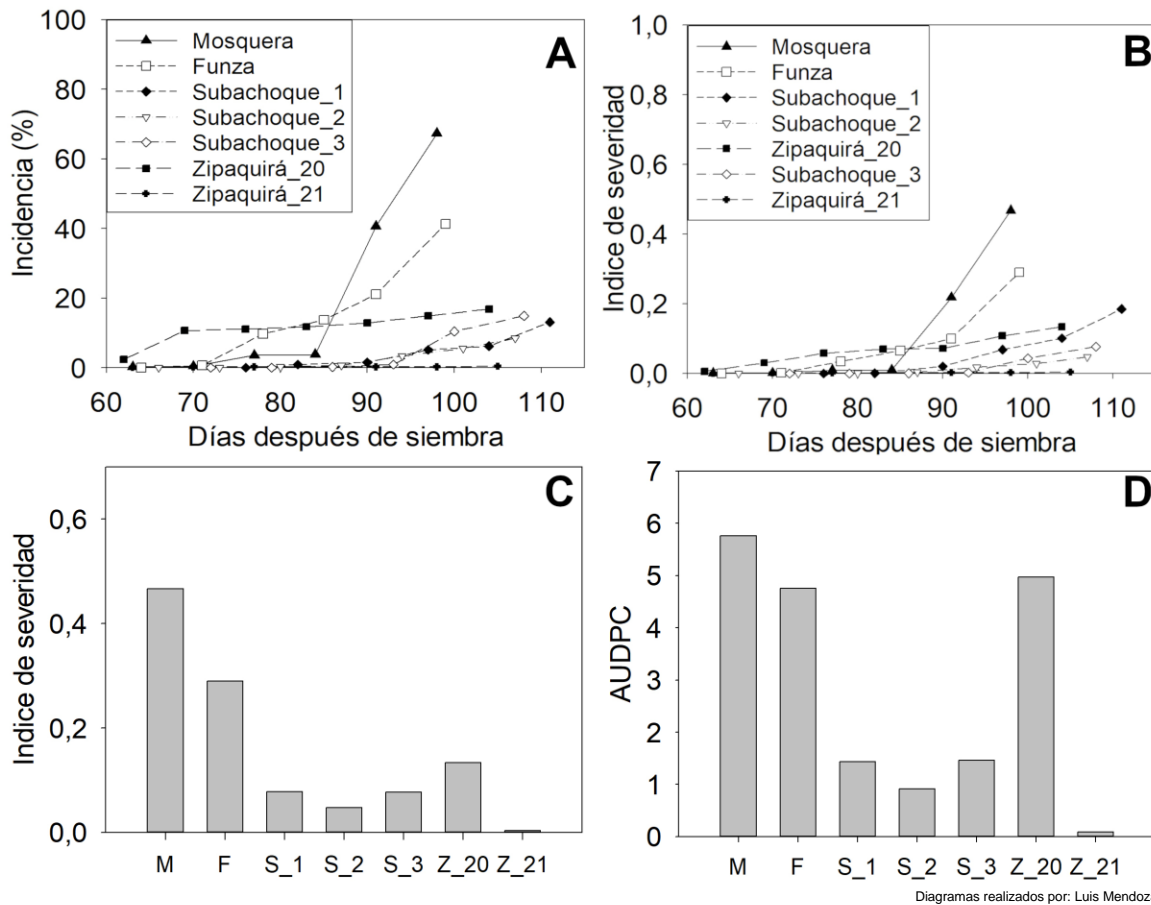


Figura 3-1. Dinámica temporal de variables de intensidad de marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* spp. en lotes de producción comercial de papa var. Diacol Capiro en Cundinamarca. **A.** Curvas de progreso de la incidencia, **B.** Curvas de progreso de la severidad, **C.** Índice de severidad determinado a partir de valores absolutos de la escala a los 110 dds, y **D.** AUDPC. F: Funza, M: Mosquera, S: Subachoque y Z: Zipaquirá.

La estimación de los parámetros de la capacidad predictiva de los modelos (r^2 , RSE y CC) indicaron que los modelos logísticos, exponencial y monomolecular fueron los que mejor se ajustaron a los datos de progresos de la enfermedad, evaluados para la incidencia como medida temporal de la intensidad de MT en papa (Tabla 3-1). En las epidemias de Mosquera, Funza, Subachoque_2 y Subachoque_3 el modelo que mejor representa las curvas de progreso de la MT fue el logístico (Figura 3-3A), con los valores más altos para el CC y menores RSE (Tabla 3-1). Para los lotes de Zipaquirá_20 y Zipaquirá_21 el monomolecular fue el de mejor ajuste, mientras que, el exponencial represento mejor la epidemia en Subachoque_1 (Figura 3-3B). La tasa de progreso de la enfermedad (r) osciló

entre 0,001 a 0,192, siendo superior para el lote de Mosquera y menor en el caso de Zipaquirá_21.

Tabla 3-1. Ajuste de las curvas de progreso de la incidencia de la marchitez temprana de la papa en lotes comerciales a modelos matemáticos temporales de crecimiento.

Lote	Modelo	a	r²	RSE	CC
Mosquera	Exponencial	0,119	0,95	0,07	0,97
	Gompertz	0,037	0,83	0,18	0,74
	logístico	0,192	0,98	0,05	0,99
	Monomolecular	0,020	0,66	0,18	0,78
Funza	Exponencial	0,084	0,98	0,02	0,99
	Gompertz	0,032	0,96	0,06	0,92
	Logístico	0,109	0,98	0,02	0,99
	Monomolecular	0,013	0,86	0,06	0,92
Zipaquirá_20	Exponencial	0,022	0,76	0,02	0,86
	Gompertz	0,011	0,78	0,02	0,87
	logístico	0,025	0,76	0,02	0,86
	Monomolecular	0,003	0,82	0,02	0,90
Zipaquirá_21	Exponencial	0,019	0,34	0,02	0,48
	Gompertz	0,004	0,35	0,02	0,50
	logístico	0,020	0,34	0,02	0,48
	Monomolecular	0,001	0,41	0,02	0,58
Subachoque_1	Exponencial	0,089	0,98	0,01	0,99
	Gompertz	0,021	0,96	0,02	0,94
	logístico	0,095	0,97	0,01	0,99
	Monomolecular	0,004	0,85	0,02	0,92
Subachoque_2	Exponencial	0,091	0,98	0,01	0,99
	Gompertz	0,021	0,98	0,01	0,97
	logístico	0,096	0,98	0,01	0,99
	Monomolecular	0,002	0,82	0,02	0,90
Subachoque_3	Exponencial	0,103	0,90	0,02	0,94
	Gompertz	0,023	0,90	0,03	0,86
	logístico	0,113	0,91	0,02	0,95
	Monomolecular	0,004	0,75	0,04	0,85

a: tasa de progreso de la enfermedad, RSE: error cuadrático medio y CC: coeficiente de correlación de concordancia de Lin.

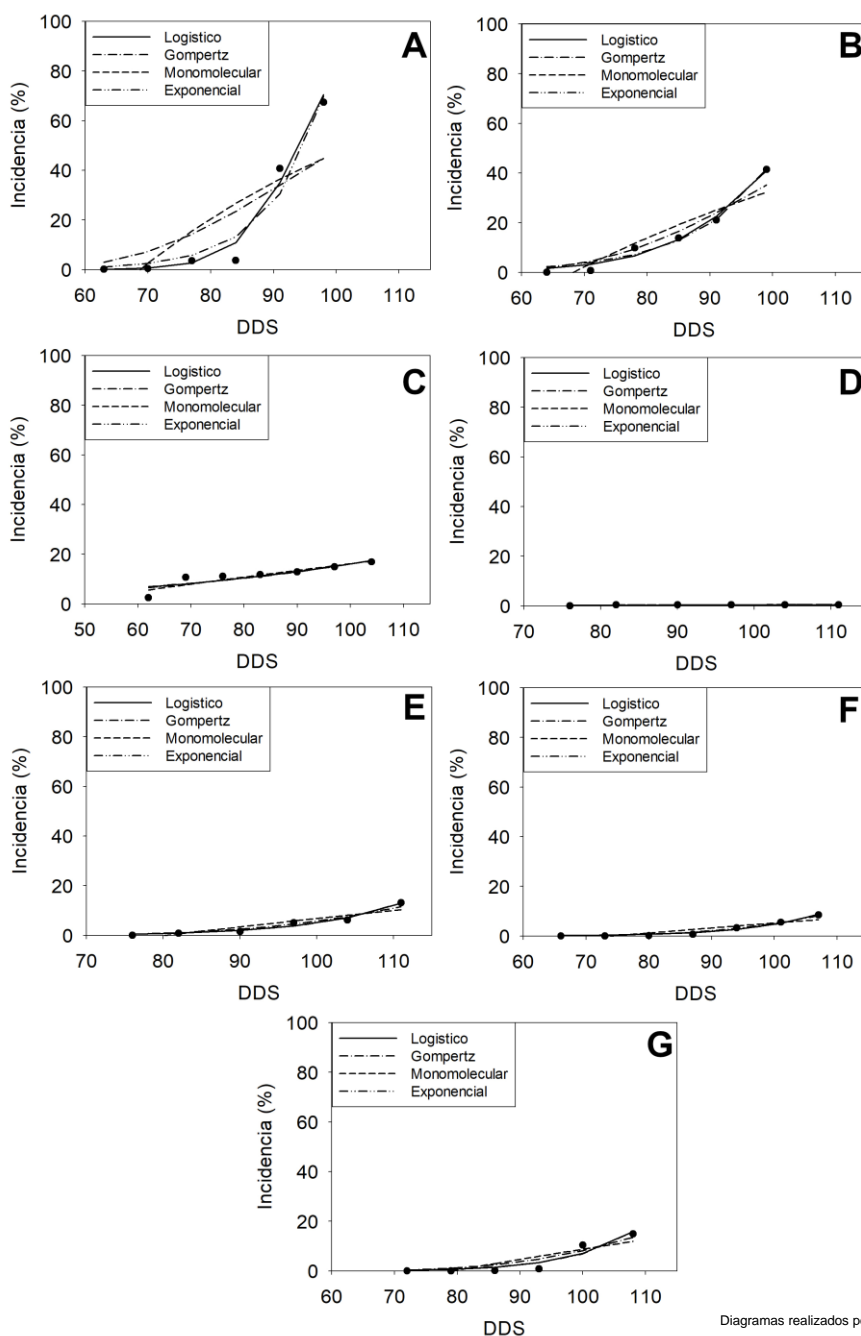
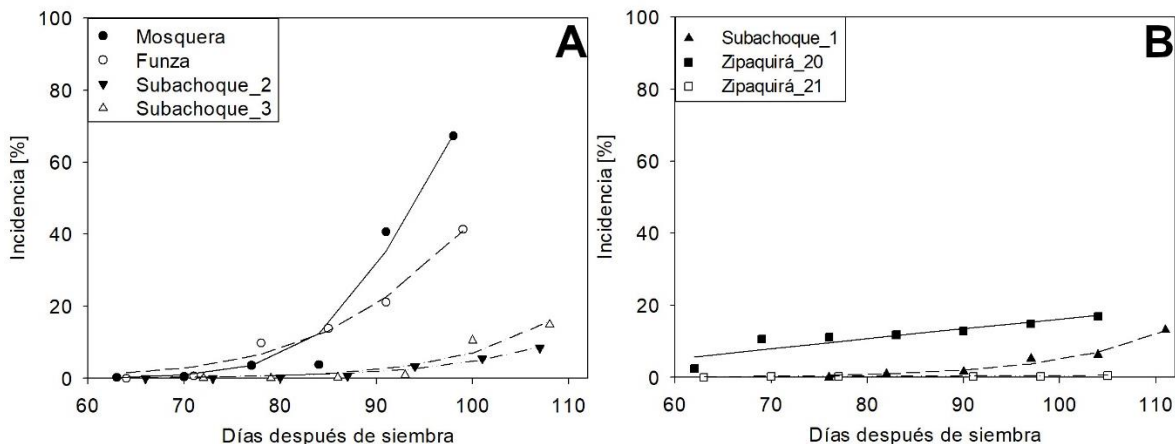


