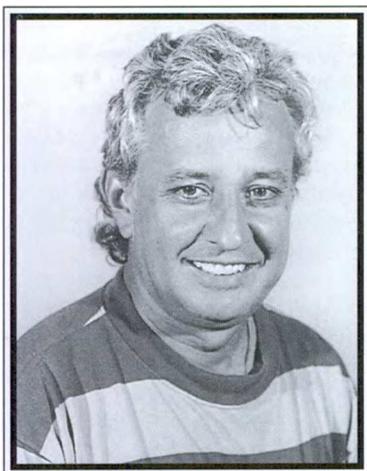


Caracterización de la Estructura Genética y la Virulencia de *Pyricularia grisea* Sacc. para Desarrollar Variedades Resistentes al Añublo del Arroz



Fernando J. Correa-Victoria

Fernando J. Correa-Victoria¹,
Elcio P. Guimarães² y
César P. Martínez¹

¹Investigadores del Programa de Arroz del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Apdo. Aéreo 6713, Cali, Colombia;
²Investigador del Programa de Arroz del CIAT (actualmente en EMBRAPA-CNPAP, Brasil)

Contenido

Introducción

Rompimiento de la Resistencia en Variedades Comerciales

Diversidad en la Virulencia del Patógeno

Estructura Genética del Agente Causal del Añublo del Arroz

Espectro de la Virulencia de Linajes Genéticos de *Pyricularia grisea* Sacc.: Implicaciones para el Desarrollo de Resistencia al Patógeno

Resistencia Estable al Añublo en Cultivares Comerciales de Arroz

Resumen de los Pasos para el Desarrollo de Resistencia al Añublo del Arroz

Referencias

Introducción

El añublo del arroz, causado por el hongo *Pyricularia grisea* Sacc., estado anamorfo de *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, es una de las mayores limitaciones de la producción de arroz, particularmente bajo las condiciones de secano favorecido que prevalecen en América Latina. El hongo produce lesiones necróticas en las hojas de plantas jóvenes o maduras, pudiendo infectar también los nudos y los tallos. Generalmente infecta el cuello y las panículas de plantas maduras, y puede causar daños severos a la planta y afectar la producción.

El desarrollo de variedades resistentes al patógeno ha sido uno de los medios más preferidos para el control de la enfermedad; sin embargo, la resistencia ha tenido poca duración. Una de las posibles razones de esa ruptura de la resistencia es el surgimiento de nuevos patotipos del hongo, compatibles con los genes de resistencia liberados. Otra razón muy común es la falta de métodos de campo adecuados para la evaluación y la selección de líneas segregantes; con frecuencia, los métodos usados permiten que las líneas escapen a la infección del hongo, y entonces ellas se liberan como variedades resistentes cuando en realidad son susceptibles a los patotipos existentes.

Como solución a este problema, los fitomejoradores han desarrollado diferentes estrategias para combinar fuentes de resistencia múltiples, estrategias que incluyen la selección recurrente (ver Guimarães y Correa-Victoria, Capítulo 13 de esta publicación); los fitopatólogos, por su parte, han estudiado la patogenidad y virulencia del hongo para ayudar en la selección de esas fuentes.

El Programa de Arroz del CIAT considera que la exposición continua de líneas segregantes de arroz a una población diversa del patógeno, junto

con una información detallada de la estructura genética y de la dinámica en la virulencia del hongo, reducirían el riesgo del rompimiento de la resistencia, permitiendo la identificación de una resistencia más estable. El Programa de Arroz del CIAT ha venido conduciendo dichas evaluaciones y selecciones en sitios denominados 'hot spots', bajo condiciones de alta presión de la enfermedad favorecida por condiciones ambientales, y con una alta diversidad en la virulencia del patógeno.

En este capítulo se resumen los resultados de estudios sobre la caracterización de la estructura genética y la virulencia de una población de *P. grisea* en Colombia, y se analizan sus implicaciones en la identificación de fuentes de resistencia a dicho patógeno, para utilizarlas en programas convencionales de mejoramiento y en el desarrollo de poblaciones mejoradas por medio de la selección recurrente.

Rompimiento de la Resistencia en Variedades Comerciales

En los últimos 25 años, el Programa de Arroz del CIAT ha venido haciendo un gran esfuerzo para tratar de combinar alto rendimiento, buena calidad de grano, maduración temprana y resistencia a varias plagas y enfermedades, incluida la resistencia estable al añublo del arroz. Se han aplicado diferentes métodos para el desarrollo de variedades resistentes a *P. grisea*, entre los cuales están la evaluación y selección de líneas introducidas del International Rice Research Institute (IRRI); la incorporación de varias fuentes de resistencia al hongo, tales como Tadukan, Colombia 1, Tetep,

Dissi Hatif, Mamoriaka y C 46-15; y el desarrollo de multilineas (Rosero, 1979).

