

HIPÓTESIS DE LA EXCLUSIÓN DE LINAJES UNA ALTERNATIVA PARA EL DESARROLLO DE CULTIVARES DE ARROZ CON RESISTENCIA DURABLE A

Pyricularia grisea (Sacc) EN COLOMBIA*

Gustavo Prado P., Fernando Correa V., Girelana Aricapa, Edgar Tulandé y Fabio Escobar R.
Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A 6713, Cali

*Trabajo distinguido con el Premio Nacional de Fitopatología "Rafael Obregón", categoría profesional, auspiciado por Bayer S.A, otorgado por ASCOLFI y adjudicado en el XX Congreso de Fitopatología, Manizales junio 30, julio 1 y 2 de 1999

RESUMEN

El añublo del arroz causado por *Pyricularia grisea* (Sacc) es la principal enfermedad del cultivo en todo el mundo. El desarrollo de variedades resistentes es el método preferido para el control de la enfermedad; sin embargo, las variedades pierden su resistencia en periodos de 1 a 2 años después de su liberación debido a la gran variabilidad del patógeno. En Colombia se han reportado más de 50 razas, representadas principalmente en seis familias genéticas denominadas SRL-1 a SRL-6., las cuales deben ser contrarrestadas mediante la combinación de genes de resistencia complementarios a las diferentes familias genéticas del hongo, incorporados en variedades debidamente evaluadas. En la presente investigación se planeó estudiar bajo condiciones controladas de invernadero y campo la reacción de las progenies del cruce de las líneas isogénicas C 101 LAC y C 101 A51 del IIRRI a la población del patógeno en Colombia. Las líneas poseen los genes de resistencia Pi-1 y Pi-2 respectivamente. El gen Pi-1 muestra compatibilidad con la familia genética SRL-5 y el Pi-2 muestra compatibilidad con las familias genéticas SRL-1, SRL-2, SRL-4 y SRL. Durante el estudio se analizaron hasta la F6 108 líneas provenientes del cruce simple C 101 LAC x C 101 A51 por su reacción al añublo. Las líneas se inocularon con 19 aislamientos, 15 de ellos representativos de las seis familias genéticas del hongos y 4 no identificados. Los resultados obtenidos indicaron que 19 líneas (17,4%) presentaron resistencia tanto en el campo como a los seis linajes en las inoculaciones hechas en invernadero, demostrando que la combinación de los genes Pi-1 y Pi-2 confieren resistencia a toda la población de *P. grisea* en Colombia. Se recomienda que las líneas seleccionadas por su resistencia completa a *Pyricularia* en este estudio se deben seguir evaluando en generaciones posteriores para corroborar la estabilidad de la resistencia al añublo y luego incorporarlas en programas de mejoramiento.

Palabras clave: añublo, raza, familia genética, linaje genético, resistencia complementaria, resistencia completa, resistencia durable, progenie, aislamiento, línea isogénica, *Pyricularia grisea*

SUMMARY

Rice blast caused by the fungus *Pyricularia grisea* (Sacc.) is the most important disease of rice crops throughout the world. The development of resistant varieties is the method preferred by breeders for the control of the disease; however, varieties tend to become susceptible in periods ranging from one to two years after their deployment. The great variability of the pathogen is mentioned as the cause of the breaking down of the resistance. More than 50 races grouped mainly into six genetic families named from SRL-1 to SRL-6, have been reported to exist in Colombia. The combination of complementary resistance genes between genetic families in varieties of more durable resistance conveniently evaluated is the correct way. This research, carried out under controlled greenhouse and field conditions, has been to study the reaction to the pathogen populations in Colombia of the progenies resulting from the cross between C 101 LAC x C 101 A51 from IIRRI which contain the Pi-1 and the Pi-2 resistance genes, respectively. Pi-1 gene showed compatibility with the SRL-5 genetic families and the Pi-2 gene with genetic families 1, 2, 4, and 6. A total of 109 lines obtained from the simple cross between the two isogenic lines were tested up to the F6 generation for their reaction to rice blast. These lines were inoculated with 19 isolates, 15 of which represent the six genetic families of the fungus, the four remaining isolates had not been previously classified. The results obtained showed that 19 lines (17.4%) resulted to be resistant under field conditions as well as to the six lineages of the greenhouse inoculations, indicating that the Pi-1 and Pi-2 gene combination confers resistance to the whole *P. grisea* population of Colombia. The lines selected in this study for the complete resistance to *Pyricularia* must be tested in further generations in order to confirm the stability of resistance to blast, and should be incorporated in breeding programs for future commercial varieties.

