METODOS DE INOCULACIÓN DEL VIRUS (VNRA) DE LA NECROSIS RAYADA DEL ARRROZ (ENTORCHAMIENTO), CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DERIVADAS DE UN CRUZAMIENTO INTERESPECIFICO POR SU RESISTENCIA AL VECTOR Y/O AL VIRUS Y SU CONTROL QUÍMICO

JOHANNA ECHEVERRI RICO
SANDRA PATRICIA VALDES GUTIERREZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
INGENIERIA AGRONOMICA
PALMIRA
2002

METODOS DE INOCULACIÓN DEL VIRUS (VNRA) DE LA NECROSIS RAYADA DEL ARRROZ (ENTORCHAMIENTO), CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DERIVADAS DE UN CRUZAMIENTO INTERESPECIFICO POR SU RESISTENCIA AL VECTOR Y/O AL VIRUS Y SU CONTROL QUÍMICO

JOHANNA ECHEVERRI RICO
SANDRA PATRICIA VALDES GUTIERREZ

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
INGENIERO AGRÓNOMO

DIRECTOR: Fernando Correa V.
Ph.D. Fitopatólogo del Programa de Arroz del CIAT
CODIRECTOR: Ariel Gutiérrez

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
INGENIERIA AGRONOMICA
PALMIRA
2002

DEDICATORIA

A DIOS por ser mi luz en cada momento de mi vida.

A mi mamá por ser quien me dio el ser y a quien le debo haber terminado esta etapa de mi vida, pues con su amor y confianza apoyó cada momento de mi carrera.

A mis abuelitos por estar en cada momento en el cual he necesitado de ellos, por brindarme su gran amor y a mi abuelita especialmente por sus oraciones en los momentos más importantes de mi vida.

A mis hermanos por ser parte de mis alegrías y mis tristezas.

A mi papá por acompañarme en mi carrera y por enseñarme todo aquello que sabía, por ser mi compañero de risas y de locuras.

A mi gran amiga Sandra por que sin su tolerancia, perseverancia y gran amistad no se hubiera podido culminar este trabajo con éxito, a ella y su familia siempre los llevaré en mi corazón.

A Hoover por soportar mis momentos de mal genio y por ser mi gran amigo además de mi amor.

Y muy especialmente a mis amigos (as) Merlyn, Oscar, Jose, Álvaro, Diego, Jaime, Alex, Elkin, Marino, Cony, Katherine, Anderson, Mauricio T, Ana María Lozada, Maria Claudia, Ana Milena, Chicho, Ricardo, Cléver, Karim, Martha, Lina, Lili, Patico, Sandra García, mi Yorla por estar siempre ahí cuando mas los necesité, por ser complices de mis alegrias y mis tristezas y por ser quienes son.

JOHANNA

A Dios por estar conmigo en todos los momentos de mi vida, y no dejarme desfallecer, además por darme la familia tan espectacular que tengo.

A mis padres por apoyarme en todas mis decisiones, por su compañía en este transcurso de mi vida, por darme la oportunidad de ser alguien en la vida, por la formación que me han dado y sobre todo por todo el amor que me brindan.

A mi hermana Paola por estar a mi lado en los momentos de tristeza y alegrías, por apoyarme y respetarme.

A Herman, mi cuñado, por entender todos mis dilemas, por su gran ayuda y amistad.

A mis abuelos por su amor que solo ellos saben dar.

A mi MEJOR AMIGA JOHANNA, por soportar mi genio, por su ayuda, por esa amistad tan incondicional y única que hizo posible que tantas cosas nos saliera tan bien.

A mi MEJOR AMIGO ALEJANDRO por sus consejos y por estar siempre al lado mío.

A mi amiga Merlyn por esas largas charlas y momentos felices que pasamos.

A mis amigos Jose, Oscar, Alex, Jaime, Alvaro, Patico, Sandra G., Catherine, Lina, Martha, Ana María Lozada, Conny, Marino y a las monas, quienes con su sonrisa y compañía hicieron que esta étapa tuviera los mejores momentos de mi vida.