El mejoramiento por resistencia continuó basado en la combinación y piramidación de múltiples fuentes de resistencia en los nuevos cultivares; además de las líneas mencionadas anteriormente, se incluyó el cultivar Carreon como fuente de resistencia. El éxito de estas metodologías fue limitado, debido a la falta de información sobre la genética de la resistencia en los progenitores donantes, y a las técnicas ineficientes de evaluación y selección de líneas con las combinaciones deseadas de genes de resistencia (Weeraratne et al., 1981). También se intentó, sin éxito, el mejoramiento con mutaciones, mezclas de cultivares y combinación de genes mayores y menores.

Siguiendo los métodos de mejoramiento mencionados, en Colombia se liberaron varias líneas de buen rendimiento con resistencia al añublo del arroz, con los nombres de CICA 4, CICA 6, CICA 7, CICA 9, CICA 8, Metica 1, Oryzica 1, Oryzica 3, Línea 2 y Oryzica Llanos 5. Sin embargo, todos esos cultivares se tornaron susceptibles después de

cultivarlos comercialmente durante un periodo de 1 a 3 años (Cuadro 1).

En 1985, el Programa de Arroz del CIAT cambió su estrategia, trasladando sus trabajos de mejoramiento para resistencia al añublo del arroz a un sitio de los comúnmente conocidos como 'hot spots', con alta diversidad del patógeno y una presión uniforme de la enfermedad. Este sitio, la Estación Experimental Santa Rosa (EESR), se encuentra ubicado en una importante zona arrocera de Colombia, donde *P. grisea* es la principal limitación de la producción.

En la EESR se mantiene una uniforme y alta incidencia de la enfermedad en las parcelas de mejoramiento (generaciones segregantes F_2 - F_6) durante todo el ciclo del cultivo; eso se consigue mediante el uso de surcos esparcidores, compuestos generalmente por una mezcla de cultivares de arroz que han mostrado susceptibilidad complementaria a todos los patotipos del hongo encontrados en el área. El escape a la infección se minimiza mediante la exposición continua al patógeno durante todo el ciclo vegetativo y en diferentes generaciones.

Cuadro 1. Cultivares de arroz con resistencia a *Pyricularia grisea* liberados en Colombia.

Cultivar	Fuente de resistencia	Año de liberación	Rompimiento de la resistencia	Años de resistencia
CICA 4	Peta	1971	1972	1
CICA 6	IR822-432	1974	1975	1
CICA 7	Colombia 1	1976	1978	2
CICA 9	C 46-15	1976	1977	1
CICA 8	Tetep	1978	1980	2
Metica 1	Colombia 1	1981	1982	1
Oryzica 1	C 46-15, Tetep, Colombia 1	1982	1985	3
Oryzica 3	Colombia 1, Tetep	1984	1985	1
Línea 2	Oryzica 1	1988	1989	1
Oryzica Llanos 5	IR36, 5685, Colombia 1, CICA 9	1989	NO	> 5

Los datos preliminares indican que la resistencia en líneas de arroz seleccionadas en la EESR es estable en el tiempo y el espacio (Correa-Victoria y Zeigler, 1993a, 1995; Cuevas-Pérez y Gaona, 1988). La variedad comercial *Oryzica Llanos 5*, la cual exhibe una resistencia completa al añublo, fue desarrollada en este sitio crítico ('hot spot'). Después de 6 años de la liberación de esta variedad, durante los cuales se ha cultivado en un área superior a las 300,000 ha (Cuadro 1), ella permanece resistente al patógeno bajo condiciones comerciales.

Estudios sobre la resistencia al añublo, obtenida por selección en este sitio, indican que las líneas de arroz con altos niveles de resistencia desde generaciones tempranas, como *Oryzica Llanos 5*, tienden a ser más estables que aquellas líneas con niveles moderados de resistencia (Correa-Victoria y Zeigler, 1993a, 1995). La alta y relativa durabilidad de la resistencia en estos cultivares de arroz está aparentemente controlada por la combinación de genes de resistencia diferentes y complementarios (Correa-Victoria y Zeigler, 1995); estos genes se pueden acumular eficientemente en forma gradual, mediante el uso de métodos de selección recurrente.

Diversidad en la Virulencia del Patógeno

La caracterización continua del hongo en términos de su composición en razas, compatibilidad con genes de resistencia conocidos y frecuencia de ciertos genes de virulencia, se ha establecido como un trabajo rutinario en el Programa de Arroz del CIAT; se trata de evaluar la efectividad de la EESR como sitio crítico para el desarrollo de líneas de arroz resistentes al añublo que ataca ese cereal.