Figura 3-2. Ajuste de modelos matemáticos a las curvas de progreso de la marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* en **A.** Mosquera, **B.** Funza, **C.** Zipaquirá_20, **D.** Zipaquirá_21, **E.** Subachoque_1, **F.** Subachoque_2, **G.** Subachoque_3.



Diagramas realizados por: Luis Mendoza

Figura 3-3. Ajuste de modelos matemáticos a las curvas de progreso de la enfermedad causada por *Verticillium* en lotes comerciales de papa. **A.** Modelos logísticos y **B.** Modelo exponencial (Subachoque_1) y monomolecular (Zapaquirá_20 y Zapaquirá_21). Los símbolos representan la incidencia observada y las líneas la incidencia predicha por el modelo.

3.2.2 Comportamiento espacial de la MT

En los lotes comerciales evaluados se encontraron patrones de distribución agregados y aleatorios de las plantas de papa afectadas por MT. En Mosquera, Zapaquirá_20 y Subachoque_1 se encontró un patrón agregado entre los 82 y 104 dds con índices de Morisita y Fisher que tuvieron valores superiores a uno y pruebas de Chi cuadrado y Z-test significativas ($p < 0,05$), el ajuste a la distribución beta binomial ($p > 0,05$) y el $I_a > 1$ con valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$) (Tabla 3-2). En el caso de Funza a los 99 dds se presentó un patrón agregado, mientras que, entre los 78 a 85 dds se encontró una distribución aleatoria con valores de Morisita y Fisher cercanos a uno (Chi cuadrado $> 0,05$ y Z-test $> 0,05$), ajuste a la distribución binomial ($p > 0,05$) y el índice I_a cercano a 1 ($P_a > 0,05$) (Tabla 3-2). Para Zapaquirá_21, Subachoque_2 y Subachoque_3 el patrón de distribución fue aleatorio en todo el período evaluado (Tabla 3-2).

Tabla 3-2. Estadísticos del patrón espacial basados en cuadrantes y distancias de la incidencia de la marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* en tres lotes de producción comercial en Cundinamarca. Chi-Q, Z-test, Binom (binomial), Beta_B (beta binomial) y P_a son significativos cuando <0,05.

Lote	DDS	Morisita	Fisher	Chi-q	Z-test	Binom	Beta_B	I _a	P _a
Mosquera	77	1,014	0,970	0,51	0,905	1	1	1,531	0,04*
	84	3,773	2,490	0,00*	0,00*	0,00*	0,17	1,603	0,00*
	91	1,494	5,895	0,00*	0,00*	0,00*	0,91	2,412	0,00*
	98	1,105	4,125	0,00*	0,00*	0,00*	0,36	1,981	0,00*
Funza	78	1,017	1,028	0,423	0,911	1	1	0,952	0,49
	85	1,136	1,313	0,120	0,217	0,99	1	1,012	0,37
	91	1,164	1,631	0,017*	0,013*	0,73	0,99	1,030	0,39
	99	1,145	2,472	0,000*	0,000*	0,00*	0,83	1,552	0,05*
Zipaquirá_20	83	1,164	1,313	0,12	0,217	0,99	0,99	1,672	0,00*
	90	1,610	2,290	0,00*	0,00*	0,00*	0,98	1,883	0,00*
	97	1,538	2,347	0,00*	0,00*	0,00*	0,94	1,966	0,00*
	104	1,587	2,710	0,00*	0,00*	0,00*	0,94	2,090	0,00*
Zipaquirá_21	84	0	0,969	0,511	0,905	NA	NA	1,214	0,08
	91	0	0,969	0,511	0,905	NA	NA	1,164	0,13
	98	0	0,969	0,511	0,905	NA	NA	1,158	0,14
	105	0	0,969	0,511	0,905	NA	NA	1,182	0,12
Subachoque_1	82	2,345	2,307	0,000*	0,000*	0,01*	0,94	2,345	0,00*
	90	2,515	3,952	0,000*	0,000*	0,00*	0,32	2,515	0,00*
	97	2,639	6,141	0,000*	0,000*	0,00*	0,00	2,639	0,00*
	104	2,065	4,096	0,000*	0,000*	0,00*	0,00	2,065	0,00*
Subachoque_2	87	1,010	0,937	0,56	0,81	1	1	1,044	0,32
	94	1,527	1,249	0,16	0,33	1	1	1,139	0,22
	101	1,817	1,672	0,01*	0,01*	0,00*	0,99	1,276	0,12
	107	1,342	1,461	0,05	0,07	0,93	0,99	1,123	0,26
Subachoque_3	86	1,0	1,002	0,463	0,993	1	1	0,791	0,89
	93	1,0	0,911	0,609	0,716	1	1	0,822	0,82
	100	1,107	1,168	0,239	0,494	1	1	0,801	0,80
	108	1,28	1,660	0,012*	0,007*	0,149	0,994	0,894	0,65

La representación de los índices espaciales SADIE para cada lote se muestra en la figura 3-4. En Mosquera, Funza, Zipaquirá_20 y Subachoque_1 se observa agregación plantas enfermas, representado por casos positivos (círculos rojos) que aumenta de tamaño en el tiempo (figura 3-4A, B, C, D, E, F, I, J). La distribución de la enfermedad en parches es particular en cada caso; en Mosquera se agrega en la zona sur, norte y oriente, en Funza se ubica en el sur y oriente, en Zipaquirá_20 en el sur y norte, y en Subachoque_1 en el

norte. Para Subachoque_2 y Subachoque_3 la cantidad y distribución de la enfermedad es menor, lo cual se representa con la baja presencia de círculos rojos, mientras que se observa agregación de zonas sanas (círculos azules) y de intersección de ambos fenómenos (círculos blancos) las cuales se distribuyen en todo el lote (figura 3-4K, L, M, N).

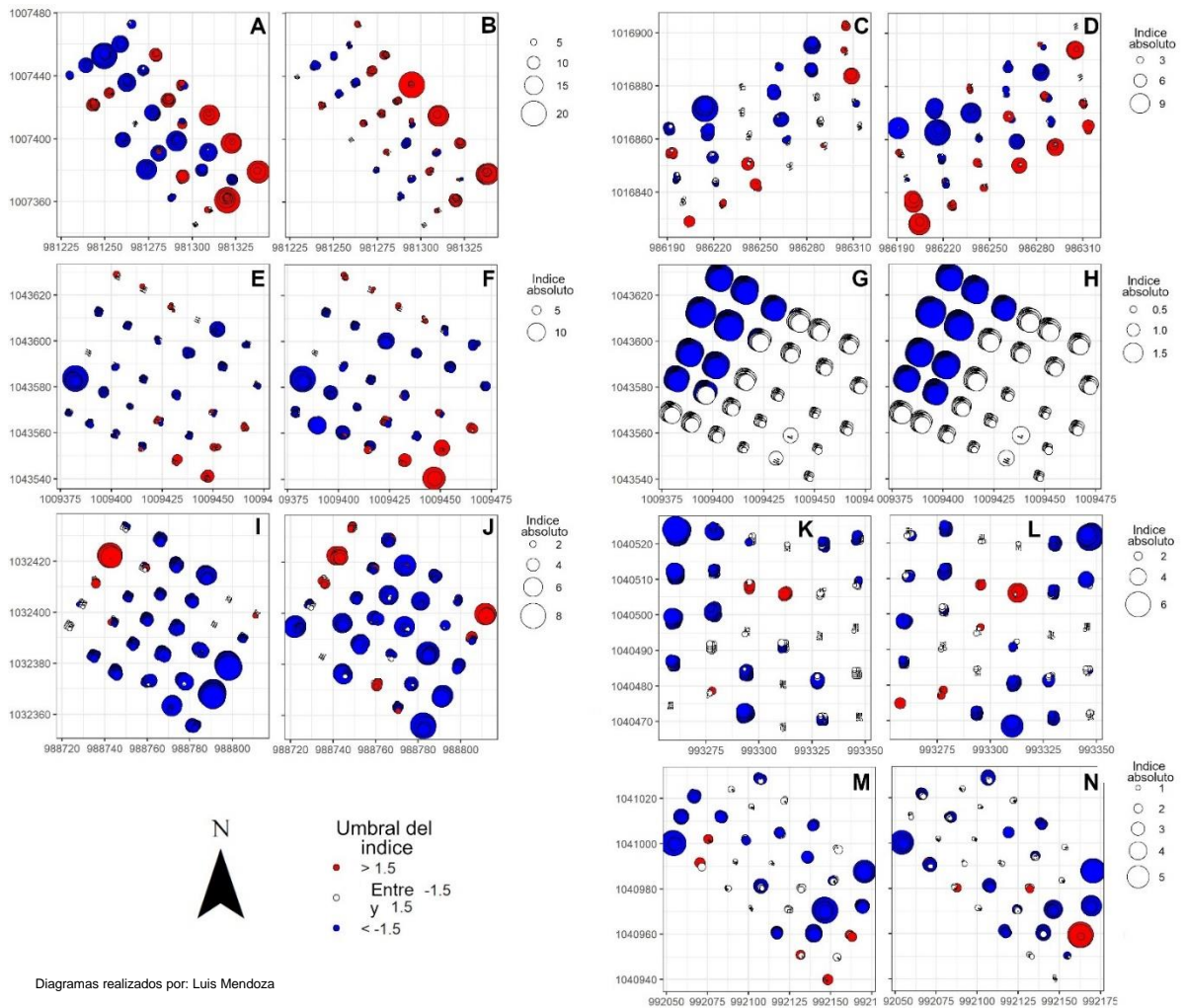


Figura 3-4. Índices espaciales SADIE (red-blue plots) para **A.** Mosquera 91 dds y **B.** 98 dds, **C.** Funza 91 dds y **D.** 99 dds, **E.** Zipaquirá_20 97 dds y **F.** 104 dds, **G.** Zipaquirá_21 98 dds y **H.** 105 dds, **I.** Subachoque_1 97 dds y **J.** 104 dds, **K.** Subachoque_2 dds 101 y **L.** 107 dds, **M.** Subachoque_3 100 dds y **N.** 108 dds.

