

# ESTUDIOS SOBRE LA FERTILIDAD Y COMPATIBILIDAD SEXUAL DEL HONGO *Pyricularia grisea* (Sacc) Y SUS IMPLICACIONES EN EL DESARROLLO DE RESISTENCIA DURABLE EN VARIEDADES DE ARROZ PARA COLOMBIA

Gustavo Prado, Fernando Correa V. y María Girena Aricapa

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Apartado Aéreo 6713.

ciat-rice@cgiar.org, fcorrea@cgiar.org

104957

## RESUMEN

El añublo ó quemazón del arroz, causado por el hongo *P. grisea* (Sacc), es la enfermedad más limitante del cultivo en todo el mundo. La resistencia varietal ha sido y continua siendo la base para el control de la *pyricularia*, sin embargo, ésta resistencia se pierde rápidamente debido al surgimiento de nuevas razas fisiológicas del hongo. Hasta el momento, no se ha logrado determinar con certeza los posibles mecanismos empleados por el hongo para que se estén originando continuamente nuevas razas fisiológicas. Debido a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue tratar de averiguar bajo condiciones de laboratorio si la reproducción sexual o estado perfecto de *Pyricularia grisea* se presenta en aislamientos recuperados de arroz y de malezas presentes en Colombia. Para realizar ésta investigación se utilizó un total de 155 aislamientos, provenientes de diferentes zonas del país; de éstos aislamientos 99 provenían de arroz y 56 se aislaron de malezas. Los aislamientos se clasificaron en cuatro grupos de acuerdo a sus características genéticas, grupos de apareamiento y/o origen y a las implicaciones que pueden presentar estos en las estrategias de mejoramiento. Los aislamientos de cada grupo se combinaron entre ellos en medio de cultivo dando las condiciones óptimas para que se formara el estado perfecto de *P. grisea* de acuerdo a la literatura. No se observó formación de peritecios en ninguna de las combinaciones hechas para los cuatro grupos. Esto quiere decir que la reproducción sexual o estado perfecto de *P. grisea*, no esta presente en los aislamientos de la población del patógeno que se estudió, lo cual indica que este mecanismo de reproducción no esta jugando un papel importante en el origen de la variabilidad del patógeno. Esto apoya las estrategias de mejoramiento que se están implementando por el CIAT para sacar líneas resistentes, basadas en la acumulación de genes de resistencia específicos a diferentes familias genéticas del hongo, ya que no se está corriendo el riesgo de que por medio de la reproducción sexual se vayan a originar rápidamente nuevas razas fisiológicas que combinen gran número de genes de virulencia compatibles con las nuevas variedades que se están desarrollando. Se recomienda estudiar el efecto de otros mecanismos que puedan originar variabilidad patogénica como son el ciclo parasexual y las mutaciones.

**Palabra clave:** añublo del arroz, razas, hongos, resistencia

## SUMMARY

Rice blast caused by the fungus *Pyricularia grisea* (Sacc) is the major constraint of the crop. Development of resistant varieties has been the preferred means to control blast, however, resistance breakdown occurs shortly after varietal release, due to the appearance of new races of the pathogen. It has not been possible to determine the possible mechanisms used by the fungus for originating pathogenic variation. The objective of this work was to study under laboratory conditions if Colombian isolates of *P. grisea* collected on rice and weeds might use sexual reproduction to generate pathogenic variability, and to determine the breeding implications of the results for the development of resistance to blast followed at CIAT.

During this research 99 blast isolates collected on rice, and 56 from weeds were used. The isolates were classified into four groups according to their genetic characteristics, mating type, and/or origin and their importance for breeding strategies. Each isolate within a group was paired with the others in all possible combinations. Crosses were made on artificial medium giving all optimal conditions to favor the development of the sexual stage, according to the literature. Formation of perithecia was not observed for any combination in any of the four groups. The results suggest that sexual reproduction was not possible in the population of the blast pathogen studied, indicating that this mechanism is not playing an important role in generating pathogenic variability in the fungus in Colombia. This observation supports the breeding strategies implemented at CIAT for developing resistant varieties. These strategies are based on the accumulation of resistance genes specific to different genetic families of the fungus. The lack of the sexual stage implies that accumulation of virulence genes specific to certain resistance genes is of low probability. It is recommended to study the effect of other possible mechanisms of reproduction that may play a role in generating pathogenic variability such as the parasexual cycle and mutations.