Keywords: blast, pathogen, race, genetic families, lineage, complementary resistance, complete resistance, durable resistance progeny, isolate, isogenic line, *Pyricularia grisea*

INTRODUCCIÓN

La pyricularia, añublo o quemazón del arroz causado por el hongo *Pyricularia grisea* (Sacc), es la enfermedad más limitante del cultivo en todo el mundo, ocasionando grandes pérdidas en producción, tanto en arroz de riego como de secano (Ou, 1985). El uso de variedades resistentes al hongo ha sido el método más utilizado, junto con el control químico, para combatir la enfermedad. Sin embargo, la resistencia genética incorporada a las variedades comerciales colombianas ha sido poco estable, ocurriendo un rompimiento de la resistencia en un periodo de uno a tres años, después de su liberación (Correa y Zeigler, 1993a y 1993b; Tapiero, 1993).

Existen varios puntos de vista a los que se le atribuye la poca durabilidad de la resistencia de las variedades liberadas:

- Alta diversidad genética del hongo que se manifiesta en la existencia de razas fisiológicas (Atkins et al, 1967; Ou, 1985) compatibles con genes de resistencia incorporados en nuevas variedades (Hammer et al, 1992; Correa y Zeigler, 1993a).
- Errores de evaluación en los ensayos de mejoramiento de arroz. Utilizándose aislamientos del patógeno que no representan toda la variabilidad en virulencia de una región, facilitando los escapes a la infección.
- Selección de líneas con pocas lesiones

compatibles clasificadas como variedades resistentes debido a la poca presión de la enfermedad y no a una verdadera resistencia genética; obteniéndose variedades que al ser seleccionadas y liberadas, una vez expuestas a las razas compatibles del hongo estas aumentan en frecuencia, resultan susceptibles en su sitio de origen o en otras áreas geográficas donde son sembradas (Crill et al, 1981; Buddenhagen, 1983).

De acuerdo a lo anterior y para contribuir a la solución a este problema, el programa de Arroz del CIAT, desarrolló e implementó una estrategia de mejoramiento, para obtener líneas con resistencia estable a pyricularia. Esta metodología consiste en evaluar y seleccionar líneas en sitios donde la presión de la

enfermedad y la diversidad genética del patógeno sean altas. En Colombia, la estación experimental de Santa Rosa, localizada a 20 Km de Villavicencio (Llanos Orientales), es el sitio adecuado para llevar a cabo este tipo de ensayos de selección, ya que las condiciones climáticas son propicias para que se presenten altas presiones de la enfermedad y además se ha determinado una gran diversidad genética de *P. grisea* (Correa y Zeigler 1993a y 1993b; Levy et al, 1993; CIAT, Informes Anuales, 1985-1993).

El CIAT, también se concentra en el estudio de frecuencias de virulencia del hongo y sus combinaciones para la identificación de genes de resistencia útiles en el programa de arroz que permitan mejorar las estrategias para el desarrollo de materiales resistentes. Para esto, se están llevando a cabo investigaciones que ayuden a estudiar la dinámica y los procesos que conllevan a la evolución del patógeno, mediante la caracterización de la estructura genética y la diversidad en virulencia de *P. grisea*; a si mismo se está analizando la genética de la resistencia identificando genes de resistencia en las plantas mediante el uso de marcadores moleculares (Correa 1994; Levy et al, 1991; Tohme et al, 1991).

Una metodología para apoyar esta estrategia de mejoramiento, es la selección de fenotipos virulentos representativos de toda la diversidad de *P. grisea* en Colombia, lo cual sería de gran importancia, para identificar bajo condiciones controladas de invernadero, germoplasma de arroz con resistencia complementaria al patógeno, puesto que es conocido que una sola raza y/o fenotipo de virulencia no es capaz de atacar todo el grupo de variedades y/o líneas de prueba. (Correa et al, 1994). El germoplasma identificado con resistencia complementaria puede ser incorporado en los programas de mejoramiento para el desarrollo de una resistencia estable al añublo.

A partir de 1991, utilizando la técnica denominada "DNA-Fingerprinting" se logró agrupar la población del patógeno en Colombia en seis linajes genéticos estadísticamente diferentes denominados SRL1-SRL6, existiendo una alta correlación entre la estructura genética de los aislamientos de cada linaje y sus espectros de virulencia (Levy et al, 1993). Cada linaje genético está compuesto de varias razas patogénicas, donde una raza puede estar presente en linajes genéticos diferentes, y un mismo linaje puede ser recuperado de cultivares diferentes. El espectro de virulencia de los seis linajes del hongo mostró compatibilidad con todos los genes de resistencia conocidos (Correa y Zeigler, 1993a).