Los mapas de presencia de la enfermedad a partir de kriging indicador mostraron variación de la probabilidad de aparición de plantas sintomáticas (presencias confirmadas) en cada

uno de los lotes evaluados. Los modelos que presentaron el mejor ajuste de la semivarianza observada fueron el esférico para Mosquera, Zipaquirá_20, Zipaquirá_21 y Subachoque_1, el gaussiano para Subachoque_2 y el exponencial en Funza y Subachoque_3 (Tabla 3-3). El rango o potencial capacidad de dispersión de la ML presentó una alta variación según el modelo ajustado, con valores entre 0,11 a 41,07 m. Estos valores indican la autocorrelación espacial entre las plantas afectadas por *Verticillium*.

Tabla 3-3. Modelos geoestadísticos de ajuste espacial y parámetros de los semivariogramas empíricos relacionados con la incidencia de plantas con síntomas de marchitez temprana de la papa causada por *Verticillium* spp. en lotes de producción comercial en Cundinamarca.

Lote	DDS ¹	Modelo	Nugget	Meseta	Rango (m)
Mosquera	91	Esférico	0,1415	0,1076	7,92
	98	Esférico	0,1642	0,0636	16,41
Funza	91	Exponencial	0	0,1654	0,11
	99	Exponencial	0,2061	0,0334	2,91
Zipaquirá_20	97	Esférico	0,1131	0,0010	4,41
	104	Esférico	0,0987	0,0344	2,65
Zipaquirá_21	98	Esférico	0,0044	0,0003	13,41
	105	Esférico	0,0044	0,0003	13,41
Subachoque_1	97	Esférico	0,0351	0,0214	10,24
	104	Esférico	0,0512	0,0554	2,80
Subachoque_2	101	Gaussiano	0,0499	0,0286	41,07
	107	Gaussiano	0,0749	0,0278	35,12
Subachoque_3	100	Nugget	0,087	0	0
	108	Exponencial	0	0,1229	2,50

¹DDS: días después de siembra

La modelación espacial usando el método de interpolación de tipo krigin indicador, indica que la presencia de la enfermedad mostró un comportamiento diferencial para cada lote evaluado (Figura 3-5). En Mosquera entre los 91 y 98 dds se encontraron las probabilidades más altas (0,8 a 1), que aumentaron en cantidad y área en el tiempo, siendo la zona oriental la más afectada por la enfermedad a los 98 dds (Figura 3-5A y B). Para Zipaquirá_20 y Zipaquirá_21 los valores fueron contrastantes, en el primer ciclo (Z_20) la probabilidad en el sur y norte se mantuvo entre 0,2 y 0,6 a los 97 y 104 dds (Figura 3-5E y F), mientras que en el segundo ciclo (Z_21) los valores fueron de 0 a 0,1 en todo el lote

(Figura 3-5G y H). Para Subachoque_2 valores de probabilidad entre 0,1 y 0,4 se localizan en la parte central del lote (Figura 3-5K y L), mientras que en Subachoque_3 las zonas con probabilidades medias (entre 0,1 a 0,4) son generalizadas en todo el lote y se mantienen entre los 100 y 108 dds (Figura 3-5M y N).

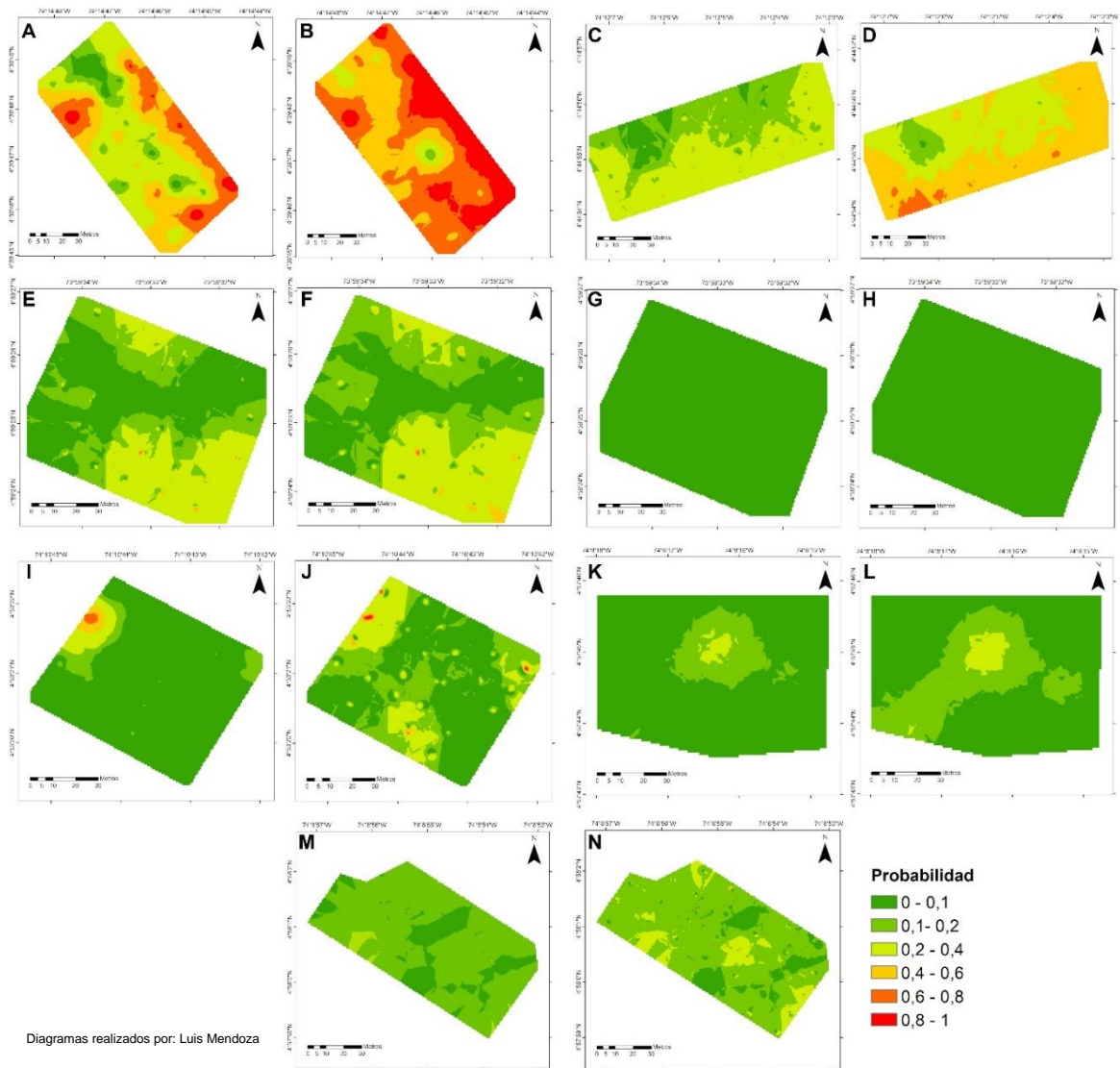


Figura 3-5. Mapas de distribución de la marchitez temprana de la papa en lotes comerciales (kriging indicador) para **A.** Mosquera 91 dds y **B.** 98 dds, **C.** Funza 91 dds y **D.** 99 dds, **E.** Zipaquirá_20 97 dds y **F.** 104 dds, **G.** Zipaquirá_21 98 dds y **H.** 105 dds, **I.** Subachoque_1 97 dds y **J.** 104 dds, **K.** Subachoque_2 101 dds y **L.** 107 dds, **M.** Subachoque_3 100 dds y **N.** 108 dds.

3.2.3 Efectos sobre la producción y de calidad de plantas afectadas por marchitez temprana

Para el componente de producción asociado a tubérculos por planta y calidad (calibre) se encontró que, en los lotes de Mosquera, Funza, Zipaquirá_20 y Subachoque_3 se redujo la cantidad de tubérculos en la categoría cero y primera en plantas con síntomas de MT respecto a las plantas sanas ($p < 0,05$) (figura 3-6A, C, E y G). Para el lote de Subachoque_2 los datos indican que el número de tubérculos en segunda y el total fueron menores en plantas afectadas por MT con respecto a los obtenidos en plantas sanas ($p < 0,01$) (figura 3-6G). En los lotes de Mosquera y Funza disminuyó el número total de tubérculos formados por planta, en plantas enfermas (figura 3-6 A y C). Por otro lado, el peso de los tubérculos por planta indicó que el total y las categorías cero y primera fueron menores en plantas con síntomas de MT respecto a las plantas sanas ($p < 0,05$) en los lotes de Mosquera, Funza, Subachoque_2 y Subachoque_3 (figura 3-6B, D, H y J). En el lote de Zipaquirá_1 no se encontraron diferencias significativas entre las plantas sanas y afectadas por MT ($p > 0,05$) (figura 3-6F). En general, la disminución causada por MT en el número de tubérculos por planta estuvo en un rango entre el 14 y 33%, mientras que en peso la reducción encontrada fue entre el 24 y 46% por planta.