**Key Words :** rice, rice blight, strains, fungi, genetic resistance

## INTRODUCCIÓN

La *Pyricularia* del arroz, causada por el hongo *Pyricularia grisea* Sacc (Teleomorfo: *Magnaporthe grisea* Barr) es el factor más limitante de la producción de este cultivo a nivel mundial. El desarrollo de variedades resistentes al patógeno ha sido uno de los medios preferidos para el control de la enfermedad, sin embargo, la resistencia ha sido de poca duración. Una de las posibles razones para el rompimiento de la resistencia se debe al surgimiento de nuevos patotipos o razas del hongo compatibles con los genes de resistencia liberados. (Correa y

Zeigler, 1995).

En estudios realizados en Colombia para determinar la variabilidad patogénica de *P. grisea*, se ha encontrado que el patógeno presenta más de 50 razas o patotipos (Correa y Zeigler, 1993a), pero utilizando la técnica molecular DNA-fingerprinting, toda esta diversidad patotípica del hongo se ha podido agrupar en seis familias o linajes genéticos identificados como SRL-1 hasta SRL-6, presentes en las principales zonas arroceras bajo riego y secano favorecido del país y 13 familias o linajes genéticos específicos del sistema de producción de secano de la Altillanura

Colombiana e identificados como ALL-7 hasta ALL-19 (Correa et al, 1994). Los espectros de virulencia de los aislamientos dentro de cada familia genética son altamente similares y en conjunto, existen genes de virulencia dentro de la población del patógeno en Colombia compatibles con todos los genes de resistencia conocidos (Levy et al, 1993).

Correa 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 como son el

estado perfecto y el ciclo parasexual.

Hebert (1971) obtuvo por primera vez, bajo condiciones de laboratorio el estado perfecto de *Pyricularia grisea* y aunque no existen reportes de la presencia de este mecanismo de reproducción y variabilidad del hongo en la naturaleza, es necesario realizar estudios para determinar si esta condición de variabilidad se presenta en algunos sitios del mundo y bajo que frecuencia, pues de esta manera se puede conocer si las estrategias de mejoramiento seguidas por los países dedicados a este tipo de investigación en el mundo son las más adecuadas.

El objetivo entonces de este trabajo fue determinar si la reproducción sexual de *P. grisea* podría ser un mecanismo que eventualmente conllevaría a la formación de individuos que combinen genes de virulencia entre las diferentes familias o linajes genéticos del hongo encontradas en Colombia y por consiguiente al rompimiento de la resistencia que se está desarrollando en el programa de mejoramiento de arroz del CIAT.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 155 aislamientos de *P. grisea*, divididos en cuatro grupos así: El primero conformado por 16 aislamientos representativos de los seis linajes genéticos del hongo encontrados en las zonas arroceras del país (SRL), y un linaje de la Altillanura colombiana (ALL) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Aislamientos de *Pyricularia grisea* (Grupo 1) pertenecientes a siete linajes genéticos de Colombia y utilizados en estudios de apareamiento para determinar su posible compatibilidad sexual.

| Aislamiento     | Linaje | Localidad        |
|-----------------|--------|------------------|
| Cica 9-6        | SRL-1  | Sta. Rosa , Meta |
| Cica 9-7        | SRL-1  | Sta. Rosa , Meta |
| Cica 9-9        | SRL-1  | Sta. Rosa , Meta |
| O. Llanos 5-22  | SRL-2  | Sta. Rosa , Meta |
| Metica 1-33-18  | SRL-3  | Sta. Rosa , Meta |
| Isolínea 10-5-1 | SRL-4  | Sta. Rosa , Meta |
| Cica 8-53       | SRL-5  | Sta. Rosa , Meta |
| Ceysvoni 10-1   | SRL-6  | Sta. Rosa , Meta |
| Ceysvoni 8-2    | SRL-6  | Sta. Rosa , Meta |
| Ceysvoni 19-2   | SRL-6  | Sta. Rosa , Meta |
| Oryzica 1-85    | SRL-6  | Sta Rosa, Meta   |
| Isolínea 5-10-2 | SRL-6  | Sta Rosa, Meta   |
| Oryzica 1-69    | SRL-6  | Ibagué,Tolima    |
| Línea 1-2-1     | ALL-7  | Matazul, Meta    |
| IAC 165-3       | ALL-7  | Matazul, Meta    |
| Línea 2-35-1    | ALL-7  | Matazul, Meta    |

SRL: Santa Rosa Linaje ALL: Altillanura

Estos aislamientos se combinaron entre si, siguiendo un arreglo de 16 aislamientos por caja, utilizando siete cajas, para lograr así el apareamiento de todos contra todos (Figura 1). Se hicieron 3 repeticiones por cada caja. El objetivo de estas combinaciones fue determinar si la reproducción sexual puede ser un mecanismo para combinar genes de virulencia específicos de cada linaje en aislamientos individuales.