La naturaleza clonal del patógeno y la especificidad de los factores de virulencia/avirulencia encontrados dentro de cada linaje genético permiten inferir que cultivares observados como susceptibles en condiciones de campo, pueden poseer resistencia a gran

parte de la población del hongo y por lo tanto ser usados como fuentes de resistencia en un programa de mejoramiento (Correa, comunicación personal, 1998).

Caracterizando la estructura genética con la técnica "DNA-Fingerprinting" y realizando análisis de virulencias y sus frecuencias en la población del patógeno, se da un fuerte apoyo a la estrategia de mejoramiento implementada por el programa de Arroz del CIAT desde 1985. De esta manera se pueden desarrollar líneas con resistencia estable a *Pyricularia* basada en la selección de progenitores que muestran susceptibilidad a parte de la población del hongo, pretendiendo obtener una resistencia a todos los linajes compatibles mediante la acumulación de genes de resistencia complementarios. Tal es el caso de la variedad *Oryzica* Llanos 5 que ha presentado resistencia durable a los seis linajes del hongo desde 1989 cuando fue liberada hasta el presente año (1998), pasando por más de 15 ciclos de cultivo; sin perder su resistencia. (Correa y Martínez, 1995). *Oryzica* Llanos 5 fue obtenida a partir del cruzamiento de 5 progenitores, cada uno de los cuales presenta susceptibilidad a parte de la población del hongo en Colombia, es decir, que en ella se logró piramidar un grupo de genes de resistencia complementarios que excluyen toda la población del patógeno en nuestro país.

A las líneas isogénicas C101A51 y C101LAC obtenidas a través del IRRI, utilizando técnicas moleculares se les identificaron los genes de resistencia a *P. grisea* Pi-2 y Pi-1, respectivamente.

En inoculaciones hechas previamente a ambas isogénicas en condiciones controladas de invernadero y utilizando un grupo de aislamientos representativos de los seis linajes genéticos del hongo en Colombia, se logró determinar que el gen Pi-2 confiere resistencia a los linajes genéticos SRL-5 y SRL-3 y el gen Pi-1 confiere resistencia a los linajes genéticos SRL-1, SRL-2, SRL-3, SRL-4 y SRL-6. (Correa y Martínez, 1995).

Basados en esta información se desarrolló la hipótesis de la exclusión de linajes compatibles mediante cruzamientos entre ambas líneas isogénicas con el propósito de generar líneas resistentes a los seis linajes del hongo, puesto que las resistencias complementarias de los genes Pi-1 y Pi-2 excluyen en conjunto la población del hongo en Colombia (Correa y Martínez, 1995).

Para comprobar la hipótesis en esta investigación se planteó evaluar en el campo 108 líneas (F6) provenientes del cruzamiento C101A51(Pi-2) x C101LAC(Pi-1) en un sitio de alta presión de la enfermedad. Adicionalmente se programó evaluar la su reacción a un grupo de 19 aislamientos de *P. grisea*, 15 de ellos representativos de los seis linajes del hongo y 4 cuyos espectros y frecuencias de virulencia no se conocían, pero provenían de 4 líneas de prueba del programa de arroz

del CIAT; buscando seleccionar al final líneas con resistencia amplia y complementaria a los linajes del patógeno para las condiciones de Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de líneas

Utilizando un método simplificado de cruzamiento según Sarkarung, 1991, se realizó un cruzamiento simple entre C101A51 y C101LAC, obteniéndose 125 líneas, de las cuales 108 se llevaron hasta la generación F6.

La evaluación y selección de líneas resistentes al patógeno se realizó desde la generación F2 hasta la F6, bajo condiciones de campo e invernadero, según se describe a continuación:

Evaluación de campo: Se llevó a cabo en la estación experimental del CIAT, Santa Rosa, con temperatura de 21°- 30 °C precipitación promedio 2500mm y humedad relativa es mayor del 80%.

Se planteó un diseño completamente al azar con 2 repeticiones, en donde cada repetición correspondía a un surco de 5 m. de longitud. Las líneas de prueba se sembraron a razón de tres gramos de semilla por metro lineal, a una distancia entre surcos de 17 cm. Se utilizaron como controles los progenitores C101A51 y C101LAC.