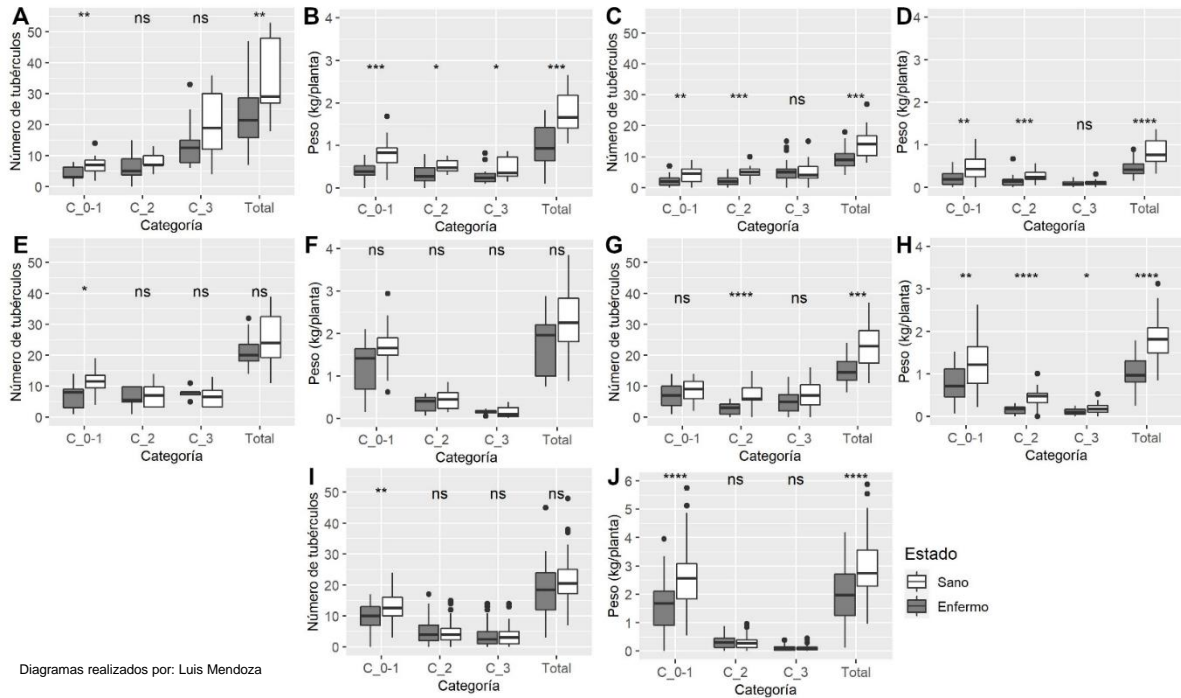


Figura 3-6. Número y peso de tubérculos cosechados por planta sana o con síntomas de marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en lotes comerciales de papa var. Diacol Capiro. **A y B.** Mosquera, **C y D.** Funza, **E y F.** Zipaquirá_20, **G y H.** Subachoque_2, **I y J.** Subachoque_3.

La evaluación de la producción total por planta en cada lote respecto a la severidad agrupada en alta (niveles 3 y 4) y baja (niveles 1 y 2) se presenta en la Figura 3-7. Se encontró que los lotes de Funza, Mosquera, Subachoque_3 y Subachoque_2 presentaron menor número y peso de tubérculos en las plantas enfermas respecto a las sanas con ambos niveles de severidad (Figura 3-7A, B, C y D). En cuanto al peso de los tubérculos por planta, la diferencia entre plantas sanas y con severidad alta fue altamente significativa ($p < 0,001$) mientras que con respecto a la severidad baja fue significativa ($p < 0,05$) en los lotes de Mosquera y Subachoque_3 (Figura 3-7 B y D). Este comportamiento también se observó para el número de tubérculos de Subachoque_2, donde plantas con severidad alta tuvieron una diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), mientras que fue significativa para la severidad baja ($p < 0,05$) (Figura 3-7 B y D). Sin embargo, esta tendencia no se presentó en todos los lotes.

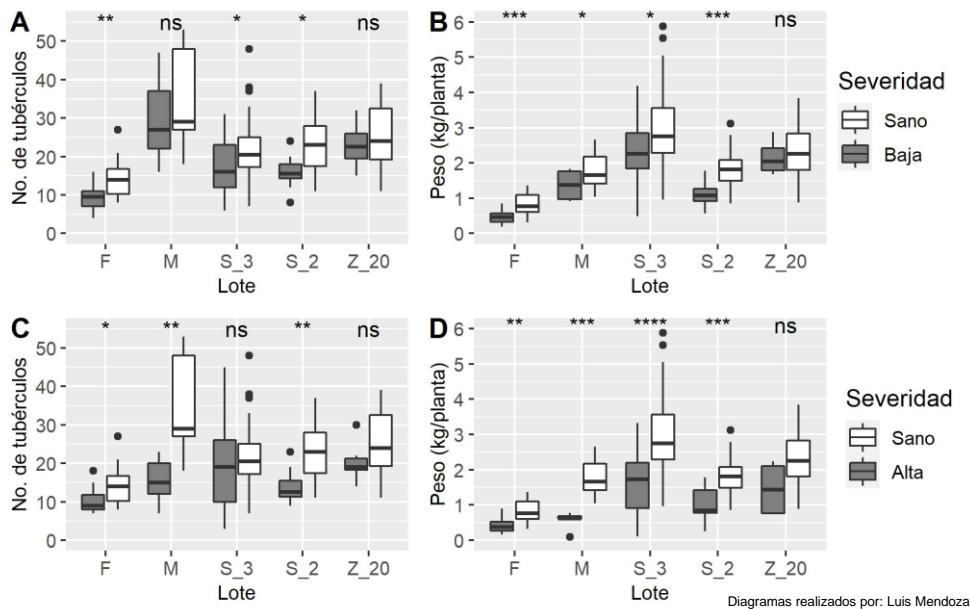


Figura 3-7. Número y peso total de tubérculos cosechados por planta sana o afectada según el nivel de severidad de marchitez temprana causada por *Verticillium* sp. en lotes comerciales de papa var. Diacol Capiro a los 110 dds. **A.** y **B.** Severidad baja (niveles 1 y 2), **C.** y **D.** Severidad alta (niveles 3 y 4). F: Funza, M: Mosquera, S: Subachoque y Z: Zipaquirá.

Para la estimación de las pérdidas causadas por la MT se tuvo en cuenta la incidencia en cada lote y la diferencia en la producción de plantas sanas y enfermas. Se encontró que las pérdidas estimadas fueron entre 0,8 y 6,2 ton ha⁻¹, siendo superior en Mosquera donde la incidencia fue de 67,3% (Tabla 3-4). La menor pérdida se registró en el lote de Subachoque_2 que tuvo menor incidencia y severidad de MT (Tabla 3-4). Para los lotes de Mosquera, Funza y Subachoque_3 se observa un comportamiento similar entre la tasa de progreso de la enfermedad y las pérdidas estimadas, siendo mayor en Mosquera y con valores cercanos entre Funza y Subachoque_3 (Tabla 3-4). En este sentido, las pérdidas a nivel de lote fueron entre el 5 y 30%.

Cabe mencionar que en este trabajo se realizó un estudio observacional a nivel de planta en lotes comerciales de papa, en donde no se tenía control de factores externos como prácticas de manejo del cultivo, incidencia de otros patógenos, interacción del cultivo con los factores edafoclimáticas, que podrían tener efecto sobre la respuesta del rendimiento. Por lo anterior, esto se podría observar con la diferencia en la producción de plantas sanas

y enfermas entre los lotes, donde la mayor producción se obtuvo en Subachoque_3 y la menor en Funza (Tabla 3-4).

Tabla 3-4. Estimación de las pérdidas por MT de la papa causada por *Verticillium* spp. en lotes de producción comercial en Cundinamarca en la variedad Diacol Capiro. Los datos de incidencia, severidad y rango del semivariograma se tomaron a los 110 dds.

Variable		Mosquera	Funza	Subachoque_2	Subachoque_3	Zipaquirá_20
Producción enferma	kg/planta	0,507	0,224	0,521	0,997	0,869
Producción sana		0,91	0,42	0,924	1,474	1,153
Incidencia	%	67,3	41,3	8,4	14,9	16,9
Severidad		1,86	1,16	0,19	0,31	0,54
AUDPC		5,76	4,76	0,91	1,46	4,97
Patrón espacial ¹		Agr	Agr	Ale	Ale	Agr
Rango	m	16,41	2,91	35,12	2,5	2,65
Tasa de progreso		0,192	0,109	0,096	0,113	0,025
Pérdida por planta	%	44,3	46,7	43,6	32,4	24,6
Pérdida estimada	ton/ha	6,2	1,9	0,8	1,6	1,1

¹ Patrón Agregado (Agr) y Aleatorio (Ale)

3.3 Discusión

La implementación de análisis espaciales y temporales de las dinámicas de las dinámicas de la MT de la papa causada por *Verticillium* spp. en este estudio, permitió conocer la diversidad de los patrones de distribución de las plantas afectadas y la dinámica temporal de la enfermedad. Nuestro enfoque presenta un análisis de la enfermedad para las dimensiones espacial y temporal como base para cuantificar su desarrollo. Este tipo de investigaciones han probado ser eficiente para describir dinámicas espaciales en otros patosistemas caracterizados por infecciones sistémicas o locales (Bassanezi et al., 2003; Dallot et al., 2003).

La tasa de progreso aparente de la enfermedad (r) se define como el aumento de la enfermedad por unidad de tiempo y se conoce como la tasa de infección. En nuestro estudio, los valores de r mostraron valores altos de progreso para el lote de Mosquera ($r = 0.192$) que se relaciona con los niveles de incidencia e índice de severidad (67,3 % y 1,86 respectivamente), contrario a lo encontrado en Subachoque_2 donde la r fue la mitad de

la encontrada en Mosquera con valores de incidencia y severidad bajos (8,4 y 0,19 respectivamente). La información obtenida en nuestro estudio podría usarse como una base para evaluar los niveles de la enfermedad que se podrían tener en ciclos posteriores, si las condiciones ambientales son similares y el genotipo se mantiene. En este sentido, los valores de r son un indicador del riesgo de la enfermedad.

Las curvas de progreso de la incidencia de MT presentaron ajustes a diferentes modelos matemáticos, donde los modelos logísticos, exponencial y monomolecular fueron los que mejor representaron las curvas. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Bejarano-Alcázar et al., (1995), quienes encontraron una alta variabilidad en las curvas de progreso de la enfermedad y el ajuste de los modelos Gompertz, log-logístico, logístico y monomolecular del marchitamiento causado por *V. dahliae* en algodón. Igualmente, Calderón et al. (2014), reportan el ajuste del modelo Gompertz a la marchitez causada por *V. dahliae* en el cultivo de olivo. En general, los resultados obtenidos muestran que los factores ambientales y la variedad Diacol Capiro son conducentes para el desarrollo de la enfermedad en la zona de estudio.

El modelo logístico fue el más frecuente en el ajuste a las curvas de progreso de las incidencias obtenidas (4 de 7 epidemias). Este modelo se caracteriza por tener una forma sigmoideal, que muestra una fase inicial de crecimiento lento, seguida de un rápido aumento en la fase de crecimiento exponencial, con un punto de inflexión cuando la enfermedad alcanza el 50% y finalmente se acerca al número máximo de individuos infectados en la fase estacionaria (Madden et al., 2017). El patrón sigmoideal observado en la incidencia de la enfermedad sugiere que la expresión de los síntomas se concentra en un momento del ciclo de la planta entre los 85 y 100 dds. Al ser un cultivo semestral y disponer de inóculo en el suelo, implica que las plantas están expuestas a ser infectadas por *Verticillium* en un periodo corto de tiempo, lo que se ve reflejado en la etapa exponencial de la incidencia con la aparición rápida de nuevos individuos enfermos en un determinado tiempo.