El segundo grupo estaba representado por 19 aislamientos, los cuales fueron clasificados por el Dr. Jean Notteghen del instituto CIRAD en Francia y la Dra. Barbara Valent de Du Pont en USA dentro de los grupos de compatibilidad MAT1-1 y MAT1-2, característica necesaria para la ocurrencia de la reproducción sexual (Yoder et al, 1986). Estos aislamientos fueron combinados, con algunos patrones ó aislamientos tipo utilizados para la identificación de los grupos de compatibilidad de los aislamientos colombianos en sus laboratorios (Tabla 2). Estos aislamientos no se combinaron todos contra todos, pues la reproducción sexual de *P. grisea* sólo es posible entre aislamientos de grupos de compatibilidad opuesto; para ello se hizo un arreglo de 16 aislamientos por caja, utilizando 9 cajas petri y tres repeticiones, logrando así que todos los aislamientos del grupo MAT1-1 quedaran apareados con todos los aislamientos del grupo MAT1-2 (Figura 2)

El Tercer grupo incluyó 56 aislamientos recuperados de varias malezas atacadas por *P. grisea* en Colombia (Tabla 3). La fertilidad en aislamientos de *P. grisea* de malezas es normalmente más alta que en arroz según reportes de literatura. Este grupo a su vez se dividió en 7 subgrupos (Tabla 4), para combinarlos todos contra todos y de esta forma facilitar el manejo de los aislamientos, haciendo las combinaciones entre subgrupos. Los aislamientos se combinaron entre si todos contra todos, siguiendo también un arreglo de 16 aislamientos por caja, utilizando 7 cajas para lograr el apareamiento de todos contra todos (Figura 1). Se hicieron 3 repeticiones por caja.

El cuarto grupo contiene 64 aislamientos que representan todos los linajes genéticos encontrados en la Altillanura colombiana (Tabla 5). Este grupo representa una estructura genética diferente a la población encontrada en el resto del país (CIAT, Informe Anual, 1993). Además, éstos aislamientos fueron recuperados de una zona donde aparentemente no se ha sembrado arroz en el pasado, por lo tanto, la posibilidad de encontrar formas ancestrales del hongo que no hayan perdido su fertilidad, es más alta en ésta zona que en el resto del país. Estos aislamientos, al igual que los provenientes de malezas, fueron divididos en ocho subgrupos, para facilitar también el manejo de los aislamientos, haciendo combinaciones entre subgrupos (Tabla 6). Se hizo un arreglo de 16 aislamientos por caja, utilizando 7 cajas, para lograr de ésta manera el apareamiento de todos contra todos (Figura 1). Se hicieron 3 repeticiones por caja.

Para hacer las combinaciones, se tomaron grupos de 16 aislamientos con 8 días de crecidos

**Tabla 2.** Aislamientos de *Pyricularia grisea* de Colombia (Grupo 2) clasificados en su respectivo grupo de compatibilidad (Mat1-1 y Mat1-2).

| Aislamiento    | Grupo de Compatibilidad Mat1- | Origen     |
|----------------|-------------------------------|------------|
| Fanny 28-1-1   | 1                             | Matazul    |
| Metica 1-34-1  | 1                             | Santa Rosa |
| Oryzica 1-87   | 1                             | Santa Rosa |
| O.Llanos 5-22  | 1                             | Santa Rosa |
| Metica 1-34-2  | 1                             | Santa Rosa |
| Metica 1-33-18 | 1                             | Santa Rosa |
| C03-Taipei 309 | 2                             | Santa Rosa |
| C06-Metica 1   | 2                             | Santa Rosa |
| C07-Oryzica 1  | 2                             | Santa Rosa |
| C010-Cica 4    | 2                             | Santa Rosa |
| Cica 9-4       | 2                             | Santa Rosa |
| Cica 4-36      | 2                             | Santa Rosa |
| Cica 6-2       | 2                             | Santa Rosa |
| Cica 6-13      | 2                             | Santa Rosa |
| Cica 9-15      | 2                             | Santa Rosa |
| Línea 2-8      | 2                             | El Castaño |
| Línea 2-20     | 2                             | Santa Rosa |
| Ceysvoni-26-1  | 2                             | Santa Rosa |
| Oryzica 1-105  | 2                             | Tolima     |

Grupo 1: Mat1-1 Grupo 2: Mat1-2

en medio de cultivo agar-salvado de arroz (Agar 20gr, Salvado de arroz 25gr, Agua 1000ml). Con un saca bocado de 5mm de diámetro, se sacaron trozos de agar y micelio del hongo de cada uno de los 16 aislamientos y se colocaron en cajas petri con medio de cultivo agar-avena (Agar 20gr, Avena 50gr, Agua 1000ml), a una distancia de 20mm entre cada aislamiento. Estas cajas se incubaron a 20°C bajo luz negra fluorescente, proporcionando así las condiciones artificiales que favorecen la reproducción sexual y la formación de peritecios (Yaegashi y Hebert, 1976).