En las inoculaciones controladas de aislamientos del hongo colectados de diferentes fuentes en la EESR, se han detectado más de 45 razas internacionales; sin embargo, este sistema no describe completamente todo el espectro de virulencia del patógeno, ya que en varios aislamientos de una misma raza se pudieron diferenciar razas diferentes al agregar otros cultivares de arroz al conjunto de diferenciales internacionales (Correa-Victoria y Zeigler, 1993b).

En la población del hongo recolectada en la EESR se detectaron factores de virulencia compatibles con al menos 13 genes de resistencia conocidos. El rango en las frecuencias de virulencia en 12 cultivares de arroz, con genes de resistencia conocidos, osciló entre 0.14 y 0.78; ningún cultivar fue susceptible a todos los aislamientos y ningún aislamiento fue compatible con el cultivar *Oryzica Llanos 5* (Cuadro 2). Los aislamientos recuperados de las variedades comerciales mostraron algún tipo de especialización en cuanto a compatibilidad, y algunos de ellos reinfectaron solamente el cultivar de origen. El caso más extremo fue observado en el cultivar CICA 9, en el cual la mayoría de los aislamientos que lo reinfectaron se habían colectado del mismo cultivar.

Se observó acumulación de un gran número de factores de virulencia compatibles con la mayoría de los genes de resistencia estudiados, o con los cultivares de arroz colombianos; sin embargo, ningún aislamiento fue compatible con todos. Aunque en la población del hongo se detectó compatibilidad con el cultivar CICA 9, este factor de virulencia no estuvo presente en aislamientos que exhibieron una acumulación de un gran número de factores de virulencia (Cuadro 3).

Cuadro 2. Frecuencias de virulencia en una población de *Pyricularia grisea*, en Colombia.

Cultivar	Gen de resistencia	Frecuencia de virulencia	Número de aislamientos probados
Oryzica Llanos 5	desconocido	0	250
Fujisaka 5	Pi-i, Pi-k ^a	0.14	152
Fukunishiki	Pi-z	0.22	135
Tsuyuake	Pi-k ^m , Pi-m	0.25	118
Tetep	Pi-k ^h	0.26	149
BL-1	Pi-b	0.43	155
K-1	Pi-ta	0.47	138
Shin 2	Pi-k ^a	0.54	136
Pi - No.4	Pi-ta ²	0.64	159
Dular	Pi-k ^a	0.64	154
Kusabue	Pi-k	0.67	141
Aichi Asahi	Pi-a	0.75	145
K-59	Pi-t	0.78	111
Fanny	desconocido	0.86	167

FUENTE: Correa-Victoria y Zeigler, 1993b.

Cuadro 3. Acumulación de factores de virulencia en aislamientos de *Pyricularia grisea*, colectados en un sitio de evaluación y selección por resistencia al añublo del arroz, en Colombia.

Cultivar	Gen de resistencia	Compatibilidad* según aislamiento					
		1	2	3	4	5	6
Aichi Asahi	Pi-a	+	+	+	+	+	+
BL-1	Pi-b	+	+	+	-	+	-
Shin 2	Pi-k ^a	+	+	+	+	-	-
Dular	Pi-k ^a	+	+	+	+	-	-
Fukunishiki	Pi-z	+	-	+	-	-	-
Kanto 51	Pi-k	+	+	-	+	-	+
K-1	Pi-ta	+	+	+	+	-	-
K-59	Pi-t	+	+	+	+	-	-
CICA 9	-	-	-	-	-	+	+

* El signo + indica reacción compatible.

Los estudios sobre la diversidad en la virulencia encontrada en la población del hongo, en Colombia, sugieren claramente que para el control del añublo del arroz se necesitan nuevos genes de resistencia o combinaciones de estos genes, los cuales son sólo atacados por parte de la población del hongo. Los cultivares como Fanny, considerados como universalmente susceptibles, pueden aún contener genes de resistencia (Cuadro 2).

La interacción compatible altamente específica, que se observa

entre algunos cultivares comerciales de arroz liberados en Colombia y aislamientos del hongo recuperados de estos cultivares sugiere que, mediante cruzamientos de cultivares que muestren una resistencia complementaria, se pueden generar combinaciones potencialmente útiles de genes de resistencia, para las cuales el patógeno no muestra una acumulación de los correspondientes factores de virulencia compatibles con dichos cultivares o genes de resistencia. Este tipo de combinación se observa más claramente en el caso del cultivar CICA 9, el cual muestra

una resistencia complementaria con la mayoría de otros cultivares de arroz (Cuadro 3).