A los abuelos de JOHA por su confianza y apoyo moral en toda mi carrera.

A mis amigos(as) Mauricio Cuevas, Anderson, Mauricio Tamara, Karim, Ana Milena, Chichos, Cléber, Ricardo, Adrian, que a pesar de ser de otras carreras estuvieron en todo momento conmigo compartiendo ratos inolvidables.

A mi gran amiga María Claudia por esa amistad tan sincera, por toda su ayuda

SANDRA PATRICIA V.

AGRADECIMIENTOS

Manifestamos nuestros agradecimientos para la culminación de este trabajo:

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) por dejarnos una huella imborrable de grandes enseñanzas.

Al Doctor Fernando Correa por el gran apoyo que nos brindó para la culminación de este trabajo, por su confianza y por sus enseñanzas, las cuales son básicas para nuestra formación como profesionales.

A James García por su gran ayuda, su amistad y en especial su confianza.

A Gustavito por que fue un gran compañero en nuestro trabajo, gracias por meterle toda tu tenacidad a esta tesis y sobre todo por tu amistad.

Al profesor Ariel Gutiérrez por su paciencia, perseverancia y gran ayuda para que este trabajo fuera exitoso.

A Girlena por sus grandes enseñanzas.

A Fabio Escobar por su compañerismo, a Joanna Dossman y Sandra Salazar y en general a todo el equipo de arroz del CIAT.

A Liliana Escobar por su gran amistad y ayuda.

A Luz Dary, Luis Rosero y Daniel Zambrano por su valiosa colaboración.

A Elizabeth por su valiosa colaboración en la edición de este trabajo y por estar siempre dispuesta a colaborarnos.

A Miryam Cristina Duque y James Silva por su gran ayuda y por su gran conocimiento aportado.

A la Universidad Nacional por formarnos como profesionales.

Al profesor Fernando Marmolejo por ser quien nos motivó a amar la fitopatología.

A los profesores Jaime Eduardo Muñoz, Carlos Iván Cardozo, Pedro Díaz, Mario García, Edgar Iván Estrada, Franco Alirio Vallejo y Mauricio Salazar por darnos lo mejor de su trabajo como verdaderos maestros.

JOHANNA Y SANDRA

RESUMEN

El entorchamiento del arroz es una enfermedad causada por el Virus de la Necrosis Rayada (VNRA), el cual es transmitido por el hongo del suelo *Polymyxa graminis*. En este estudio se compararon tres métodos de inoculación para identificar la que presentara transmisión del hongo vector y una mayor incidencia de entorchamiento, con el objetivo principal de poder evaluar germoplasma de arroz por su resistencia al virus. El método 1 consistió en la siembra directa de la semilla sobre suelo contaminado recolectado directamente de campos de agricultores con una alta incidencia de la enfermedad; en el método 2 se pusieron en contacto las semillas con suelo humedecido y altamente infestado por el hongo vector y posteriormente se sembró en materos con arena estéril; en el método 3 se sembraron las semillas en bandejas con suelo infestado y a los 10 días después de siembra se arrancaron las plántulas para causar heridas en las raicillas y se transplantaron a materos que contenían del mismo suelo contaminado. Se determinó que la mayor incidencia de la enfermedad se presentó con el método 1. Posteriormente se evaluó la reacción al virus de la Necrosis Rayada (VNRA) bajo condiciones de invernadero de 16 líneas preliminarmente clasificadas como resistentes y 10 susceptibles, resultantes del cruzamiento y retrocruzamiento de la especie silvestre de arroz *O. glaberrima* como parental resistente y la variedad comercial BG90-2 *O. sativa* utilizada como parental recurrente en las generaciones RC_2F_5 Y RC_3F_4. De esta evaluación se seleccionaron 9 líneas altamente resistentes al VNRA que pertenecían a la población RC_2F_5.