Los patrones espaciales de las epidemias en plantas son el resultado de los procesos de dispersión y el efecto de las condiciones ambientales (Madden et al., 2017). Los índices de Morisita, Fisher y I_a sugieren que el patrón espacial de las plantas afectadas por MT fue agregado o aleatorio. Si bien *Verticillium* es un patógeno de suelo con tendencia a la

agregación, el arreglo espacial de los individuos no siempre se espera con un arreglo específico. Estos resultados concuerdan con las observaciones realizadas por Xiao et al. (1997), quienes encontraron patrones agregados, aleatorios y regulares en el marchitamiento causado por *Verticillium* en Coliflor. Así mismo, en el cultivo de algodón, Wei et al. (2015) encontraron un patrón aleatorio y agregado de las plantas con marchitamiento por *V. dahliae*. En el caso del olivo, se ha informado un patrón aleatorio y agregado de distribución de las plantas infectadas por *V. dahliae* (López-Escudero y Blanco-López, 2007; Navas-Cortés et al., 2008; Ostos et al., 2020). En el caso de papa y *Verticillium*, este estudio es el primer reporte del comportamiento espacial agregado y aleatorio en los sistemas productivos de papa colombianos.

El patrón aleatorio y la distribución contrastante de las dinámicas espaciales de MT entre ciclos continuos de papa en los lotes evaluados, puede estar relacionado con procesos que afectan la diseminación de los propágulos de *Verticillium* spp. Por ser un patógeno del suelo, la distribución de la enfermedad depende de la disposición del inóculo inicial y la escorrentía en el suelo. En el cultivo de papa se realizan labores como el aporque y remoción de malezas, además de la preparación previa a la siembra con maquinaria, que implican el movimiento o volteo de suelo, los cuales inciden en el movimiento y distribución horizontal y vertical del inóculo inicial. Lo anteriormente expuesto, puede estar relacionado con lo encontrado en el lote de Zipaquirá en el cual se evaluó de forma consecutiva el desarrollo de MT en dos ciclos de papa, donde la incidencia de la enfermedad presentó valores contrastantes (16,9% y 0,4% para el primer y segundo ciclo respectivamente). A diferencia de lo esperado con hongos patógenos del suelo, donde los focos aumentan de tamaño con la siembra de ciclos consecutivos de la misma especie hospedera (Johnson et al., 2006; Heck et al., 2021), en este estudio para este, se encontró, que la ubicación y tamaño del foco en el lote con siembra continua de papa no coincidió con lo observado en el ciclo inmediatamente anterior. Si bien este no corresponde a un resultado esperado, lo encontrado mostraría que en el caso de *Verticillium* en el sistema papa es posible que la ubicación y crecimiento de los focos en el tiempo tome varios ciclos de cultivo para que se ajusten al patrón espacial típico reportado para patógenos de suelo. Lo observado en el lote de Zipaquirá, se podría explicar por (i) el movimiento del inóculo del patógeno durante las labores de preparación del suelo para la siembra del siguiente ciclo o (ii) que el foco registrado sea producto del desarrollo de la enfermedad a partir de tubérculos semilla contaminados con *Verticillium*. En el primer caso, el movimiento de suelo genera

una alteración de la ubicación y densidad del inóculo por inversión de las capas del suelo, o desagregación del mismo que conlleva a una ubicación diferente de los propágulos del patógeno que servirían como inóculo primario para el siguiente ciclo. En el caso de la semilla contaminada, las plantas enfermas observadas serían producto de estos tubérculos enfermos y no del inóculo del patógeno presente en el suelo. Por lo anterior, se podría proponer que en el caso de *Verticillium*-papa los patrones de agregación se pueden hacer evidentes después de varios ciclos consecutivos de siembra de la misma especie hospedante y bajo una alta densidad de inóculo. Esto sugiere que no es posible esperar un mismo comportamiento de la enfermedad de un ciclo a otro en un mismo lote. Por lo tanto, y al ser este un primer resultado, se recomienda realizar estudios epidemiológicos adicionales que consideren tanto el seguimiento de los niveles de inóculo en los focos y en el lote después de las prácticas de manejo del suelo y de la enfermedad durante un mayor número de ciclos de producción.

En una enfermedad agrupada por focos, es más probable que plantas vecinas se infecten originando el patrón agregado. Un patrón aleatorio fue detectado a intensidades bajas de MT en Subachoque_2 y Subachoque_3 con valores de incidencia de 8,4 y 14,9% respectivamente y niveles de índice de severidad bajos (0,19 y 0,31 respectivamente); mientras que la agregación de las plantas enfermas pudo ser detectada con el avance de la epidemia, como se observó en Mosquera y Funza, en donde la incidencia fue superior al 40%. Así mismo, estas dinámicas fueron evidentes en los mapas de distribución de la enfermedad de los lotes, donde aumento el tamaño de los focos y su intensidad en el tiempo, de acuerdo con los "red-blue plots". Este mismo comportamiento fue observado en el marchitamiento por *Verticillium* en algodón y olivo, donde las dinámicas agregadas fueron más frecuentes cuando la incidencia y severidad eran mayores (Wei et al., 2015; Ostos et al., 2020).

Teniendo en cuenta que el rango obtenido del análisis de la semivarianza es la distancia máxima a la cual las muestras están correlacionadas espacialmente (Chellemi et al., 1988), es posible sugerir una asociación entre el tamaño de los focos o la cercanía de un foco primario con uno secundario. Basados en el rango, lotes con patrones agregados presentaron valores entre 2,80 y 16,41 m, lo que significa que el tamaño del foco o la distancia entre focos es usualmente menor a este valor. Por su parte, en lotes con patrones aleatorios este rango fue de 2,50 y 35,12 m, indicando una mayor distancia entre las

plantas enfermas relacionadas espacialmente. Lo anterior, contrasta con lo reportado por Ramírez-Gil et al., (2019), quienes encontraron una dependencia espacial menor a 10 m en lotes de papa con MT.

Plantas con síntomas de MT presentaron una reducción significativa en el número y peso de los tubérculos comparado con plantas sanas. Como resultado, se estimó que las pérdidas ocasionadas por MT oscilaron entre 0,8 y 6,2 ton ha⁻¹, lo que corresponde al 5 y 30% de la producción esperada respectivamente. Varios autores mencionan que el bloqueo y la invasión de los vasos del xilema en el sistema vascular de las plantas por *Verticillium* spp. son los responsables de las pérdidas en rendimiento y calidad en la cosecha (Tjamos et al. 2000; Pegg y Brady 2002; Rowe y Powelson 2002). En este estudio se encontró que las categorías cero y primera fueron las más afectadas por la MT en el número y peso de los tubérculos, lo que coincide con lo reportado por Botseas y Rowe (1994), quienes concluyeron que las diferencias de tamaño de los tubérculos en plantas afectadas por MT reducen el rendimiento de los tubérculos comercializables. De igual forma, Uppal et al. (2007) registraron pérdidas importantes con respecto a la calidad de los tubérculos cosechados debido a MT; Rowe y Powelson (2002) encontraron que tanto *V. dahliae* como *V. albo-atrum* reducen el rendimiento y la calidad de los tubérculos en papa. Por su parte, Daami-Remadi et al., (2011) reportaron que *V. dahliae*, *V. albo-atrum* y *V. tricorpus* pueden reducir el peso de los tubérculos entre el 23 y 55%, lo cual es similar a lo encontrado en este estudio. En Colombia, en las variedades ICA Nariño y parda pastusa se encontraron pérdidas entre el 15 y 20% en rendimiento causadas por *V. albo-atrum* (Guerrero et al., 1992). Por lo anterior se infiere que la MT tendría un impacto socioeconómico potencial en las zonas productoras, lo cual afectaría a los productores, que en su mayoría son pequeños (Ñúñez et al., 2020).

En el presente estudio se encontró que las pérdidas dependen de la incidencia y severidad de la enfermedad, que influyen en la reducción del tamaño y peso de los tubérculos. Además, por ser un patógeno sistémico y con períodos de incubación largos, reportados entre 60 a 70 ddi, los síntomas son visibles en un estado fenológico tardío del cultivo (Johnson y Dung, 2010). En este sentido, el registro de variables como la incidencia y severidad pueden ser indicadores del riesgo y ser usadas para proyectar las pérdidas causadas por la enfermedad en un ciclo particular del cultivo y una herramienta de manejo integrado de la MT en papa.

Este estudio caracterizó el comportamiento espacio-temporal de la MT en las condiciones de Cundinamarca. Sin embargo, es necesario investigar la enfermedad a lo largo de varios ciclos de cultivo, incluyendo las rotaciones de especies que se emplean comúnmente en la región. Además, se debe ampliar el conocimiento sobre la enfermedad en diferentes variedades de papa debido a la posible diversidad de respuesta, así como su relación con las prácticas de manejo, lo cual puede complementar el conocimiento epidemiológico de la enfermedad aquí reportado. La contribución de este trabajo es importante para el sector productivo, ya que proporciona datos fundamentales para la comprensión de las epidemias de MT en Cundinamarca y en el país. Adicionalmente, aporta herramientas que pueden servir a su vez de base para la toma de decisiones y para predecir el impacto de la enfermedad en el rendimiento del cultivo con base en los parámetros epidemiológicos de MT en la papa.

3.4 Conclusiones

La estimación de los parámetros estadísticos para la selección de modelos matemáticos indicó que el modelo logístico fue el que presentó mejor ajuste a los datos del progreso temporal de la enfermedad causada por *Verticillium* en condiciones de producción comercial. Los resultados espaciales indicaron que, dependiendo de las condiciones de cultivo, la MT de la papa puede presentar patrones aleatorios o agregados relacionados con el manejo del cultivo. El tamaño del foco o la distancia entre focos estimada fue de 16 m. En relación con el impacto de la enfermedad en la producción del cultivo, se encontró reducción de las calidades comercializables de los tubérculos en número y en peso por planta que varío entre 25% y 47%.

3.5 Referencias

- Alves, K. S., y Del Ponte, E. M. (2021). Analysis and simulation of plant disease progress curves in R: introducing the epifitter package. *Phytopathology Research* 3, 1–13. doi: 10.1186/S42483-021-00098-7/TABLES/2.
- Bassanezi, R. B., Bergamin Filho, A., Amorim, L., Gimenes-Fernandes, N., Gottwald, T. R., Bové, J. M. (2003). Spatial and temporal analyses of citrus sudden death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. *Phytopathology* 93, 502–512. doi: 10.1094/PHYTO.2003.93.4.502.