Sin embargo, es primordial caracterizar continuamente las frecuencias de los factores de virulencia y acumulación de dichos factores en la población del hongo, para determinar el posible éxito de esta estrategia en el desarrollo de resistencia a la enfermedad. Correa-Victoria y Zeigler (1993b) sugieren que la acumulación de factores de virulencia, observada en los aislamientos recuperados de los cultivares recientemente liberados, puede ser el resultado de mutaciones, o de algún mecanismo de recombinación existente, mientras que la ausencia de ciertas combinaciones de factores de virulencia se puede deber a un efecto deletéreo de tales combinaciones en el patógeno.

No se tiene información sobre ninguna evidencia de la existencia del estado sexual del hongo en condiciones naturales, a pesar de que esto sí ha sido posible en condiciones de laboratorio.

Estructura Genética del Agente Causal del Añublo del Arroz

El análisis crítico y continuo de la población del hongo en la EESR ha indicado que este sitio exhibe una gran diversidad del patógeno. La selección de fenotipos virulentos representantes de toda la diversidad de dicho patógeno sería muy importante para identificar, bajo condiciones controladas de inoculación, germoplasma de arroz con resistencia complementaria. Este germoplasma puede ser incorporado después a los programas de mejoramiento para el desarrollo de resistencia al añublo, principalmente mediante el uso de selección

recurrente que permite acumular genes de resistencia provenientes de diferentes progenitores.

Se está utilizando una sonda de ADN conocida como MGR-586, obtenida del genoma del hongo *P. grisea* (Hamer et al., 1989), para agrupar aislamientos del hongo en linajes o familias genéticas, donde cada familia tiene ciertas particularidades en su espectro de virulencia (Levy et al., 1991). La complejidad en la estructura de la virulencia encontrada en la población del hongo en Colombia, en la EESR, acentuó la necesidad de describir dicha población en términos de sus linajes, y determinar la existencia de una posible correspondencia entre tales linajes y los patrones o espectros de virulencia.

Esa complejidad en la virulencia se organizó en seis linajes genéticos estadísticamente diferentes, usando la sonda ADN-MGR-586 (Levy et al., 1993). En promedio, la similitud entre todos los linajes fue de 49%, mientras que los aislamientos dentro de cada linaje expresaron, en sus patrones dactiloscópicos, una similitud que osciló entre 92% y 98% (Levy et al., 1993).

En general, cada linaje genético está compuesto por varias razas patogénicas, y una raza puede estar presente en linajes genéticos diferentes; también un mismo linaje se puede recuperar de cultivares diferentes. Sin embargo, al estar las poblaciones de *P. grisea* compuestas por un número limitado de familias genéticas, y si existe una alta relación entre un linaje y su espectro de virulencia, el análisis de la población del hongo a nivel de linajes y su composición en virulencia puede ayudar a desarrollar una estrategia para la búsqueda de resistencia genética al añublo, contra la población del hongo presente en un área determinada.

Espectro de la Virulencia de Linajes Genéticos de *Pyricularia grisea* Sacc.: Implicaciones para el Desarrollo de Resistencia al Patógeno

La caracterización de la estructura genética, el espectro de virulencia y el análisis de las frecuencias de dichos factores dentro de la población total del patógeno deben proveer los medios más confiables para el pronóstico de la durabilidad de la resistencia al patógeno.

Eso no se puede realizar considerando solamente un estudio separado sobre la virulencia o los linajes; en los Cuadros 4 y 5 se muestra el análisis de la combinación de ensayos de virulencia y linajes genéticos de la población del patógeno en Colombia. Este estudio se efectuó con el fin de identificar, dentro de cada linaje, aislamientos individuales que pudieran ser usados como representantes de la diversidad linaje-virulencia para la evaluación por resistencia al añublo del arroz, bajo condiciones controladas de inoculaciones en invernadero (Correa-Victoria et al., 1994).

En la población del patógeno en la EESR hay compatibilidad con todos los genes de resistencia estudiados. Un gen de resistencia puede ser atacado por aislamientos de linajes genéticos diferentes, lo cual sugiere que un factor de virulencia común puede ser compartido por diferentes familias genéticas del hongo. Este es el caso del gen de resistencia Pi-a, atacado por cinco de los seis linajes descritos en el Cuadro 4. Por otra parte, en aislamientos de un mismo linaje genético puede haber diferentes factores de virulencia, los cuales se pueden acumular en un solo aislamiento, o puede haber aislamientos individuales que son un subconjunto de la virulencia correspondiente al espectro total de virulencia de dicho linaje (Correa-Victoria et al., 1994).