Se hicieron 3 evaluaciones u observaciones por cada combinación. La primera evaluación se hizo después de 10 días de haber hecho los cruces. La segunda evaluación se hizo a los 20 días y la tercera evaluación a los 30 días. En cada evaluación se hicieron observaciones de las cajas, con la ayuda de un estereoscopio, haciendo énfasis en la zona de contacto de los aislamientos apareados, para detectar si hubo o no formación de peritecios.

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. No se llevó a cabo ningún tipo de análisis estadístico, puesto

**Figura 1.** Modelo de apareamientos todos contra todos en cajas Petri utilizado para cada uno de los grupos de aislamientos No. 1, 3 y 4.

CAJA A:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 5  | 6  | 7  | 8  |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 13 | 14 | 15 | 16 |

CAJA B:

|   |    |    |    |
|---|----|----|----|
| 2 | 15 | 10 | 8  |
| 5 | 9  | 12 | 14 |
| 6 | 11 | 13 | 1  |
| 3 | 16 | 4  | 7  |

CAJA C:

|    |   |    |    |
|----|---|----|----|
| 16 | 5 | 7  | 1  |
| 8  | 2 | 10 | 3  |
| 14 | 9 | 4  | 13 |
| 11 | 6 | 12 | 15 |

CAJA D:

|    |    |    |   |
|----|----|----|---|
| 12 | 10 | 11 | 9 |
| 6  | 16 | 13 | 8 |
| 2  | 14 | 7  | 4 |
| 3  | 15 | 5  | 1 |

CAJA E:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 15 | 8  | 10 | 16 |
| 3  | 5  | 9  | 7  |
| 6  | 14 | 1  | 11 |
| 4  | 2  | 13 | 12 |

CAJA F:

|    |   |    |    |
|----|---|----|----|
| 15 | 4 | 5  | 12 |
| 6  | 1 | 10 | 2  |
| 13 | 8 | 11 | 7  |
| 16 | 9 | 3  | 14 |

CAJA G:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 2  | 16 | 1  | 15 |
| 11 | 4  | 12 | 7  |
| 5  | 14 | 3  | 9  |
| 13 | 10 | 8  | 6  |

NOTA: Cada caja Petri contiene 16 aislamientos

**Figura 2.** Modelo de apareamientos en las cajas petri para el grupo de aislamientos No. 2.

CAJA A:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 5  | 6  | 7  | 8  |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 14 | 15 | 14 | 15 |

CAJA B:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 6  | 5  | 8  | 7  |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 15 | 14 | 15 | 4  |

CAJA C:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 7  | 8  | 5  | 6  |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 14 | 15 | 14 | 15 |

CAJA D:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 8  | 7  | 6  | 5  |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 15 | 14 | 7  | 8  |

CAJA E:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 15 | 14 | 15 | 14 |
| 9  | 10 | 11 | 12 |
| 5  | 6  | 7  | 8  |

CAJA F:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1  | 2  | 3  | 4  |
| 14 | 15 | 14 | 15 |
| 19 | 15 | 19 | 15 |
| 14 | 9  | 14 | 9  |

CAJA G:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 13 | 16 | 17 | 18 |
| 5  | 6  | 7  | 8  |
| 16 | 13 | 18 | 17 |
| 8  | 7  | 6  | 5  |

CAJA H:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 13 | 16 | 17 | 18 |
| 8  | 7  | 6  | 5  |
| 19 | 19 | 19 | 19 |
| 14 | 15 | 7  | 8  |

CAJA I:

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 13 | 16 | 17 | 18 |
| 14 | 15 | 14 | 15 |
| 16 | 13 | 18 | 17 |
| 5  | 6  | 7  | 8  |