El alto nivel de la enfermedad se mantuvo mediante el uso de surcos esparcidos con una mezcla de líneas de arroz constituidas por variedades colombianas conocidas por su comportamiento diferencial de resistencia o susceptibilidad a los diversos linajes del hongo. Además se incluyó la variedad Fanny por su alta susceptibilidad a la mayoría de los linajes colombianos de *P. grisea*.

La mezcla de esparcidos se sembró en surcos de 6 metros, 20 días antes de la siembra de las líneas de prueba en sentido perpendicular a estas. Las fertilizaciones fueron básicamente nitrogenadas, aplicando sulfato de amonio en dosis de 200 kg de N/ha..

Para incremento de inóculo las mismas variedades se sembraron en parcelas individuales con una alta densidad de siembra (300 Kg / ha) bajo condiciones de infección natural. A los 20 días después de la siembra se cosecharon las hojas infectadas con *Pyricularia*, se secaron a temperatura ambiente, se molieron y distribuyeron sobre la mezcla de esparcidos, para iniciar el establecimiento de una infección uniforme.

En el momento oportuno en cada línea se realizaron dos evaluaciones en hoja; la primera a los 35 y la segunda a los 45 días después de la siembra. De igual manera se realizaron dos evaluaciones en cuello de panícula; la primera se realizó a los 25 y la segunda a los

30 días después de la emergencia de la panícula, teniendo en cuenta la escala de evaluación del IRRI (IRRI, 1988). Se calificó como resistentes las líneas con grado de evaluación en hoja y cuello menor o igual a 3.

Evaluación en Invernadero: Se llevó a cabo en la estación experimental del CIAT, Palmira bajo condiciones controladas de invernadero. Se utilizaron las 108 líneas de prueba y a las dos líneas isogénicas C101A51 (Pi-2) y C101LAC (Pi-1), las cuales se inocularon con 15 aislamientos representativos de los seis linajes genéticos del país y 4 aislamientos a los cuales no se les había identificado su linaje.

Se planteó un diseño completamente al azar, en el cual los tratamientos están definidos por los aislamientos, las líneas y las dos isolíneas. La unidad de observación estuvo constituida por potes con 10 plantas de la misma línea. Se siguieron las etapas descritas a continuación:

Siembra de las líneas de prueba: Los materiales fueron sembrados individualmente en potes plásticos de 4" de diámetro. En cada pote se depositaron 15 semillas de cada línea, para luego ralea dejando 10 plantas/pote/línea. Las plantas permanecieron en un invernadero de vidrio hasta los 20-21 días de edad, se fertilizaron con una dosis de 200 Kg de N/ha, utilizando sulfato de amonio, fraccionándose en tres partes iguales. La primera fertilización se realizó a los 6 días después de la siembra, la segunda a los 12 días y la tercera un día antes de la inoculación. Cuando el material estuvo listo para la inoculación, se trasladó a una casa de malla.

Selección de los aislamientos: Se seleccionaron 15 aislamientos mediante análisis dactiloscópico de ADN (MGR-DNA "Fingerprinting") y se incluyeron 4 aislamientos a los cuales no se les había realizado esta prueba (Tabla 1)

A los 15 aislamientos identificados se les realizaron pruebas de virulencia en invernadero, inoculándolos sobre el grupo de variedades diferenciales internacionales y sobre todo el grupo de variedades comerciales colombianas para confirmar que tales aislamientos fueran verdaderamente representativos de los seis linajes del país y tuvieran el mayor espectro de virulencia dentro de cada linaje del patógeno.

Siembra y multiplicación del hongo en el laboratorio: Cada uno de los aislamientos (cultivos monospóricos) previamente almacenados en papel filtro, se sembraron individualmente en cajas petri con el medio de cultivo Agar Salvado de Arroz (Agar, 16gr + salvado de arroz, 16gr + sucrosa, 4gr + agua destilada, 800ml) en cámaras de aislamiento y se incubaron a 28°C durante 8 días. A partir de este momento la colonia sembrada estuvo lista para su incremento masivo en cajas de