Los linajes genéticos SRL-4, SRL-5 y SRL-6 tienen un amplio espectro de virulencia. Sin embargo, se han observado ciertas interacciones específicas virulencia-linaje-gen de resistencia, donde un gen de resistencia puede ser efectivo contra todos los individuos de un linaje entero, y ser no efectivo contra la mayoría de los aislamientos de otros linajes. Este es el caso de los cultivares Fukunishiki y Tetep con los genes de resistencia Pi-z y Pi-k^h, respectivamente (Cuadro 4). Estos

Cuadro 4. Espectro de la virulencia de seis linajes genéticos de *Pyricularia grisea* hallados en Colombia, inoculados en cultivares de arroz con genes de resistencia conocidos.

Cultivar	Gen de resistencia	Reacción ^a según linaje genético					
		SRL1	SRL2	SRL3	SRL4	SRL5	SRL6
Aichi Asahi	Pi-a	+	+	-	+	+	+
BL-1	Pi-b	-	+	-	+	-	+
Caloro	Pi-k ^a	-	-	-	+	+	+
Fukunishiki	Pi-z	-	-	-	+	-	+
Fujisaka 5	Pi-i, Pi-k ^a	-	-	-	+	+	-
K-1	Pi-ta	-	-	+	+	+	-
K-59	Pi-t	+	-	-	+	+	+
Tetep	Pi-k ^h	-	-	-	-	+	-

a. El signo + indica reacción compatible.

Cuadro 5. Espectro de la virulencia de seis linajes genéticos de *Pyricularia grisea* cuando atacan cultivares colombianos de arroz.

Cultivar	Reacción ^a según linaje genético					
	SRL-1	SRL-2	SRL-3	SRL-4	SRL-5	SRL-6
Oryzica Llanos 5	-	-	-	-	-	-
Línea 2	-	+	-	-	-	-
Oryzica 2	-	-	-	-	-	+
Oryzica 1	-	+	-	-	-	+
Metica 1	-	-	+	+	-	+
CICA 8	-	-	-	-	+	-
CICA 9	+	+	-	-	-	-
CICA 6	-	-	-	-	+	+
CICA 4	+	+	-	-	+	+
IR 8	+	+	-	+	+	+

a. El signo + indica reacción compatible.

dos cultivares presentan aparentemente resistencia complementaria, cuya combinación podría conferir resistencia a toda la población del hongo descrita en este estudio.

Los cambios en la virulencia de la población del patógeno en Colombia deben haber estado gobernados, seguramente, por los cambios en los cultivares de arroz sembrados comercialmente en el pasado. Aunque el linaje genético SRL-6 exhibe un amplio espectro y acumulación de genes de virulencia, y ataca a la mayoría de los cultivares comerciales liberados antes, se observa alta interacción específica entre ciertos cultivares de arroz y linajes genéticos del patógeno (Cuadro 5). Oryzica Llanos 5 es el único cultivar comercial de arroz resistente a todos los linajes del hongo bajo las condiciones de inoculación controlada en invernadero, lo que explica su alta resistencia y estabilidad en los campos comerciales (Cuadro 5).

Del Cuadro 5 se pueden deducir varios cruces simples o múltiples para combinar genes de resistencia a todos los linajes genéticos del hongo en Colombia. Las fuentes más lógicas para dichos cruzamientos serían

aquellas que muestren complementariedad en la resistencia a los diferentes linajes genéticos del patógeno, como la que exhiben los cultivares Línea 2, CICA 8, y Oryzica 2. Un cruce simple o múltiple entre estos cultivares debería, teóricamente, conferir resistencia a toda la población del patógeno presente en Colombia. Como lo muestra el Cuadro 6, se podría obtener complementariedad en la resistencia para conferir esa resistencia a toda la población del patógeno, mediante cruzamientos entre progenitores con susceptibilidad a tan sólo dos linajes genéticos del hongo, como también hasta cinco, dependiendo del progenitor.

Para la explotación efectiva del espectro de virulencia de los linajes genéticos y sus frecuencias, con el propósito de apoyar el mejoramiento para el desarrollo de resistencia estable al añublo se debería, entonces, seleccionar aquellos genes o fuentes de resistencia cuyas combinaciones sean efectivas contra todos los linajes presentes en la población del patógeno de interés (Correa-Victoria et al., 1994; Zeigler et al., 1994). La utilización del método de selección recurrente en un programa de mejoramiento tendría la gran ventaja

Cuadro 6. Cruzamientos para la exclusión de linajes compatibles mediante la acumulación de genes de resistencia complementarios.