- Bejarano-Alcazar, J., Melero-Vara, J. M., Blanco-Lopez, M. A., Jimenez-Diaz, R. M. (1995). Influence of inoculum density of defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* on epidemics of Verticillium wilt of cotton in southern Spain. *Phytopathology* 85, 1474–1481. doi: 10.1094/PHYTO-85-1474.
- Borza, T., Beaton, B., Govindarajan, A., Gao, X., Liu, Y., Ganga, Z. (2017). Incidence and abundance of *Verticillium dahliae* in soil from various agricultural fields in Prince Edward Island, Canada. *European Journal of Plant Pathology* 2017 151:3 151, 825–830. doi: 10.1007/S10658-017-1408-1.
- Botseas, D. D., y Rowe, R. C. (1994). Development of potato early dying in response to infection by two pathotypes of *Verticillium dahliae* and co-infection by *Pratylenchus penetrans*. *Phytopathology* 84, 275–282. doi: 10.1094/PHYTO-84-275.
- Calderón, R., Lucena, C., Trapero-Casas, J. L., Zarco-Tejada, P. J., Navas-Cortés, J. A. (2014). Soil temperature determines the reaction of olive cultivars to *Verticillium dahliae* pathotypes. *PLoS One* 9, e110664. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0110664.
- Campbell, C.L. y Benson, D.M. 1994. Spatial aspects of the development of root disease epidemics. In *Epidemiology and Management of Root Diseases*; Campbell, C.L., Benson, D.M., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. pp. 195–243.
- Carlstrom, R. C. 1969. Survival of *Verticillium dahliae* in soil. Ph.D. dissertation, Oregon State University, Corvallis.
- Chawla, S., Woodward, J. E., Wheeler, T. A. (2012). Influence of *Verticillium dahliae* Infested Peanut Residue on Wilt Development in Subsequent Cotton. *International Journal of Agronomy* 2012, 1–5. doi: 10.1155/2012/212075.
- Chellemi, D. O., Rohrbach, K. G., Yost, R. S., Sonoda, R. M. (1988). Analysis of the Spatial Pattern of Plant Pathogens and Diseased Plants Using Geostatistics. *Phytopathology* 78, 221–226.
- Cressie, N. A. C. 1993. Spatial prediction and kriging. In *Statistics for Spatial Data*. Cressie, N. A. C. 1993. Wiley Series in Probability and Statistics. John Wiley & Sons, Inc.
- Daami-remadi, M., Agriculture, O., Jabnoun-khiareddine, H., Fakher, A. (2010). Comparative Susceptibility of Potato Cultivars to Verticillium Wilt Assessed via Wilt Severity and Subsequent Yield Reduction. *International Journal of Plant Breeding*.
- Dallot, S., Gottwald, T., Labonne, G., Quiot, J. B. (2003). Spatial Pattern Analysis of Sharka Disease (Plum pox virus Strain M) in Peach Orchards of Southern France. *Phytopathology* 93, 1543–1552. doi: 10.1094/PHYTO.2003.93.12.1543.

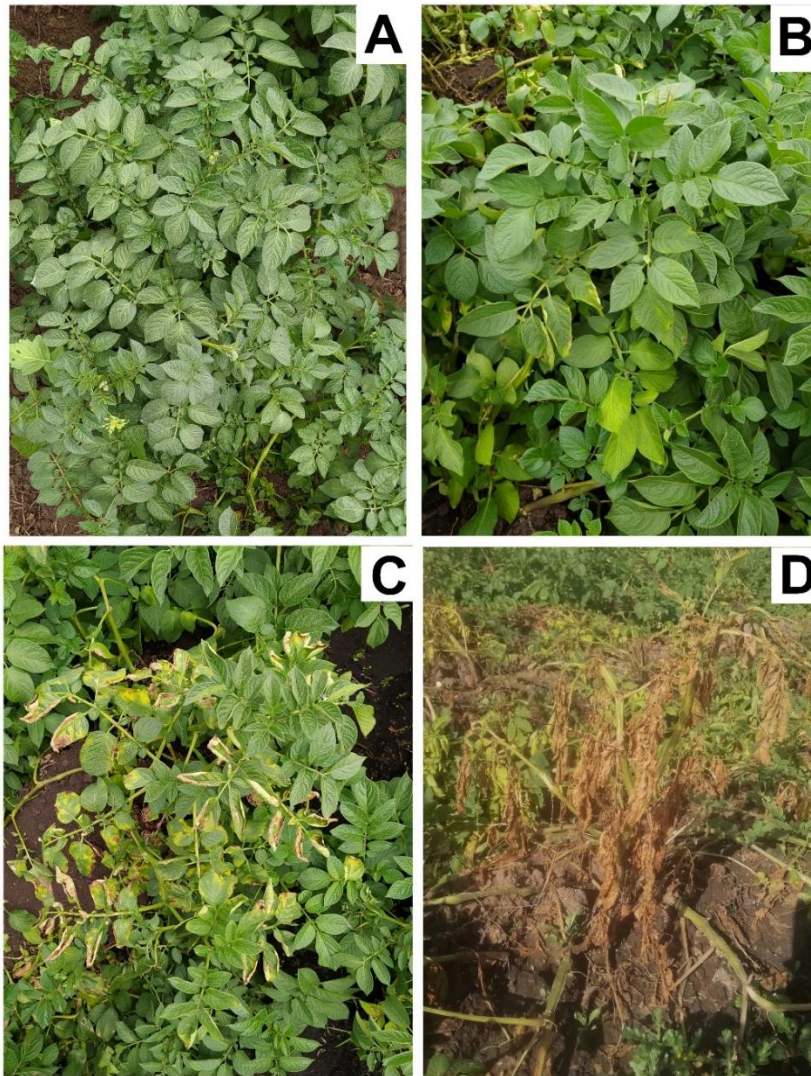
- Dung, J. K. S., Hamm, P. B., Eggers, J. E., Johnson, D. A. (2013). Incidence and impact of *Verticillium dahliae* in soil associated with certified potato seed lots. *Phytopathology* 103, 55–63. doi: 10.1094/PHYTO-04-12-0073-R.
- Dung, J. K. S., Ingram, J. T., Cummings, T. F., Johnson, D. A. (2012). Impact of seed lot infection on the development of black dot and verticillium wilt of potato in Washington. *Plant Disease*, 96(8), 1179–1184. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-12-0061-RE>
- Fisher, R. A. 1925. Statistical methods for research workers. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- García, C., Cotes, A. M., Beltrán, C. R. (2020). Manejo integrado de enfermedades. En: Núñez, C. E., Delgado-Niño, M. C., Alba-Chacón, A. F., Duque-Puentes, L. D., Mosquera-Vásquez, T. Rodríguez-Molano, L. E., García-Domínguez, C., Cotes-Prado, A. M., Beltrán-Acosta, C. R., Espitia-Malagón, E., Barreto-Triana, N., Cely-Pardo, L., Wilches-Ortiz, W. y Ospina-Parra, C. E. (Eds.). Papa de año (*Solanum tuberosum* Grupo Andigenum: Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca. Bogotá, D. C.: Corredor Tecnológico Agroindustrial CTA-2.
- Gigot, C. 2018. Analyzing plant disease epidemics with the R package epiphy. <https://cran.r-project.org/web/packages/epiphy/vignettes/epiphy.html>
- González-Concha, L. F., Ramírez-Gil, J. G., García-Estrada, R. S., Rebollar-Alviter, Á., Tovar-Pedraza, J. M. (2021). Spatiotemporal Analyses of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Commercial Tomato Greenhouses. *Agronomy* 2021, Vol. 11, Page 1268 11, 1268. doi: 10.3390/AGRONOMY11071268.
- Guerrero, O. A., Rodríguez, R., Benavides, J. (1992). Pérdidas ocasionadas por *Verticillium albo-atrum* Reinke y Berth., *Globodera pallida* (Stone) Beherens y sus interacciones en dos variedades de papa. *Revista ICA* 27, 13–23.
- Heck, D. W., Dita, M., Ponte, E. M. Del, Mizubuti, E. S. G. (2021). Incidence, Spatial Pattern and Temporal Progress of Fusarium Wilt of Bananas. *Journal of Fungi* 2021, Vol. 7, Page 646 7, 646. doi: 10.3390/JOF7080646.
- Huang, H., Zhang, K., Shao, C., Wang, C., Ente, M., Wang, Z., (2021). Spatial distribution of *Gasterophilus pecorum* (Diptera) eggs in the desert steppe of the Kalamaili Nature Reserve (Xinjiang, China). *BMC Ecol. Evol.* 21, 1–10. doi:10.1186/S12862-021-01897-4.
- Hughes, G. (1993). Using the Beta-Binomial Distribution to Describe Aggregated Patterns of Disease Incidence. *Phytopathology* 83, 763. doi: 10.1094/PHYTO-83-759.

- Hunter, D. E., Darling, H. M., Stevenson, F. J., Cunningham, C. E. (1968). Inheritance of resistance to Verticillium wilt in Wisconsin. *Am Potato J* 45, 72–78. doi: 10.1007/BF02862864.
- Jing, R., Li, H., Hu, X., Shang, W., Shen, R., Guo, C. (2018). Verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* and *v. Nonalfalfae* in potato in northern China. *Plant Dis* 102, 1958–1964. doi: 10.1094/PDIS-01-18-0162-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-01-18-0162-RE_F3.JPEG.
- Johnson, D. A., y Dung, J. K. (2010). Verticillium wilt of potato - The pathogen, disease and management. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 32: 58-67. 10.1080/07060661003621134.
- Johnson, D. A., Zhang, H., Alldredge, J. R. (2006). Spatial pattern of verticillium wilt in commercial mint fields. *Plant Dis* 90, 789–797. doi: 10.1094/PD-90-0789.
- Journel, A. G. (1986). Geostatistics: Models and tools for the earth sciences. *Math Geol* 18, 119–140. doi: 10.1007/BF00897658/METRICS.
- Ledo, A., Condés, S., Montes, F. (2012). Revisión de índices de distribución espacial usados en inventarios forestales y su aplicación en bosques tropicales. *Rev Peru Biol* 19, 113–124.
- Liu, X., Woodward, J. E., Kelly, B., Lewis, K. L., Byrd, S. A., Chen, Y. (2021). Effects of production practices on temporal disease progress of Verticillium wilt of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in the Texas High Plains, USA. *Crop Protection* 140, 105429. doi: 10.1016/J.CROPRO.2020.105429.
- López-Escudero, F. J., y Blanco-López, M. A. (2007). Relationship Between the Inoculum Density of *Verticillium dahliae* and the Progress of Verticillium Wilt of Olive. *Plant Dis* 91, 1372. doi: 10.1094/PDIS-91-11-1372.
- Madden, L. V., Hughes, G., van den Bosch, F. (2017). The Study of Plant Disease Epidemics. The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/9780890545058>
- Madden, L. V., y Hughes, G. (1995). Plant disease incidence: Distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annu Rev Phytopathol* 33, 529–564. doi: 10.1146/annurev.py.33.090195.002525.
- Morgan, G. D., Stevenson, W. R., Macguidwin, A. E., Kelling, K. A., Binning, L. K., Zhu, J. (2002). Plant pathogen population dynamics in potato fields. *J Nematol* 34, 189–93.
- Morisita, M. (1962). σ -Index, a measure of dispersion of individuals. *Res Popul Ecol (Kyoto)* 4, 1–7. doi: 10.1007/BF02533903.
- Nair, P. V. R., Wiechel, T. J., Crump, N. S., Taylor, P. W. J. (2019). Seed tuber incidence, identification and pathogenicity of Verticillium species infecting potatoes in South East