NOTA: Cada caja Petri contiene 16 aislamientos

**Tabla 3.** Aislamientos de *Pyricularia grisea* recuperados de malezas (Grupo 3)

| Aislamiento  | Origen             | Aislamiento    | Origen            |
|--------------|--------------------|----------------|-------------------|
| *Maleza-4    | S.Quilichao, Cauca | D. sang-1-1    | Granada, Meta     |
| *Maleza-5    | S.Quilichao, Cauca | D. sang-2      | Granada, Meta     |
| *Maleza-6    | Villarica, Cauca   | D. sang-3-1    | Santa Rosa, Meta  |
| *Maleza-7    | La aurora, Meta    | D. sang-4      | La aurora, Meta   |
| *Maleza-8    | La aurora, Meta    | D. sang-5      | La aurora, Meta   |
| *Maleza-9    | La aurora, Meta    | D. sang-8-1    | La Consulta, Meta |
| *Maleza-10   | La aurora, Meta    | E. colonum-1   | Santa Rosa, Meta  |
| *Maleza-11   | Jamundí, Valle     | E. colonum-3   | Santa Rosa, Meta  |
| *Maleza-12-1 | Jamundí, Valle     | E. colonum-4   | Santa Rosa, Meta  |
| L. sub-1-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-1    | Altillanura, Meta |
| L. sub-1-2   | Jamundí, Valle     | E. indica-3    | Altillanura, Meta |
| L. sub-2-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-4-1  | Matazul, Meta     |
| L. sub-2-2   | Jamundí, Valle     | E. indica-5-1  | Matazul, Meta     |
| L. per-1-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-6-1  | Matazul, Meta     |
| L. per-1-3   | Jamundí, Valle     | E. indica-6-2  | Matazul, Meta     |
| L. per-2-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-7-1  | Santa Rosa, Meta  |
| L. per-2-2   | Jamundí, Valle     | E. indica-7-2  | Santa Rosa, Meta  |
| L. per-4-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-8-2  | Santa Rosa, Meta  |
| L. per-5-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-9-1  | Santa Rosa, Meta  |
| L. per-5-6   | Jamundí, Valle     | E. indica-2    | Altillanura, Meta |
| L. hex-1-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-4-2  | Matazul, Meta     |
| L. hex-1-2   | Jamundí, Valle     | E. indica-5-2  | Matazul, Meta     |
| L. hex-3-1   | Jamundí, Valle     | E. indica-7    | Santa Rosa, Meta  |
| L. hex-5-4   | Jamundí, Valle     | **O.sativa-1-1 | Jamundí, Valle    |
| L. hex-4-1   | Jamundí, Valle     | **O.sativa-2-1 | Jamundí, Valle    |
| L. hex-4-2   | Jamundí, Valle     | R.exaltata-1   | Granada, Meta     |
| L. hex-5-1   | Jamundí, Valle     | R.exaltata-2   | Granada, Meta     |
| L. hex-5-2   | Jamundí, Valle     | R.exaltata-3   | Granada, Meta     |

\*Arroz Rojo \*Especie no identificada L. sub: *Luziola subintegra* L. hex: *Leersia hexandra* L. per: *Luziola peruviana* D. sang: *Digitaria sanguinalis* E. indica: *Eleusine indica* E. colonum: *Echinochloa colonum* O. sativa: *Oryza sativa* R. exaltata: *Rottboelia exaltata*

**Tabla 4.** Aislamientos de *P.grisea* recuperados de malezas con sus respectivos subgrupos.

| Subgrupo 1       | Subgrupo 3          | Subgrupo 5          |
|------------------|---------------------|---------------------|
| *Maleza-4        | L.peruviana-2-2     | D.sanguinalis-5     |
| *Maleza-5        | L.peruviana-4-1     | D.sanguinalis-8-1   |
| *Maleza-6        | L.peruviana-5-1     | E.colonum-1         |
| *Maleza-7        | L.peruviana-5-6     | E.colonum-3         |
| *Maleza-8        | L.hexandra-1-1      | E.colonum-4         |
| *Maleza-9        | L.hexandra-1-2      | Eleusine indica-1   |
| *Maleza-10       | L.hexandra-3-1      | Eleusine indica-3   |
| *Maleza-11       | L.hexandra-5-4      | Eleusine indica-4-1 |
| Subgrupo 2       | Subgrupo 4          | Subgrupo 6          |
| *Maleza-12-1     |                     | Eleusine indica-5-1 |
| L.subintegra-1-1 | L.hexandra-4-2      | Eleusine indica-6-1 |
| L.subintegra-1-2 | L.hexandra-5-1      | Eleusine indica-6-2 |
| L.subintegra-2-1 | L.hexandra-5-2      | **Oryza sativa-1-1  |
| L.subintegra-2-2 | D.sanguinalis-1-1   | **Oryza sativa-2-1  |
| L.peruviana-1-1  | D.sanguinalis-2     | R. exaltata-1       |
| L.peruviana-1-3  | D.sanguinalis-3-1   | R. exaltata-2       |
| L.peruviana-2-1  | D.sanguinalis-4     | R. exaltata-3       |
| Subgrupo 7       |                     |                     |
|                  | Eleusine indica-2   |                     |
|                  | Eleusine indica-4-2 |                     |
|                  | Eleusine indica-5-2 |                     |
|                  | Eleusine indica-7   |                     |
|                  | Eleusine indica-7-1 |                     |
|                  | Eleusine indica-7-2 |                     |
|                  | Eleusine indica-8-2 |                     |
|                  | Eleusine indica-9-1 |                     |