Cruzamiento ^a	Linajes excluidos	Linajes compatibles con progenitores
Línea 2 x Oryzica 2	Todos	SRL-2, SRL-6
Línea 2 x CICA 8	Todos	SRL-2, SRL-5
Línea 2 x CICA 6	Todos	SRL-2, SRL-5, SRL-6
Oryzica 2 x CICA 8	Todos	SRL-5, SRL-6
Oryzica 2 x CICA 9	Todos	SRL-1, SRL-2, SRL-6
Oryzica 1 x CICA 8	Todos	SRL-2, SRL-5, SRL-6
Metica 1 x CICA 8	Todos	SRL-3, SRL-4, SRL-5, SRL-6
Metica 1 x CICA 9	Todos	SRL-1, SRL-2, SRL-3, SRL-4, SRL-6
CICA 8 x CICA 9	Todos	SRL-1, SRL-2, SRL-5
CICA 9 x CICA 6	Todos	SRL-1, SRL-2, SRL-5, SRL-6

a. Cruzamientos basados en la información del Cuadro 5.

de permitir acumular genes complementarios diferentes que provengan de varios progenitores, para el desarrollo de poblaciones con resistencia al añublo.

Resistencia Estable al Añublo en Cultivares Comerciales de Arroz

Como resultado de la evaluación y selección de líneas resistentes al añublo del arroz, bajo condiciones de alta diversidad y presión del patógeno en la EESR, el Programa de Arroz del CIAT identificó la línea que se liberó comercialmente en 1989 como Oryzica Llanos 5. Destinada a un ecosistema de secano favorecido, donde en el pasado el cultivar más resistente había retenido su resistencia por tan sólo tres ciclos de cultivo comercial, Oryzica Llanos 5 se ha cultivado desde su liberación en más de 300,000 ha, y ha permanecido resistente por más de 12 ciclos de cultivo consecutivos (6 años).

Otras tres líneas hermanas de este cultivar originaron las variedades FONAIAP 2, Mana 3 y Porvenir 95-INIA, las cuales fueron liberadas para producción comercial, respectivamente, en Venezuela, Guyana Francesa y Perú (Selva),

donde el añublo es una de las principales limitaciones en la producción de arroz.

La selección de altos niveles de resistencia, basada en la evaluación y selección de poblaciones segregantes con combinaciones diversas de genes de resistencia, en presencia de una gran diversidad del patógeno, ha sido hasta ahora clave para el Programa de Arroz del CIAT en el desarrollo de líneas de arroz con una resistencia estable al hongo, tal como se informa para el cultivar Oryzica Llanos 5 (Correa-Victoria et al., 1994; Correa-Victoria y Zeigler, 1995).

La resistencia de ese cultivar no procede de un solo progenitor, ya que todos sus progenitores inmediatos son susceptibles a por lo menos algunos aislamientos a los cuales este cultivar es resistente; además, todos esos progenitores son también susceptibles bajo condiciones de campo donde Oryzica Llanos 5 es resistente (Correa-Victoria y Zeigler, 1995). Ninguno de los linajes genéticos de la población del patógeno en Colombia es compatible con todos los progenitores de Oryzica Llanos 5; por el contrario, entre los cinco progenitores inmediatos del cultivar se puede observar una complementariedad en la resistencia (Cuadro 7). Es entonces muy improbable que una resistencia

Cuadro 7. Resistencia complementaria a *Pyricularia grisea* en líneas progenitoras del cultivar Oryzica Llanos 5 en Colombia.

Progenitor	Reacción ^a según linaje genético					
	SRL-1	SRL-2	SRL-3	SRL-4	SRL-5	SRL-6
IR36	R	R	R	R	S	S
CICA 7	R	R	S	S	R	S
CICA 9	S	S	R	R	R	R
5685	R	R	R	R	S	S
Colombia 1	R	R	R	S	R	R

a. R = Todos los aislamientos probados fueron incompatibles; S = Algunos aislamientos fueron incompatibles y otros compatibles.

monogénica o vertical pueda estar gobernando la resistencia en Oryzica Llanos 5, y que ésta haya permanecido estable por tantos años bajo las condiciones de alta presión de la enfermedad en que se ha venido cultivando comercialmente.

El desarrollo de resistencia estable al añublo puede ser posible, entonces, mediante la recombinación de fuentes diferentes de resistencia, las cuales exhiben susceptibilidad a algunos segmentos de la población del patógeno. Genes de resistencia potencialmente útiles serían aquellos para los cuales combinaciones o acumulación de los correspondientes factores de virulencia están ausentes en la población del patógeno. Por lo tanto, para la identificación de aquellos genes que potencialmente pueden dar origen a una resistencia estable al añublo, se requiere una continua caracterización de la estructura genética (linajes), y el monitoreo continuo de las frecuencias de virulencia en poblaciones del patógeno.