Se estudió la resistencia al virus y/o al hongo vector *P. graminis* en líneas resistentes al VNRA, en los parentales BG90-2 y *O. glaberrima* y en la variedad susceptible Oryzica 3, y se concluyó que la resistencia al VNRA puede deberse a una resistencia al vector y no necesariamente al virus, por lo cual se recomienda realizar estudios para dilucidar los mecanismos de resistencia observados.

Se evaluó la efectividad del fungicida HIMEXAZOL como control químico del hongo vector *P. graminis* aplicado al suelo o la semilla, dando como resultado un buen control a concentraciones de 1ml de HIMEXAZOL en 199 ml de agua aplicado al suelo, aplicado al suelo. Concentraciones mayores causan una alta toxicidad y mortalidad de plantas. En la aplicación a la semilla no se observó ningún efecto del fungicida para el control del hongo *P. graminis* vector del VNRA.

Palabras Claves: Entorchamiento, *Polymyxa graminis*, líneas resistentes, control químico, HIMEXAZOL.

SUMMARY

The rice disease known as crinkling or rice stripe necrosis virus (RSNV) is transmitted by the soil pathogen *Polymyxa graminis*. Three inoculation methods were compared in this study to identify the best transmission of the fungus and symptom development, and the highest incidence of the disease, with the objective of evaluating rice germplasm for resistance to the virus. Method 1 consisted in planting dried seed directly on contaminated soil collected from farmers fields with a high incidence of RSNV; for method 2 the seeds were placed in contact with soil highly infested with *P. graminis* which had been previously moistened, and then planting the seeds in pots containing sterile sand; in method 3 the seeds were planted temporarily in highly infested soil on flat trays for ten days, seedlings were then pulled off the soil causing small wounds in the roots and transplanted to pots containing the same soil highly infested with the pathogen. The highest incidence of the disease was observed with method 1 of inoculation. This method was used to evaluate and corroborate the reaction to RSNV of rice lines derived from the insterspecific cross and backcross between the wild rice *Oryza glaberrima* (resistant parent) and the cultivar BG-90-2 of the cultivated species *O. sativa* used as the recurrent parent in the BC_2F_5 and BC_3F_4 populations. Nine lines were selected as highly resistant to RSNV from the population BC_2F_5.

The resistance to the virus or vector was studied in lines selected as highly resistant to RSNV, the parents (BG90-2 and *O. glaberrima*), and the susceptible cultivar Oryzica 3. The results suggest that the resistance to RSNV observed could be due to resistance to the

vector and not necessarily to the virus; therefore, it is recommended to conduct additional studies to elucidate the nature and mechanisms of the resistance observed.

The fungicide HIMEXAZOL was evaluated as chemical control of the vector *P. graminis* applied to the soil or as seed treatment. Effective control was observed for the concentration 1X applied to the soil. However, higher concentrations of the fungicide were toxic causing plant death. Seed treatment was not effective for the control of the vector of RSNV at any concentration.

Key words: crinkling, *Polymyxa graminis*, resistant lines, chemical control, HIMEXAZOL

.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. REVISIÓN DE LITERATURA	4
1.1. IMPORTANCIA DEL ARROZ EN COLOMBIA	4
1.2. IMPORTANCIA DEL VIRUS DE LA NECROSIS RAYADA DEL ARROZ	5
1.3. SINTOMATOLOGÍA	6
1.4. EPIDEMIOLOGIA	7
1.5. AGENTE CAUSAL	8
1.6. CLASIFICACION TAXONOMICA	14
1.7. CICLO DE VIDA DE LOS PLASMODIOFOROMICETOS	16
1.8. METODOS DE CONTROL DEL ENTORCHAMIENTO	17
2. MATERIALES Y METODOS	18
2.1. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN	18
2.2. COMPARACION DE TRES METODOS DE INOCULACIÓN	18

pág

2.2.1. Método 1 22

2.2.2. Método 2 22

2.2.3. Método 3 22

2.3. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA REACCION AL VNRA DE LINEAS DE ARROZ DE DIFERENTES GENERACIONES DEL RETROCRUZAMIENTO ENTRE *O. glaberrima* Y *O. sativa* (VARIEDAD BG90-2) 24

2..3.1. Genotipos 24

2.3.2. Metodologías 24

2.4. COMPROBACIÓN DE LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD EN GENOTIPOS SELECCIONADOS 25

2.4.1. Genotipos 25

2.4.2. Metodología 25

2.5. ENSAYO DE RESISTENCIA AL VECTOR 26

2.6. ENSAYO DE CONTROL QUÍMICO 27

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 29

3.1. COMPARACION DE TRES METODOS DE INOCULACIÓN 29

Pág.