Tabla 1. Aislamientos utilizados en las inoculaciones y su respectivo linaje

Aislamiento	Linaje
Fanny-54	SRL-6
Selecta 3-20 (1)	SRL-6
Fanny-47-1	SRL-5
Isolínea 6-7-1	SRL-5
Isolínea 22-3-1	SRL-5
IR 42-5-2	SRL-5
Isolínea 17-7-3	SRL-5
Oryzica Caribe 8 (31-2)	SRL-4
Oryzica Caribe 8 (33-1)	SRL-4
Metica 1-33-18	SRL-3
Metica 1-33-20	SRL-3
Oryzica Llanos 5 (237-2)	SRL-2
CICA 9 (151-1)	SRL-2
CICA 9 (52-1)	SRL-1
CICA 9 (15)	SRL-1
CT10491-12-4-2T-3P-3 (1-1)	?
CT10491-12-4-2T-3P-1P-3 (3-1)	?
1x6-12-278 (30-1R)	?
1x6-12-278 (32-1R)	?

petri antes de la inoculación. La colonia monospórica bien esporulada en las cajas de Petri se raspó con una espátula depositando el producto en tubos de ensayo de 10 ml en medio de cultivo líquido V-8 (Jugo líquido de V-8, 100 ml + agua destilada, 100 ml). El aislamiento se homogenizó para obtener una mezcla concentrada de conidias. Posteriormente con la ayuda de una pipeta Pasteur se transfirieron 8 gotas de la mezcla concentrada a cada caja de Petri con el medio Agar Salvado de Arroz, utilizando para cada aislamiento 65 cajas. La mezcla se esparció sobre el medio con la ayuda de un rastrillo de vidrio. Las cajas de Petri así preparadas se incubaron durante 8 días a 28°C, tiempo suficiente para el crecimiento del hongo y obtener aislamientos bien esporulados para la inoculación en casa de malla.

Preparación del inóculo: Obtenido el aislamiento crecido en el medio de cultivo, se preparó una suspensión de conidias, raspando con una espátula el hongo desarrollado sobre el medio. El raspado se depositó en un erlenmeyer de 500 ml, al cual se le agregaron 150 ml de una solución de gelatina al 0,5%. La solución de conidias se colocó sobre un agitador magnético durante 15 minutos para separar las conidias del micelio. Luego se tamizó con una malla fina para retener el micelio y dejar pasar sólo las esporas del hongo. Para las inoculaciones se calibraron las concentraciones de los aislamientos a razón de 5×10^5 esporas por ml de la solución de gelatina mediante la utilización de un hemacitómetro.

Inoculación de las plantas: Cada línea se inoculó en dos repeticiones por aislamiento. Las inoculaciones se realizaron cuando las plantas tenían 20-21 días de edad, para lo cual fueron trasladadas a la casa de malla y se organizaron dentro de unas jaulas plásticas de incubación, dejando 16 materos por jaula. Estas jaulas proporcionaban condiciones adecuadas para el buen desarrollo de la enfermedad, es decir alta humedad relativa y temperatura (25° y 28° C) Para mantener y conservar la humedad y evitar que la temperatura aumentara dentro de las jaulas de incubación, se hicieron aspersiones con agua tres veces al día. Después de la última aspersión (en horas de la tarde), las jaulas se tapaban para favorecer durante las horas de la noche una alta humedad relativa y así mantener un período de rocío mayor de 10 horas, el cual era indispensable para la infección y el desarrollo de la enfermedad. La aspersión del inóculo se realizó con un aspersor de 14 lib/pul² de presión, aplicando 20 ml de inóculo por jaula.

Las evaluaciones se realizaron a los 15 días después de la inoculación (35-36dds), teniendo en cuenta el tipo de lesión predominante (0-4), donde cero indica ausencia de síntomas y tipo de lesión 4, son lesiones bien definidas con forma de rombo; también se evaluó teniendo en cuenta el porcentaje de área foliar afectada (0-100).

Análisis estadístico.

Con los datos de las reacciones a los 19 aislamientos y la evaluación de campo, se definió el conjunto de variables binarias que describe la reacción de las 108 líneas. Se definió como uno a la reacción altamente resistente (HR o R), y como 0 al resto.

Sobre las variables se realizó un análisis de correspondencia múltiple, o técnica multivariada para datos cualitativos, que busca las principales dimensiones de variación, para encontrar en ellas las posiciones de cada individuo o línea y con ello poder definir, por su proximidad, patrones de comportamiento similares. Estos análisis fueron realizados con el Proc Corresp y El Proc Cluster del paquete estadístico SAS, versión 6.12. La gráfica fue generada por SAS GRAPH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del experimento permitieron, mediante el análisis estadístico, seleccionar materiales promisorios para los programas de mejoramiento de arroz con resistencia a *P. oryzae*.