Desde 1989, el CIAT ha venido desarrollando un programa de mejoramiento basado en la selección recurrente (ver Guimarães y Correa-Victoria, Capítulo 13 de esta publicación), con el objetivo de recombinar y acumular, de manera gradual y continua, genes de resistencia con efectos menores o

mayores. La escogencia del método de mejoramiento que debe seguirse para desarrollar líneas de arroz resistentes al añublo dependerá básicamente de la complejidad de la población del patógeno, en términos de su estructura genética y frecuencias de virulencia.

La selección recurrente es muy apropiada en circunstancias en donde el patógeno presente una gran diversidad genética y sea necesario recombinar un gran número de genes de resistencia en una misma línea. El método de selección recurrente permite desarrollar poblaciones con una base genética amplia, la cual puede estar constituida por un gran número de genes menores que provean niveles adecuados de resistencia parcial al patógeno. Líneas provenientes de estas poblaciones se pueden usar directamente en cruzamientos, con el objetivo de incorporar genes de resistencia a las diferentes familias genéticas del hongo, o se pueden utilizar en los diferentes ciclos de recombinación dentro del mismo proceso de selección recurrente, como describen Guimarães y Correa-Victoria (Capítulo 13 de esta publicación).

Varias líneas de arroz isogénicas (NILs) fueron desarrolladas por el IRRI, mediante el uso de varias fuentes de resistencia a *P. grisea*, con el objetivo de identificar genes de resistencia en

los donantes (Mackill y Bonman, 1992). Los resultados de inoculaciones de estas líneas isogénicas, con aislamientos de los diferentes linajes genéticos del patógeno encontrados en Colombia, apoyan los resultados obtenidos con los cultivares comerciales de arroz colombianos, en los estudios descritos en este trabajo.

Se encontró una interacción específica entre los genes de resistencia Pi-1 y Pi-2 presentes en dos líneas isogénicas con aislamientos de diferentes linajes genéticos del patógeno. Estos dos genes exhiben una complementariedad en la resistencia contra toda la diversidad en virulencia dada a conocer en Colombia. No se detectó ningún aislamiento en ningún linaje compatible con ambos genes de resistencia (Cuadro 8).

La alta frecuencia de la virulencia compatible con cada gen de resistencia presente en cada una de estas dos líneas isogénicas podría sugerir que, en cualquier momento, se podría dar la existencia de aislamientos individuales que expresen compatibilidad con ambos genes de resistencia; sin embargo, ante estas frecuencias tan altas (86% para Pi-1 y 21% a 100% para

Pi-2, Cuadro 8), teóricamente se esperaría que dichos aislamientos ya estuvieran presentes dentro de la misma población del hongo. Es posible que la combinación de los dos genes correspondientes de virulencia, en un mismo aislamiento, pueda estar confiriendo un efecto deletéreo sobre el patógeno, afectando su viabilidad y, por lo tanto, disminuyendo el posible establecimiento de tales genes dentro de la población del patógeno.

Se ha informado de resultados similares con estas mismas líneas isogénicas inoculadas con poblaciones diferentes de *pyricularia* (Zeigler et al., 1994, 1995). La combinación de genes de resistencia que excluya toda posible compatibilidad de todos los linajes genéticos de una población del patógeno, como método para el desarrollo de una resistencia estable al añublo, ha sido definida en la literatura como la 'hipótesis de la exclusión de linajes' (Zeigler et al., 1994). La identificación de otros genes o fuentes de resistencia, basada en una completa caracterización de la población del patógeno, y combinaciones que puedan ofrecer potencialmente una resistencia estable al agente causal del añublo, debe ser prioridad en cualquier programa de mejoramiento de arroz con este objetivo.

Cuadro 8. Frecuencias de la virulencia de *Pyricularia grisea* en cinco líneas isogénicas inoculadas con seis linajes genéticos del patógeno, en Colombia.

Linaje genético	Frecuencia según línea isogénica ^a (%)				
	C 101 LAC (Pi-1)	C 101 A51 (Pi-2)	C 104 PKT (Pi-3)	C 101 PKT (Pi-4a)	C 105 TTP (Pi-4b)
SRL-1		100			
SRL-2		100		25	
SRL-3					
SRL-4			100	100	
SRL-5	86		100	100	100
SRL-6		21	42	91	97

a. Los paréntesis debajo de cada línea indican los respectivos genes de resistencia.