\*\*Arroz Rojo \*Especie no identificada L. subintegra: *Luziola subintegra* L.peruviana: *Luziola peruviana* L.hexandra: *Leersia hexandra* D.sanguinalis: *Digitaria sanguinalis* E. colonum: *Echinochloa colonum* R.exaltata: *Rottboelia exaltata*

que la investigación realizada fue de tipo cualitativo y no de carácter cuantitativo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el objetivo de determinar si el estado sexual de *P. grisea* puede ser un mecanismo que genere la variabilidad patogénica en Colombia, se realizaron un total de 11.262 combinaciones entre diferentes aislamientos y se evaluó la presencia o ausencia de peritecios.

**Tabla 5.** Aislamientos de *Pyricularia grisea* que representan todos los linajes encontrados en la altillanura colombiana (Grupo 4).

| Aislamiento       | Origen     | Aislamiento           | Origen      |
|-------------------|------------|-----------------------|-------------|
| IAC 165-1         | Matazul    | Shin 2-7-1            | La Aurora   |
| Línea 1-1         | Matazul    | Zenith-31-1           | La Aurora   |
| Línea 2-35-1      | Matazul    | Zenith-33-1           | La Consulta |
| Aichi Asahi-16-1  | La Aurora  | Línea 2-37            | Matazul     |
| BI 1-3-1          | San Marcos | Caloro-1-1            | San Marcos  |
| Bluebonnet 50-3-1 | San Marcos | CT10006-1-1-M-1(1-1)  | San Marcos  |
| Bluebonnet 50-4-1 | La Aurora  | Línea 6-3             | Matazul     |
| Caloro-3-1        | La Aurora  | K 1-16-1              | San Marcos  |
| Chokoto-3-1       | San Marcos | K 59-3-1              | San Marcos  |
| Cica-7-40-1       | La Aurora  | Raminad Str3-23-1     | La Aurora   |
| Fukunishiki-1-1   | La Aurora  | Fanny-25-10           | Piamonte    |
| Fukunishiki-2-1   | San Marcos | Fanny-25-11           | Piamonte    |
| IAC 165-6-1       | La Aurora  | Fanny-25-12           | Piamonte    |
| IAC 165-9-1       | San Marcos | Fanny-25-13           | Piamonte    |
| IRAT 13-11-1      | La Aurora  | Aichi Asahi-15-1      | Piamonte    |
| K 1-15-1          | La Aurora  | Colombia 1/M312a-19-1 | La Consulta |
| Kanto 51-6-1      | La Aurora  | Fujisaka 5-3-1        | San Marcos  |
| Línea 6-10-1      | Andremoni  | Fujisaka 5-4-1        | La Consulta |
| Línea 6-4         | Andremoni  | Fanny-28-1-1          | Matazul     |
| Línea 6-7-1       | La Aurora  | Línea 2-38-1          | Matazul     |
| Línea 23-14-1     | La Aurora  | IAC 165-7-1           | San Marcos  |
| Moroberekan-20-1  | La Aurora  | Tsuyuake-1-1          | La Aurora   |
| NP 125-26-1       | La Aurora  | Tsuyuake-2-1          | San Marcos  |
| Peta-20-1         | Matazul    | Kanto 51-1-1          | Matazul     |
| Peta-21-1         | San Marcos | Kanto 51-1-2          | Matazul     |
| Peta-22-1         | La Aurora  | Kanto 51-1-3          | Matazul     |
| Pi No 4-1         | San Marcos | Kanto 51-1-5          | Matazul     |
| Raminad Str3-19-1 | Matazul    | Kanto 51-9-1          | Matazul     |
| Raminad Str3-20-1 | La Aurora  | Línea 2-34-1          | Santa Rosa  |
| Sha-Tiao-Tsao-1-1 | La Aurora  | Tetep-5-1             | La Aurora   |
| Shin 2-6-1        | San Marcos | Zenith-32-1           | San Marcos  |
| Línea 6-1         | Matazul    | Chokoto-5-1           | La Aurora   |

En ninguna de las combinaciones de los cuatro grupos de aislamientos se observó la formación de peritecios, lo cual nos indica que la reproducción sexual o estado perfecto de *P. grisea* no se presenta en aislamientos de origen colombiano. Por consiguiente, se considera que la reproducción de este patógeno en Colombia es principalmente asexual y se descarta la posibilidad de que el estado perfecto de éste hongo sea uno de los mecanismos utilizados por él para que

se presente una variabilidad patogénica tan alta en las poblaciones del mismo.