El análisis de correspondencia múltiple mostró la existencia de grupos de individuos representables en 3 dimensiones, puesto que la variabilidad explicada por ellos supera el 61% con base en las coordenadas (Figura 1).

El análisis de cluster, con un nivel de R²

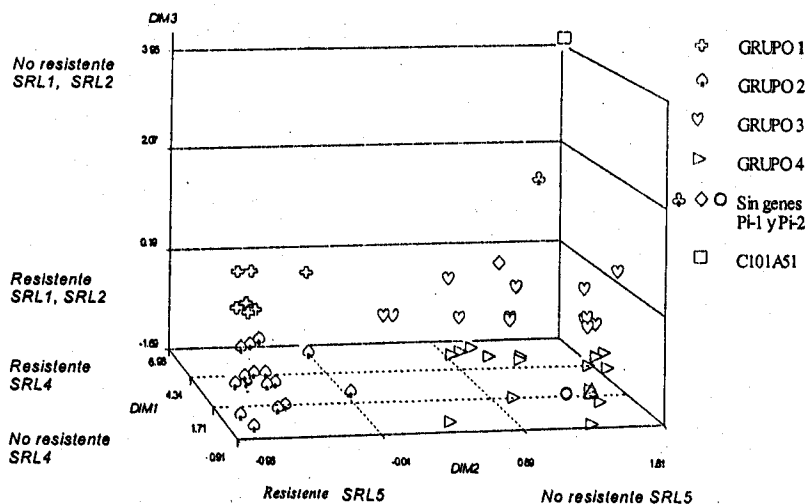


Figura 1. Clasificación por análisis de correspondencia múltiple de líneas del cruce C101A51(Pi-2) x C101LAC(Pi-1) según su reacción a 19 aislamientos de seis linajes Colombianos de *Pyricularia grisea*

Tabla 2. Composición de los grupos generados por el Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM) y los métodos de Clasificación

Grupo	Número de Líneas
0	19
1	13
2	30
3*	23
4	21
5	1
6	1
7	1
8**	1

* Incluye la línea isogénica C101LAC(Pi-1) ** Este grupo está constituido únicamente por la línea isogénica C101A51(Pi-2)

del 90%, clasificó las 108 líneas y los dos progenitores (C101 A51 y C101 LAC) en 8 grupos, de acuerdo a la reacción de resistencia o susceptibilidad a los 19 aislamientos y por su reacción en el campo. El grupo 1 se subdividió en 2 partes: una que conserva el nombre y otra llamada grupo 0 (Tabla 2). El grupo 0 es considerado como el más importante por cuanto está constituido por 19 líneas idénticas, resistentes a los 19 aislamientos utilizados en esta investigación, presentando además resistencia en el campo (Tabla 3).

Con los datos obtenidos sobre el comportamiento de estas líneas se puede demostrar que se ha logrado comprobar la "Hipótesis de la exclusión de linajes" planteada por Zeigler (Zeigler et al, 1994) puesto que por la complementariedad de los genes de resistencia (Pi-1 y Pi-2), se excluye toda compatibilidad en la población del patógeno, presentando resistencia a los seis linajes del hongo existentes en Colombia.

Las líneas del grupo 1, son similares entre sí al grupo 0, pero no llegan a condiciones de identidad. El análisis aisló tres líneas que segregaron sin los genes Pi-1 y Pi-2 (Grupos 5-7); los grupos 5 y 6 se caracterizaron por presentar resistencia total sólo al linaje SRL-3, el grupo 7 presentó resistencia total a los

Tabla 3. Líneas de arroz (F₆) del cruce C101 A51 (Pi-2) x C101 LAC (Pi-1) resistentes a *Pyricularia grisea* en el campo y en el invernadero

Líneas de Arroz	Reacción en campo		Reacción en Invernadero	
	Hoja (1-9)*	Panícula (1-9)	SRL** 6/4/2/1	SRL** 5
CT13432 (PL2)-1-1-M-M-M	2	1	R	R
CT13432 (PL2)-4-2-M-M-M	2	3	R	R
CT13432 (PL2)-8-2-M-M-M	2	3	R	R
CT13432 (PL2)-11-1-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL3)-2-1-M-M-M	3	1	R	R
CT13432 (PL3)-12-2-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL4)-2-1-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL4)-2-2-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL4)-14-1-M-M-M	3	1	R	R
CT13432 (PL5)-1-1-M-M-M	2	1	R	R
CT13432 (PL5)-1-2-M-M-M	2	1	R	R
CT13432 (PL7)-5-2-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL7)-7-1-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL7)-10-1-M-M-M	2	3	R	R
CT13432 (PL8)-7-2-M-M-M	2	1	R	R
CT13432 (PL8)-9-1-M-M-M	2	3	R	R
CT13432 (PL9)-9-2-M-M-M	2	3	R	R
CT13432 (PL8)-10-2-M-M-M	3	3	R	R
CT13432 (PL8)-15-3-M-M-M	2	1	R	R
C 101 A 51 (Pi-2)	8	9	S	R
C 101 LAC (Pi-1)	5	5	R	S