- Australia. *Australasian Plant Pathology* 48, 637–650. doi: 10.1007/S13313-019-00667-7/METRICS.
- Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B., Mercado-Blanco, J., Trapero-Casas, J. L., Rodríguez-Jurado, D., Jiménez-Díaz, R. M. (2008). Spatiotemporal Analysis of Spread of Infections by *Verticillium dahliae* Pathotypes Within a High Tree Density Olive Orchard in Southern Spain. *Phytopathology* 98, 167–180. doi: 10.1094/PHYTO-98-2-0167.
- Nieto, L. E. (1988). La marchitez prematura de la papa causada por *Verticillium* spp. en Colombia. *Revista ICA* 23, 334–340.
- Ñústez, C. E., Delgado-Niño, M. C., Alba-Chacón, A. F., Duque-Puentes, L. D., Mosquera-Vásquez, T. Rodríguez-Molano, L. E., García-Domínguez, C., Cotes-Prado, A. M., Beltrán-Acosta, C. R., Espitia-Malagón, E., Barreto-Triana, N., Cely-Pardo, L., Wilches-Ortiz, W. y Ospina-Parra, C. E. (2020). Papa de año (*Solanum tuberosum* Grupo Andigenum: Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca. Bogotá, D. C.: Corredor Tecnológico Agroindustrial CTA-2.
- Ostos, E., Garcia-Lopez, M. T., Porras, R., Lopez-Escudero, F. J., Trapero-Casas, A., Michailides, T. J. (2020). Effect of Cultivar Resistance and Soil Management on Spatial–Temporal Development of Verticillium Wilt of Olive: A Long-Term Study. *Front Plant Sci* 11, 1595. doi: 10.3389/fpls.2020.584496.
- Pebesma, E. J. (2004). Multivariable geostatistics in S: the gstat package. *Computers & Geosciences*, 30(7), 683–691. <https://doi.org/10.1016/J.CAGEO.2004.03.012>
- Pebesma, E. J., y Wesseling, C. G. (1998). Gstat: a program for geostatistical modelling, prediction and simulation. *Comput Geosci* 24, 17–31. doi: 10.1016/S0098-3004(97)00082-4.
- Pegg, G. F., y Brady, B. L., eds. (2002). *Verticillium Wilts*. CABI International, Wallingford, UK.
- Perry, J. N., Winder, L., Holland, J. M., Alston, R. D. (1999). Red-blue plots for detecting clusters in count data. *Ecol Lett* 2, 106–113. doi: 10.1046/j.1461-0248.1999.22057.x.
- Perry, J. N. (1995). Spatial Analysis by Distance Indices. *J Anim Ecol* 64, 303. doi: 10.2307/5892.
- Powelson, M. L., y Rowe, R. C. (1993). Biology and management of early dying of potatoes. *Annu Rev Phytopathol* 31, 111–126. doi: 10.1146/ANNUREV.PY.31.090193.000551.
- Pullman, G. S. y DeVay. (1982). Epidemiology of Verticillium Wilt of Cotton: A Relationship Between Inoculum Density and Disease Progression. *Phytopathology* 72, 554. doi: 10.1094/PHYTO-72-549.

- Ramírez-Gil, J. G., García, C., Navas, J. S., López, D. A. León, J. A., Gómez, S. 2019. Implicaciones epidemiológicas y económicas de *Verticillium* sp., en una región productora de papa en Cundinamarca. XXXIV congreso colombiano de fitopatología y ciencias afines. Volumen 43 No 2.
- Rowe, R. C., y Powelson, M. L. (2002). Potato Early Dying: Management Challenges in a Changing Production Environment. *Plant Dis* 86, 1184–1193. doi: 10.1094/PDIS.2002.86.11.1184.
- Schnathorst, W. C. (1981). Life Cycle and Epidemiology of *Verticillium*. *Fungal Wilt Diseases of Plants*, 81–111. doi: 10.1016/B978-0-12-464450-2.50009-7.
- Schreiber, L. R., y Green, R. J. (1963). Effect of root exudates on germination of conidia and microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* inhibited by the soil fungistatic principle. *Phytopathology* 53, 260–264.
- Steele, L., Rosenzweig, N., Kirk, W. (2015). Conditional probability and integrated pest management: Using a nonlinear Kriging technique to predict infectious levels of *Verticillium dahliae* in Michigan potato fields. in *2015 1st International Conference on Geographical Information Systems Theory, Applications and Management (GISTAM)*, 1–6.
- Tjamos, E. C., Rowe, R. C., Heale, J. B., Fravel, D. R. (Eds) (2000) *Advances in Verticillium Research and Disease Management*, American Phytopathological Society (APS) Press, St. Paul, MN, 365 pp.
- Uppal, A. K., El Hadrami, A., Adam, L. R., Daayf, F., Tenuta, M. (2007). Pathogenic variability of *Verticillium dahliae* isolates from potato fields in Manitoba and screening of bacteria for their biocontrol. *Canadian Journal of Plant Pathology* 29, 141–152. doi: 10.1080/07060660709507450.
- Wei, F., Shang, W., Yang, J., Hu, X., Xu, X. (2015). Spatial Pattern of *Verticillium dahliae* Microsclerotia and Cotton Plants with Wilt Symptoms in Commercial Plantations. *PLoS One* 10, e0132812. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0132812.
- Winder, L., Alexander, C., Griffiths, G., Holland, J., Woolley, C., Perry, J. (2019). Twenty years and counting with SADIE: Spatial Analysis by Distance Indices software and review of its adoption and use. *Rethinking Ecology* 4, 1–16. doi: 10.3897/rethinkingecology.4.30890.
- Wu, B. M., y Subbarao, K. V. (2014). A model for multiseasonal spread of verticillium wilt of lettuce. *Phytopathology* 104, 908–917. doi: 10.1094/PHYTO-12-13-0333-R.
- Xiao, C. L., Hao, J. J., Subbarao, K. V. (1997). Spatial patterns of microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil and verticillium wilt of cauliflower. *Phytopathology* 87, 325–331. doi: 10.1094/PHYTO.1997.87.3.325.

Zaheer, K., y Akhtar, M. H. (2016). Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 56, 711–721. doi: 10.1080/10408398.2012.724479.



Fotos tomadas por: Luis Mendoza

Figura suplementaria 3-1. Síntomas de marchitez temprana de la papa en var. Diacol Capiro. **A.** Planta sana, **B.** Síntomas iniciales, **C.** Síntomas avanzados y **D.** Planta muerta.

4. Discusión general

En este trabajo se estudió la epidemiología de la enfermedad causada por *Verticillium* spp. en el cultivo de papa en el departamento de Cundinamarca. Inicialmente se realizó el reconocimiento de los síntomas en campo y la identificación del agente causal, confirmando la presencia y patogenicidad de *Verticillium* spp. en las plantas de papa. Además, se encontró variación en el aspecto de las colonias aisladas del patógeno y la cercanía de las regiones ITS y BtuB a la especie *V. nonalfalfae*, la cual ha sido identificada como patógena en el cultivo de papa (Li et al., 2019; Rui et al., 2018), pero que no se ha reportado en Colombia asociada a la MT.

A nivel regional se confirmó la presencia de MT en todas las provincias evaluadas en Cundinamarca, con mayor prevalencia en sabana occidente, provincia que ha sido productora de papa tradicionalmente y que ha aumentado su área de cultivo en los últimos años (Núñez et al., 2020; Agronet, 2021; Escobar y Peñuela, 2016; DANE, 2001). Estos resultados indican que las condiciones ambientales en estas provincias son favorables para el desarrollo de la MT y confirma la presencia de inóculo del patógeno en las zonas de estudio.

El análisis de las prácticas de manejo y los factores edafoclimáticos a nivel regional respecto a la MT mostraron la relación de la enfermedad con la tenencia de la tierra (arriendo), la maquinaria (alquilada), el número de ciclos continuos de papa (tres) y la procedencia de la semilla (lotes propios), contribuyen con la dispersión del patógeno entre lotes a partir del material vegetal o suelo contaminado y en el aumento de la cantidad de inóculo en el lote con ciclos consecutivos de hospederos susceptibles (Jonhson y Dung, 2010; Pegg y Brady, 2002). En relación con la tenencia de la tierra, el arrendamiento de parcelas agrícolas puede tener un impacto en la dispersión, establecimiento y propagación de enfermedades, debido a la falta de continuidad en las prácticas de manejo implementadas en un ciclo en particular, y al desconocimiento del historial de los lotes como referencia para la toma de decisiones. Por su parte, la temperatura, precipitación, el

contenido de arena y la capacidad de intercambio catiónico del suelo se relacionaron con la MT de la papa, variables que se también se han reportado afectando el desarrollo del marchitamiento causado por *V. dahliae* y las poblaciones del patógeno en otros cultivos como olivo y algodón (Land et al., 2017; Santos-Rufo et al., 2020). Estos factores se han relacionado con el desarrollo y distribución de las raíces y tubérculos de las plantas y con los procesos biológicos que incluyen la dispersión del patógeno y la distribución espacial del inóculo (Otten y Gilligan, 2006). Las variables encontradas en este trabajo pueden ser la base para continuar investigaciones dirigidas a evaluar el manejo de factores edáficos y prácticas de manejo del cultivo y de la enfermedad que disminuyan el riesgo de la MT en cultivos de papa.

Los análisis espacio-temporales a nivel de lote permitieron identificar patrones de comportamiento y distribución de la MT en el cultivo. Los modelos que mejor representaron la curva de progreso de la MT fueron el logístico, exponencial y monomolecular, los cuales han sido reportados para *V. dahliae* en cultivos como algodón, olivo y lechuga (Bejarano-Alcazar et al., 1995; Calderón et al., 2014; Wu y Subbarao, 2014). Estos resultados se relacionan con la biología del patógeno debido a que es una enfermedad vascular, que ha sido descrita como monocíclica, en la cual las infecciones secundarias rara vez ocurren dentro de un ciclo de cultivo (Pullman y DeVay, 1982; Gutierrez y DeVay, 1986; Nicot y Rouse, 1987). Sin embargo, *V. albo-atrum* ha sido reportado en alfalfa como policíclica, debido a que se ha demostrado la producción de conidias en el material vegetal en descomposición como inóculo secundario, generando infecciones adicionales a las ocasionadas a partir del inóculo del suelo (Jiménez-Díaz y Millar, 1988; Fradin y Thomma, 2006). Sin embargo, es necesario realizar estudios que comprueben esta hipótesis para las condiciones del sistema productivo de papa en Colombia.