Siendo así, que la reproducción sexual no este jugando un papel importante como mecanismo de variabilidad del patógeno, podemos decir que las estrategias de mejoramiento de arroz, que se vienen implementando por el CIAT y que está basada en la acumulación de genes de resistencia a las diferentes familias genéticas del patógeno son eficaces para lograr obtener una

Tabla 6. Aislamientos de *Pyricularia grisea* que representan los linajes encontrados en la altillanura colombiana y sus respectivos subgrupos

| Subgrupo 1        | Linaje | Subgrupo 5             | Linaje |
|-------------------|--------|------------------------|--------|
| IAC 165-1         | All-7  | Shin 2-7-1             | ALL-7  |
| Línea 1-1         | All-7  | Zenith-31-1            | ALL-7  |
| Línea 2-35-1      | All-7  | Zenith-33-1            | ALL-7  |
| Línea 6-1         | All-7  | Línea 2-37             | ALL-8  |
| Aichi Asahi-16-1  | All-7  | Caloro-1-1             | ALL-8  |
| BI 1-3-1          | All-7  | CT10006-1-1-M-1(1-1)   | ALL-8  |
| Bluebonnet 50-3-1 | All-7  | Línea 6-3              | ALL-8  |
| Bluebonnet 50-4-1 | All-7  | K1-16-1                | ALL-8  |
| Subgrupo 2        | Linaje | Subgrupo 6             | Linaje |
| Caloro-3-1        | ALL-7  | K 59-3-1               | ALL-8  |
| Chokoto-3-1       | ALL-7  | Raminad Srt3-23-1      | ALL-8  |
| Cica 7-40-1       | ALL-7  | Fanny-25-10            | ALL-10 |
| Fukunishiki-1-1   | ALL-7  | Fanny-25-11            | ALL-10 |
| Fukunishiki-2-1   | ALL-7  | Fanny-25-12            | ALL-10 |
| IAC 165-6-1       | ALL-7  | Fanny-25-13            | ALL-10 |
| IAC 165-9-1       | ALL-7  | Aichi Asahi-15-1       | ALL-10 |
| IRAT 13-11-1      | ALL-7  | Colombia1/M312a-(19-1) | ALL-10 |
| Subgrupo 3        | Linaje | Subgrupo 7             | Linaje |
| K1-15-1           | ALL-7  | Fujisaka 5-3-1         | ALL-10 |
| Kanto 51-6-1      | ALL-7  | Fujisaka 5-4-1         | ALL-10 |
| Línea 6-10-1      | ALL-7  | Fanny-28-1-1           | ALL-11 |
| Línea 6-4         | ALL-7  | Línea 2-38-1           | ALL-12 |
| Línea 6-7-1       | ALL-7  | IAC 165-7-1            | ALL-12 |
| Línea 23-14-1     | ALL-7  | Tsuyake-1-1            | ALL-12 |
| Moroberekan-20-1  | ALL-7  | Tsuyake-2-1            | ALL-12 |
| NP 125-26-1       | ALL-7  | Kanto 51-1-1           | ALL-13 |
| Subgrupo 4        | Linaje | Subgrupo 8             | Linaje |
| Peta-20-1         | ALL-7  | Kanto 51-1-2           | ALL-13 |
| Peta-21-1         | ALL-7  | Kanto 51-1-3           | ALL-13 |
| Peta-22-1         | ALL-7  | Kanto 51-1-5           | ALL-13 |
| Pi No 4-1         | ALL-7  | Kanto 51-9-1           | ALL-13 |
| Raminad Srt3-19-1 | ALL-7  | Línea 2-34-1           | ALL-15 |
| Raminad Srt3-20-1 | ALL-7  | Tetep-5-1              | ALL-16 |
| Sha-Tiao-Tsao-1-1 | ALL-7  | Zenith-32-1            | ALL-17 |
| Shin 2-6-1        | ALL-7  | Chokoto-5-1            | ALL-18 |

ALL: Altillanura

resistencia de alta durabilidad en las variedades de arroz, siendo éste el medio de control más favorable para combatir la enfermedad (Correa y Zeigler, 1993b).

Con la caracterización de las familias genéticas de *P. grisea* y sus espectros de virulencia, se ha logrado desarrollar también una estrategia

para marcar y combinar genes que confieran resistencia a linajes específicos del patógeno, en lugar de conferir resistencia a aislamientos individuales. De ésta manera se podrán obtener variedades de arroz altamente resistentes y así contrarrestar familias enteras del hongo en diferentes ecosistemas como es el caso de la varie-

dad *Oryzica* Llanos 5. (Tohme et al, 1991, tomado de Correa et al 1993a; CIAT, Arroz en las Américas, 1991; Correa et al, 1993).