Resumen de los Pasos para el Desarrollo de Resistencia al Añublo del Arroz

Los elementos básicos para el desarrollo de una resistencia más estable a *P. grisea*, mediante la combinación de diferentes fuentes de resistencia que exhiban susceptibilidad a sólo parte de la población del patógeno, se puede resumir en lo siguiente:

- a. Caracterización de la estructura genética, en linajes, de la población del patógeno.
- b. Caracterización del espectro de virulencia de cada linaje genético, y de la frecuencia de cada factor de virulencia y de sus combinaciones.
- c. Caracterización de cada progenitor potencial, en términos de su resistencia/susceptibilidad a aislamientos de cada linaje genético.
- d. Realización de cruzamientos (simples/múltiples) con el propósito de acumular genes de resistencia complementarios, en combinaciones que potencialmente confieran resistencia a todos los linajes genéticos de la población del patógeno relevante. El uso de selección recurrente es un método eficiente para acumular un gran número de genes de resistencia provenientes de diferentes progenitores.
- e. Seguimiento continuo de las frecuencias de virulencia en el patógeno para confirmar la ausencia de aquellas combinaciones de factores de virulencia que sean relevantes.
- f. Uso de metodologías de campo apropiadas para asegurar una alta, uniforme y constante presión del hongo bajo condiciones de campo, preferiblemente de secano favorecido, repitiendo este proceso en cada generación segregante.
- g. Evaluación, en pruebas multilocales y en diferentes años, de las líneas de arroz seleccionadas por su resistencia al añublo.

Referencias

- Correa-Victoria, F. J. y Zeigler, R. S. 1993a. Field breeding for durable rice blast resistance in the presence of diverse pathogen populations. En: Jacobs, Th. y Parlevliet, J. E. (eds.). Proc. Int. Symp. Durability of Disease Resistance, Netherlands, 1993. Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 215-218.
- _____ y _____. 1993b. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast 'hot spot' site. Plant Dis. 77:1029-1034.
- _____ y _____. 1995. Stability of partial and complete resistance in rice to *Pyricularia grisea* under rainfed upland conditions in eastern Colombia. Phytopathology 85:977-982.
- _____; _____; y Levy, M. 1994. Virulence characteristics of genetic families of *Pyricularia grisea* in Colombia. En: Leong, S. et al. (eds.). Proc. Int. Symp. Rice Blast Disease, Wisconsin, 1994. Commonwealth Agricultural Bureaux International (CABI), Wallingford, Reino Unido. p. 211-229.
- Cuevas-Pérez, F. y Gaona, J. S. 1988. Disease selection in rice in Colombia and Central America. Int. Rice Res. Newsl. 13 1:14-15.
- Hamer, J.; Farral, L. L.; Orbach, M. J.; Valent, B.; y Chumley, F. G. 1989. Host species-specific conservation of a family of repeated DNA sequences in the genome of a fungal plant pathogen. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86:9981-9985.

Levy, M.; Romao, J.; Marchetti, M. A.; y Hamer, J. E. 1991. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. *Plant Cell* 3:95-102.

_____; Correa-Victoria, F. J.; Zeigler, R. S.; Xu, S.; y Hamer, J. E. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. *Phytopathology* 83:1427-1433.

MacKill, D. M. y Bonman, J. M. 1992. Inheritance of blast resistance in near isogenic lines of rice. *Phytopathology* 82:746-749.

Rosero, M. J. 1979. Breeding for blast resistance at CIAT. En: Proc. Rice Blast Workshop, Manila, 1979. International Rice Research Institute (IRRI), Manila, Filipinas. p. 63-67.

Weeraratne, H.; Martinez, C.; y Jennings, P. R. 1981. Genetic strategies in breeding for resistance to rice blast *Pyricularia oryzae* in Colombia. En: Proc. Symp. on Rice Resistance to Blast. Montpellier, 1981. Institut de recherches agronomiques tropicales et des cultures vivrières (IRAT), Montpellier, Francia. p. 305-311.

Zeigler, R. S.; Tohme, J.; Nelson, R.; Levy, M.; y Correa-Victoria, F. J. 1994. Lineage exclusion: A proposal for linking blast population analysis to resistance breeding. En: Leong, S. et al. (eds.). Proc. Int. Symp. Rice Blast Disease, Wisconsin, 1994. Commonwealth Agriculture Bureaux International (CABI), Wallingford, Reino Unido. p. 267-292.

_____; Cuoc, L. X.; Scott, R. P.; Bernardo, M. A.; Chen, D.; Valent, B.; y Nelson, R. J. 1995. The relationship between phylogeny and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. *Phytopathology* 85:443-451.