El estudio del comportamiento espacial de la enfermedad permitió identificar patrones de distribución y áreas de mayor incidencia de MT, lo que es útil para implementar estrategias de control localizadas. Los patrones espaciales son el resultado de procesos biológicos, culturales y ecológicos (Campbell y Benson, 1994), y en el caso de MT causada por *Verticillium*, la distribución de las plantas enfermas depende en gran medida de la distribución del inóculo inicial en el suelo (Johnson y Dung, 2012). En este trabajo se encontraron patrones agregados y aleatorios de plantas con síntomas de MT en el cultivo de papa. Teniendo en cuenta que las especies de *Verticillium* tienen un rango de

hospederos amplio, entre los que se pueden mencionar malezas, cultivos en rotación y plantas de ciclos anteriores de papa que crecen a partir de tubérculos no cosechados pueden favorecer la multiplicación del patógeno y su supervivencia en el tiempo (Klosterman et al., 2009; Jing et al., 2018). Es común que en las zonas productoras de papa se realicen rotaciones con cultivos como pastos, arveja, frijol, zanahoria, maíz y otras hortalizas (Porrás et al., 2004), de las cuales se han reportado arveja y hortalizas como el repollo, rábano y espinaca, como susceptibles a *Verticillium* (Berlanger y Powelson, 2000; Iza, 2019). Además, las prácticas de manejo como el movimiento de suelo a partir de la labranza, cosecha y aporque dentro del ciclo y entre ciclos de producción pueden favorecer el movimiento dentro del lote y generar variabilidad en los patrones de las plantas enfermas, como los observados en este estudio.

Los resultados obtenidos mostraron que la presencia de *Verticillium* sp. en un lote tiene efecto significativo en la producción, reduciendo entre 24 y 46% el rendimiento en los focos identificados en las zonas afectadas. Sin embargo, el impacto dependerá de la incidencia de la enfermedad y es posible relacionarlo con otros indicadores como la severidad y la tasa de crecimiento de la epidemia, por lo que el seguimiento de los síntomas y el cálculo de estos parámetros y la implementación de estrategias que eviten su propagación y multiplicación pueden prevenir las pérdidas en ciclos posteriores. Esto se evidenció en la diferencia de producción encontrada entre plantas sanas y enfermas dentro de un lote, cuando los niveles de severidad de MT fueron entre 3 y 4 a los 110 dds.

En general, estos resultados destacan la importancia de implementar estrategias de manejo integrado de la MT en el cultivo de papa, que incluyan la identificación correcta y oportuna de la enfermedad, la implementación de estrategias de control y la vigilancia constante de los factores de dispersión del patógeno y la incidencia de la enfermedad a nivel regional y de lote. Además, se demostró la presencia de la enfermedad en la principal zona productora de papa en el país, causando pérdidas en el cultivo con un potencial alto de limitar la producción.

4.1 Conclusiones y recomendaciones generales

4.1.1 Conclusiones generales

La MT en cultivos de papa causada por *Verticillium* causó síntomas de clorosis en hojas bajas, necrosis de la lámina foliar, hojas secas y adheridas al tallo y muerte temprana de las plantas. Estos fueron característicos en las variedades Diacol Capiro, Criolla, Superior y Única.

Se identificó a *Verticillium* spp. como agente causal de la sintomatología descrita en campo, se confirmó su patogenicidad al reproducir los síntomas en plantas de papa variedad Diacol Capiro y se encontró cercanía con la especie *V. nonalfalfae*.

En las seis provincias evaluadas en Cundinamarca se reportó la presencia de la enfermedad, con mayor prevalencia en sabana occidente. La incidencia entre lotes fue variable y se encontraron fincas cercanas con presencia de la enfermedad.

Se encontró relación de prácticas de manejo del cultivo como ciclos continuos de papa, procedencia de la semilla, tenencia de la maquinaria y su limpieza con la presencia e incidencia de la MT en cultivos de papa.

Variables ambientales como temperatura y precipitación y edáficas como el contenido de arena, CEC y carbono orgánico se relacionaron con la presencia de la enfermedad en los lotes evaluados.

La MT en el cultivo de papa presentó un comportamiento espacial agregado y aleatorio, relacionados con su capacidad para sobrevivir y propagarse por estructuras de resistencia.

Las pérdidas causadas por la MT se encontraron entre el 24 y 46% en el peso por planta, mientras que, a nivel de lote, dependiendo de la incidencia de la enfermedad, la reducción fue varió entre 5 y 30% en peso. A nivel de calidad, la reducción fue marcada por una disminución en el número de tubérculo en las calidades cero y primera.

Los resultados de este estudio muestran el primer reporte de la distribución y comportamiento espacial y temporal de la MT causada por *Verticillium* spp en el cultivo de papa en Cundinamarca.

4.1.2 Recomendaciones generales

Con el desarrollo de este trabajo y con base en los resultados obtenidos para los productores se sugiere:

Con el fin de mantener la sanidad de los cultivos de papa y minimizar los riesgos actuales y futuros de infección por *Verticillium*, se sugiere llevar un registro de la incidencia y severidad de la enfermedad en los lotes, realizar la limpieza de la maquinaria y herramientas antes de su uso, implementar la siembra de tubérculos de semilla certificada y, en caso de detectarse la presencia de la enfermedad, evitar la siembra continua de plantas de especies hospederas de *Verticillium* como arveja, repollo, rábano, espinaca, entre otros. Estas prácticas pueden ayudar a reducir la propagación de la enfermedad en el lote y en la región y contribuyen a mantener la calidad y rendimiento de los cultivos de papa.

En el área de investigación se sugiere a futuro continuar el estudio del patosistema *Verticillium*-papa en las siguientes líneas:

Evaluación de la patogenicidad de *Verticillium* sp. en las variedades cultivadas en Colombia con el propósito de mejorar las estrategias de manejo de esta enfermedad.

Evaluación y ajuste de modelos de rotación de cultivos para el manejo de *Verticillium* sp. en las condiciones de producción de Colombia.

Determinación de la presencia y cantidad de inóculo en tubérculo semilla y suelo en herramientas y maquinaria usada en las zonas productoras y evaluación de medidas de manejo tendientes a reducir estos niveles de inóculo.

Identificación molecular de los morfotipos encontrados en este estudio y otros estudios y profundizar en la diversidad del patógeno en las zonas productoras de Cundinamarca.

Evaluar el comportamiento de la enfermedad a largo plazo por varios ciclos productivos, incluyendo la rotación de cultivos y la toma de datos edafoclimáticos como los reportados en este estudio considerando el origen y sanidad de la semilla y la densidad de inóculo del patógeno antes y después de las prácticas de manejo del suelo.

Realizar un estudio del estatus de la enfermedad en otras zonas productoras del país e incluir una mayor área evaluada en Cundinamarca, identificando su distribución y relación con las variedades que se siembran tanto para consumo en fresco como industrial.

Difundir los resultados obtenidos con los productores de Cundinamarca, mediante un evento de divulgación y material impreso que ilustren los síntomas, la biología del patógeno, las pérdidas estimadas y el comportamiento de la enfermedad.

4.2 Referencias

- Campbell, C.L. y Benson, D.M. 1994. Spatial aspects of the development of root disease epidemics. In *Epidemiology and Management of Root Diseases*; Campbell, C.L., Benson, D.M., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. pp. 195–243.
- DANE, 2001. I censo nacional del cultivo de papa departamento de Cundinamarca. III separata de resultados semestre B. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. Colombia, Bogotá D. C.
- Escobar, S. M. y Peñuela, E. C. (Eds.). 2016. 3er censo nacional agropecuario. Tomo 2 - resultados. DANE, Colombia, Bogotá D.C.
- Fradin, E. F. y Thomma, B. P. 2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular plant Pathology*. 7:71-86. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00323.x>
- Gutierrez, A., y DeVay, J. 1986. Studies of plant-pathogen-weather interactions: cotton and *Verticillium* wilt. Pages 205-231 in: *Plant Disease Epidemiology: Population Dynamics and Management*. K. J. Leonard and W. E. Fry, eds. Macmillan Publishing Co., New York.
- Iza, L. V. 2019. Identificación morfológica de los hongos causantes de pudrición radicular en arveja (*Pisum sativum*) en el valle de Tumbaco. Universidad Central del Ecuador.
- Jiménez-Díaz, R.M. y Millar, R.L. 1988. Sporulation on infected tissues, and presence of airborne *Verticillium albo-atrum* in alfalfa fields in New York. *Plant Pathol.* 37, 64– 70.

- Land, C. J., Lawrence, K. S., Burnester, C. H., Meyer, B. 2017. Cultivar, irrigation, and soil contribution to the enhancement of *Verticillium* wilt disease in cotton. *Crops protection*. 96: 1-6.
- Li, H., Wang, Z., Hu, X., Shang, W., Shen, R., Guo, C., Guo, Q., Subbarao, K. 2019. Assessment of Resistance in Potato Cultivars to *Verticillium* Wilt Caused by *Verticillium dahliae* and *Verticillium nonalfalfae*. *Plant disease*. 103: 10357-1362. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1815-RE>
- Nicot, P., y Rouse, D. 1987. Relationship between soil inoculum density of *Verticillium dahliae* and systemic colonization of potato stems in commercial fields over time. *Phytopathology* 77:1346-1355
- Otten, W., y Gilligan, C. A. 2006. Soil structure and soil-borne diseases: using epidemiological concepts to scale from fungal spread to plant epidemics. *European Journal of Soil Science*. 57: 26-37.
- Porras, P., López, Y., Villamil, M., Beltrán, G., Guzmán, M., Gnecco, M., Rodríguez, M., Rincón, S. 2004. Guía ambiental para el cultivo de la papa. Fedepapa y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Bogotá.
- Pullman, G., y DeVay, J. 1982. Epidemiology of *Verticillium* wilt of cotton: A relationship between inoculum density and disease progression. *Phytopathology* 72:549-554.
- Rui, J., Haiyuan, L., Xiaoping, Hu., Wenjing, S. 2018. *Verticillium* Wilt Caused by *Verticillium dahliae* and *V. nonalfalfae* in Potato in Northern China. 102: 1958-1964 <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0162-RE>.
- Santos-Rufo, A., Pérez-Rodríguez, M., Heis Serrano, J., Roca Castillo, L.F., López-Escudero, F.J. 2022. Effect of Previous Crops and Soil Physicochemical Properties on the Population of *Verticillium dahliae* in the Iberian Peninsula. *J. Fungi*. 8: 988. <https://doi.org/10.3390/jof8100988>.
- Vallad, G. E., Bhat, R. G., Koike, S. T., Ryder, E. J., Subbarao, K. V. 2005. Weedborne reservoirs and seed transmission of *Verticillium dahliae* in lettuce. *Plant Dis*. 89:317-324.
- Wu, B. M., y Subbarao, K. V. 2014. A model for multiseasonal spread of *Verticillium* wilt of lettuce. *Phytopathology* 104:908-917.