## CONCLUSIONES

La no existencia de la reproducción sexual de *P. grisea* en aislamientos de Colombia es evidente, pues aún combinando aislamientos con tipo de apareamiento diferente (previamente conocido) no se presentaron formaciones de peritecios.

Aunque varios autores han logrado obtener el estado perfecto de *P. grisea*, es claro que la fertilidad de este patógeno en poblaciones colombianas del hongo es muy baja y se puede pensar que este es el factor más limitante para que la reproducción sexual de este microorganismo no ocurra en la naturaleza, no debiéndose esto a condiciones ambientales desfavorables como se podría pensar.

Mediante análisis de frecuencias de genes de virulencia y sus combinaciones se ha logrado comprobar que este patógeno combina genes de virulencia dentro de un mismo aislamiento. Con los resultados obtenidos en ésta investigación podemos afirmar que ésta combinación de genes no se debe a una recombinación sexual, si no a otros posibles mecanismos de reproducción, como son el ciclo parasexual y/o heterokariosis y mutaciones naturales presentes en él.

Aun cuando la población del hongo en la Altillanura Colombiana es genéticamente diferente al resto de Colombia, se comprobó que en esta población tampoco existe la posibilidad de presentarse el estado perfecto. Por consiguiente, no existe un riesgo potencial de flujo de genes de virulencia dentro de esta población ó en la población del resto del país a través de un mecanismo sexual de reproducción.

La no presencia del estado sexual de *Pyricularia grisea* en Colombia, sugiere que no existe ningún riesgo aparente de flujo y combinación de genes de virulencia entre o dentro de las diferentes familias genéticas del hongo, como tampoco un posible flujo de genes a través de aislamientos patogénicos sobre diferentes malezas hospedantes de *P. grisea*. Estas observaciones apoyan la viabilidad de la estrategia de mejoramiento seguida por el programa de arroz del CIAT, basado en la acumulación de genes de resistencia complementarios a las diferentes familias genéticas del hongo en Colombia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIAT. 1991. Arroz en las Américas Boletín Informativo. Biotecnología del arroz en IIRI y CIAT. 12. (2): Cali, Colombia. 12p.
- CIAT 1993. Informe Anual del Proyecto Arroz. Cali, Colombia.
- Correa, F; Levy, M; Hamer, J; Tohme, J y Ramírez, A. 1993. La búsqueda de variedades resistentes a *Pyricularia oryzae*. FEDEARROZ. 42 (385): 20-21.
- Correa, F. y Zeigler, R. 1993a. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "Hot Spot" breeding site in eastern

- Colombia. Plant Disease. 77: 1029-1035.
- Correa, F. y Zeigler, R. 1993b. Field breeding for durable rice blast resistance in the presence of diverse pathogen populations. P215-218. In: Durability of Disease Resistance. Th. Jacobs and J.E. Parlevliet (eds). Kluwer Academic Publishers. 375p.
- Correa, F. y Zeigler, R. 1995. Desarrollo de resistencia estable a *Pyricularia grisea*. Trabajo presentado en el primer taller internacional de selección recurrente en arroz. Marzo 13-17, 1995. Goiania, Brasil.
- Correa, F, Zeigler, R. y Levy, M. 1994. Virulence characteristics of genetic families of *Pyricularia grisea* in Colombia. In: RICE BLAST. International Rice Research Institute (IRRI). Manila. Filipinas. P 211-230.
- Hebert, T.T. 1971. The perfect stage of *Pyricularia grisea*. Phytopathology. 61: 83-87.
- Levy, M; Correa, F; Zeigler, R; Xu, S. y Hamer, J. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. Phytopathology. 83. (12): 1427-1433.
- Tohme, J; Montenegro, M.V; Correa, F; Martínez, C; Zeigler, R; y Roca, W. 1991. Tagging resistance genes to rice hoja blanca virus and Colombian isolates of rice blast with RFLP and RAPD markers. Fifth Annual Meeting of the International Program on Rice Biotechnology. October 2-5, 1991. Tucson, Arizona, USA.
- Yaegashi, H. y Hebert, T.T. 1976. Perithecial development and nuclear behavior in *Pyricularia*. Phytopathology. 66: 122-126.
- Yoder, O; Valent, B y Chumley, F. 1986. Genetic nomenclature and practice for plant pathogenic fungi. Phytopathology. 76 (4) : 383-385.

Reprinted with permission from ASCOLFI. Originally published in Fitopatología Colombiana 24(2):55-60, Copyright 2000.