3.1.1. Entorchamiento 33

3.1.2. Rayado 35

3.1.3. Enanismo 37

3.1.4. Mortalidad 39

3.2. REACCION AL VNRA DE LINEAS DE ARROZ DE DIFERENTES GENERACIONES DEL RETROCRUZAMIENTO ENTRE *O. glaberrima* Y *O. Sativa* (VARIEDAD BG90-2) 52

3.3 COMPROBACION DE LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD EN GENOTIPOS SELECCIONADOS 55

3.3.1. Comparación de las poblaciones RC_3F_4, RC_2F_5 con los parentales y con los testigos 59

3.3.2. Promedios de área bajo la curva 60

3.3.3. Interpretación de gráficas de la comprobación de la resistencia y susceptibilidad en genotipos seleccionados 65

3.4. ENSAYO DE RESISTENCIA AL VECTOR 70

3.5. ENSAYO DE CONTROL QUÍMICO 74

3.5.1 Efecto de la Aplicación de HIMEXAZOL a la Semilla 75

Pág.

3.5.1.1. Entorchamiento 75

3.5.1.2. Rayado 77

3.5.1.3. Enanismo 79

3.5.1.4. Mortalidad 81

3.5.1.5. Plantas Sanas 83

3.5.2. Efecto de la Aplicación de HIMEXAZOL al Suelo 88

3.5.2.1. Entorchamiento 88

3.5.2.2. Rayado 90

3.5.2.3. Enanismo 92

3.5.2.4. Mortalidad 94

3.5.2.5. Plantas Sanas 96

4. CONCLUSIONES 101

5. RECOMENDACIONES 104

6. BIBLIOGRAFÍA 105

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Distribución del Virus de la Necrosis Rayada del Arroz en Colombia 13

Tabla 2. Reacción de Diferentes Genotipos de Arroz al Entorchamiento o VNRA 19

Tabla 3. Síntomas del Virus de la Necrosis Rayada del Arroz 21

Tabla 4. Análisis de Varianza para la Comparación de Tres Métodos de Inoculación del protozoario 23

Tabla 5. Análisis de Varianza para la Comprobación de la Resistencia y susceptibilidad al VNRA de Genotipos de Arroz Seleccionados 26

Tabla 6. Análisis de Varianza para el Ensayo de Resistencia al Vector del protozoario *Polymyxa graminis* 27

Tabla 7. Concentraciones de HIMEXAZOL para Tratamiento a la Semilla y al Suelo 27

Tabla 8. Análisis de Varianza para el Ensayo de Control Químico con el Fungicida HIMEXAZOL aplicado a la Semilla y al Suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X y 50X 28

Tabla 9. Fuente de Variación y Significancia de los Cuadrados Medios de los Síntomas Entorchamiento, Rayado, Enanismo, Mortalidad para los dos Métodos de Inoculación. Palmira 2001B 32

Tabla 10. Promedios del Porcentaje de Incidencia del Síntoma Entorchamiento en diez genotipos de arroz, para dos métodos de Inoculación y cinco evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B. 34

Tabla 11. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma Rayado en 10 genotipos para dos Métodos de Inoculación y cinco Evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B. 36

Pág.