* Escala Estandar de Evaluación del IRR1 con grados (1-9); R= Resistente (1-3); SRL = Linaje genético 1-6, todas las líneas son resistentes al linaje SRL-3

linajes SRL-3 y SRL-1, el grupo 8 conformado por la línea isogénica C101A51 está separado de los demás por presentar resistencia total sólo a los linajes SRL-3 y SRL-5. La línea isogénica C101LAC se ubica en el grupo 3, el cual se caracterizó por ser altamente susceptible al linaje SRL-5. El grupo 4 también se caracterizó por su alta susceptibilidad al linaje SRL-5. La alta susceptibilidad observada en el campo en los grupos 2 y 4 se debió probablemente a que en el momento de la evaluación hubo alta presión de los linajes compatibles con ellos (Tabla 4).

Los linajes SRL-3 y SRL-6, no incluye-

ron en el análisis gráfico por cuanto el linaje SRL-3 no presentó compatibilidad con ninguno de los 8 grupos de líneas probadas y el SRL-6 0 no presentó compatibilidad con el grupo 0. Los 4 aislamientos a los cuales no se les había determinado su linaje no presentaron un comportamiento atípico con respecto a los 6 linajes del patógeno existentes en Colombia, de acuerdo a su comportamiento con las 108 líneas de prueba y con los 2 progenitores (Tabla 5).

CONCLUSIONES

Las 19 líneas con resistencia amplia a *P. grisea*, pertenecientes al grupo 0 pueden ser incluidas en los programas de mejoramiento para ser utilizadas como fuentes de resistencia al patógeno, cruzándolas con otras variedades y/o líneas con características agronómicas deseables para incorporar los genes de

resistencia Pi-1, Pi-2, y de ésta manera obtener variedades de interés comercial con resistencia estable y durable a *P. grisea*.

En los grupos diferentes al 0 (1-7) se encontraron líneas que presentaron reacciones diversas a los seis linajes del hongo; estos materiales también pueden ser utilizados en los programas de mejoramiento como fuentes de resistencia complementaria. Lo cual quiere decir que se pueden combinar con otras variedades y/o líneas a las cuales se les conozca su reacción a *P. grisea* y buscar de esta manera la obtención de materiales con resistencia durable al añublo.

Tabla 4. Porcentaje de compatibilidad de los 19 aislamientos de *Pyricularia grisea* Inoculados sobre los 8 grupos de líneas obtenidos por el Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM).

Grupo	N	SRL-1	SRL-2	SRL-3	SRL-4	SRL-5	SRL-6	Campo
0	19	0	0	0	0	0	0	0
1	13	0	0	0	0	3	16	58
2	30	0	7	0	63	3	23	100
3	23	0	0	0	4	100	21	33
4	21	0	0	0	38	100	19	100
5	1	100	100	0	100	100	100	100
6	1	100	100	0	100	100	100	100
7	1	0	100	0	100	100	100	100
8	1	100	100	0	100	0	100	100

0 Significa que no hay compatibilidad de los aislamientos con las líneas

Tabla 5. Porcentaje de compatibilidad de los 4 aislamientos de linaje desconocido, frente a los ocho grupos de líneas generados por el Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM).