Tabla 12. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma de Enanismo en diez genotipos de arroz para dos Métodos de Inoculación y cinco Evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B. 38

Tabla 13. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma Mortalidad en diez genotipos de arroz para dos Métodos de Inoculación y cinco evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B. 41

Tabla 14. Líneas Resistentes al VNRA del RC_2 (CT15150) y del RC_3 (CT16053 A) con base en el porcentaje de Plantas Sanas. Palmira 2002 A. 53

Tabla 15. Líneas Susceptibles al VNRA del RC_2 (CT15150) y del RC_3 (CT16053 A) con base en el porcentaje de Plantas Sanas. Palmira 2002 A. 53

Tabla 16. Evaluación del Porcentaje de Síntomas del VNRA en Líneas Seleccionadas como Resistentes y susceptibles 58

Tabla 17. Resumen del Agrupamiento de DUNCAN para la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados para VNRA 59

Tabla 18. Area Bajo la Curva para Todos los Síntomas del VNRA en Líneas y Variedades Resistentes y Susceptibles a la Enfermedad 62

Tabla 19. Análisis de Varianza para Ensayo de Resistencia al Vector 71

Tabla 20. Agrupamiento de DUNCAN y promedio de Área bajo la curva para el Ensayo de Resistencia al Vector 71

Tabla 21. Frecuencia y Porcentaje de Cistosoros 72

Tabla 22. Fuentes de Variación y significancia de los Cuadrados Medios de las Variables Entorchamiento, Rayado, Enanismo, Mortalidad y Plantas Sanas para el ensayo de Control Químico al Suelo y a la Semilla 75

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Líneas Resistentes de la Población RC_2F_5 52

Figura 2. Líneas Resistentes y Susceptibles de la Población RC_3F_4 52

Figura 3. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Caiapó 85

Figura 4. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Fedearroz 50 86

Figura 5. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Oryzica 3 86

Figura 6. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad BG90-2 87

Figura 7. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Caiapó 98

Figura 8. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Fedearroz 50 99

Figura 9. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad Oryzica 3 99

Figura 10. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X, y 50X en la Variedad BG90-2 100

LISTA DE GRAFICAS

Pág.

Gráfica 1. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Entorchamiento en Diez Variedades de Arroz en Colombia 42

Gráfica 2. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Rayado en Diez Variedades de Arroz en Colombia 42

Gráfica 3. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Enanismo en Diez Variedades de Arroz en Colombia 43

Gráfica 4. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Mortalidad en Diez Variedades de Arroz en Colombia 43

Gráfica 5-14. Comparación de Métodos de Inoculación de *P. graminis* en Diez Variedades de Arroz para el síntoma Entorchamiento. Palmira 2001 B

Gráfica 5. *O. glaberrima* 44

Gráfica 6. Makalioka 44

Gráfica 7. CT8220-2-15 44

Gráfica 8. Coprosem 1 44

Gráfica 9. Oryzica Caribe 8 45

Gráfica 10. Irat 128 45

Gráfica 11. Oryzica Yacú 9 45

Gráfica 12. Fedearroz 2000 45

Gráfica 13. P3082-F4-18 45

Gráfica 14. Oryzica 3 45

Pág.

Gráfica 15-24. Comparación de Métodos de Inoculación de *P. graminis* en Diez Variedades de Arroz para el síntoma Rayado. Palmira 2001 B.

Gráfica 15. *O. glaberrima* 46

Gráfica 16. Makalioka 46

Gráfica 17. CT8220-2-15 46

Gráfica 18. Coprosem 1 46

Gráfica 19. Oryzica Caribe 8 47

Gráfica 20. Irat 128 47

Gráfica 21. Oryzica Yacú 9 47

Gráfica 22. Fedearroz 2000 47

Gráfica 23. P3082-F4-18 47

Gráfica 24. Oryzica 3 47

Gráfica 25-34. Comparación de Métodos de Inoculación de *P. graminis* en Diez Variedades de Arroz para el síntoma Enanismo. Palmira 2001 B

Gráfica 25. *O. glaberrima* 48

Gráfica 26. Makalioka 48

Gráfica 27. CT8220-2-15 48

Gráfica 28. Coprosem 1 48

Gráfica 29. Oryzica Caribe 8 49

Gráfica 30. Irat 128 49

Gráfica 31. Oryzica Yacú 9 49

Gráfica 32. Fedearroz 2000 49

Pág.