Grupo	No	CT10491-12-4-2T-3P-3(1-1)*	CT10491-12-4-2T-3P-1P-3(3-1)*	1X6-12-278 (30-1R)*	1X6-12-278 (32-1R)*
0	19	0	0	0	0
1	13	0	0	6	3
2	30	3	3	67	93
3	23	0	0	8	13
4	21	0	5	52	62
5	1	0	100	100	100
6	1	100	0	100	100
7	1	0	0	100	100
C101A51**	Control	100	100	100	100
C101LAC	Control	0	0	0	0

*No supera la resistencia de ambas líneas isogénicas C101A51 (Pi-2) y C101LAC (Pi-1) ** Es el mismo grupo 8

AGRADECIMIENTOS

A Myriam Cristina Duque por su colaboración en el análisis estadístico de esta investigación y al personal técnico: Luis Hernando Rosero, Jaime Gallego, Daniel Zambrano, Jesús Enrique Ávila

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atkins, J.G; Robert, A.L; Adair, C.R; Goto, K; Kozaka, T; Yanagida, R; Yamada, M. y Matsumoto, S. 1967. An international set of rice varieties for differentiating races of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 57: 297-301.
- Buddenhagen, I.W. 1983. Disease resistance in rice. In: Durable resistance in crops. Ed. Lamberti. Plenus Press. New York. P 401-428.
- CIAT. 1985. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1986. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1987. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1988. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1989. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1990. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1991. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1992. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- CIAT. 1993. Informe anual del programa de arroz. Cali, Colombia.
- Correa, F.J. 1994. Characterization of blast populations (*P. grisea*) using DNA- Fingerprinting and virulence analysis. (Abstract). VII Annual meeting of the international program on rice biotechnology. May 16-20. Bali, Indonesia.
- Correa-Victoria, F.J. y Zeigler, R.S. 1993a. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "Hot Spot" breeding site in eastern Colombia. *Plant Disease*. 77: 1029-1035.
- Correa-Victoria, F.J y Zeigler, R.S. 1993b. Field breeding for durable rice blast resistance in the presence of diverse pathogen populations. In: Durability of disease resistance. Th. Jacobs and J.E, Parlevliet (eds) Kluwer Academic Publishers. 375 p.
- Correa-Victoria, F.J; Zeigler, R.S y Levy, M. 1994. Virulence characteristics of genetic families of *Pyricularia grisea* in Colombia (Proc. Int. Symp. Rice Blast Disease, Wisconsin, 1994) (Leong, S; et al; eds) CABI, Wallingford, U.K. (1994) 211-229.
- Correa-Victoria, F.J. y Martínez, C. 1995. Genetic structure and virulence diversity of *Pyricularia grisea* in breeding for rice blast resistance. Proceedings of an international symposium on the use of induced mutations and molecular techniques for crop improvement jointly organized by the international atomic energy agency and the food and agriculture organization of the united nations and help in Vienna. P 133-145.
- Crill, J. P; Ham, Y. S. y Beachell, H. M. 1981. The rice blast disease in Korea and its control with race prediction and gene rotation. *Korean Journal Breeding*. 13(2): 106-114.
- Hammer, J. E; Talbot, N. J. y Levy, M. 1992. Genome dynamics and pathotype evolution in the rice blast fungus. In: Proc Sixth Intl. Symp. Mol. Plant-Microb. Seattle, W.A. USA.
- IRRI. 1983. Sistema de Evaluación Estándar para Arroz. Programa de Pruebas Internacionales de Arroz. 2a. ed. Los Baños, Laguna, Filipinas. 61p.
- Levy, M; Romao, J; Marchetti, M. A y Hammer, J. E. 1991. DNA- Fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. *The Plant Cell*. 3: 95-102.
- Levy, M; Correa-Victoria, F. J; Zeigler, R.S; Xu, S. and Hammer, J. E. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. *Phytopathology*. 83 (12): 1427-1433.
- Ou, S.H. 1985. Rice diseases. 2da ed. Ed. Commonwealth Mycological Institute. England. 380 p.
- Sarkarung, S. 1991. A simplified crossing method for rice breeding. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Colombia. 32 p.
- Tapiero, L.A. 1993. Manejo eficiente de la *Pyricularia* en el cultivo del arroz en Colombia. *Arroz*. 42 (382): 26-29.
- Thome, J; Montenegro, M. V; Correa, F; Martínez, C; Zaigler, R y Rocca, W. 1991. Tagging resistance genes to rice hoja blanca virus and Colombian isolates of rice blast with RFLP and RAP markers. Fifth Annual Meeting of the International Program on Rice Biotechnology. October 2-5, 1991. Tucson, Arizona, USA.
- Zeigler, R. S; Thome, J; Nelson, R; Levy, M y Correa-Victoria, F.J. 1994. Lineage Exclusion: A proposal for linking blast population analysis to resistance breeding. In: Rice Blast Disease. International Rice Research Institute. P 267-292.

Reprinted with permission from ASCOLFI. Originally published in *Fitopatología Colombiana* 23(2):54-58, Copyright 1999.