Gráfica 33. P3082-F4-18 49

Gráfica 34. Oryzica 3 49

Gráfica 35-44. Comparación de Métodos de Inoculación de *P. graminis* en Diez Variedades de Arroz para el síntoma Mortalidad. Palmira 2001 B.

Gráfica 35. *O. glaberrima* 50

Gráfica 36. Makalioka 50

Gráfica 37. CT8220-2-15 50

Gráfica 38. Coprosem 1 50

Gráfica 39. Oryzica Caribe 8 51

Gráfica 40. Irat 128 51

Gráfica 41. Oryzica Yacú 9 51

Gráfica 42. Fedearroz 2000 51

Gráfica 43. P3082-F4-18 51

Gráfica 44. Oryzica 3 51

Gráfica 45. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/ *O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma Entorchamiento. 63

Gráfica 46. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/ *O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma Rayado. 63

Gráfica 47. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/ *O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma Enanismo. 64

Pág.

Gráfica 48. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/ *O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma Mortalidad. 64

Gráfica 49. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/ *O. glaberrima* para Plantas Sanas. 65

Gráfica 50. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Entorchamiento 67

Gráfica 51. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Rayado 68

Gráfica 52. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Enanismo 68

Gráfica 53. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Mortalidad 69

Gráfica 54. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* para Plantas Sanas 69

Gráfica 55.Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al protozoario *Polymyxa graminis* 73

Gráfica 56. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 21 D.D.S 76

Gráfica 57. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 35 D.D.S 76

Gráfica 58. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 48 D.D.S 77

Gráfica 59. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Rayado a los 21 D.D.S 78

Pág.

Gráfica 60. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Rayado a los 35 D.D.S 78

Gráfica 61. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Rayado a los 48 D.D.S 79

Gráfica 62. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Enanismo a los 21 D.D.S 80

Gráfica 63. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Enanismo a los 35 D.D.S 80

Gráfica 64. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Enanismo a los 48 D.D.S 81

Gráfica 65. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Mortalidad a los 21 D.D.S 82

Gráfica 66. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Mortalidad a los 35 D.D.S 82

Gráfica 67. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del Síntoma de Mortalidad a los 48 D.D.S 83

Gráfica 68. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 21 D.D.S 84

Gráfica 69. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 35 D.D.S 84

Gráfica 70. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 48 D.D.S 85

Gráfica 71. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 21 D.D.S 88

Gráfica 72. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 35 D.D.S 89

Gráfica 73. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma de Entorchamiento a los 48 D.D.S 89

Pág

Gráfica 74. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Rayado a los 21 D.D.S 91

Gráfica 75. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Rayado a los 35 D.D.S 91

Gráfica 76. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Rayado a los 48 D.D.S 92

Gráfica 77. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Enanismo a los 21 D.D.S 93

Gráfica 78. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Enanismo a los 35 D.D.S 93

Gráfica 79. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma enanismo a los 48 D.D.S 94

Gráfica 80. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Mortalidad a los 21 D.D.S 95

Gráfica 81. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Mortalidad a los 35 D.D.S 95

Gráfica 82. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para la Manifestación del Síntoma Mortalidad a los 48 D.D.S 96

Gráfica 83. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para plantas sanas a los 21 D.D.S 97

Gráfica 84. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para plantas sanas a los 35 D.D.S 97

Gráfica 85. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al suelo para plantas sanas a los 48 D.D.S 98

INTRODUCCIÓN

El arroz es un cultivo que se siembra en varios departamentos de Colombia. En el año 2001 alcanzó un área sembrada de 491.570 hectáreas de riego y secano mecanizado, con un consumo per cápita por semana de 1.44 libras. En los últimos años el área sembrada ha aumentado debido a que en la región de los Llanos Orientales el cultivo se ha incrementado sustancialmente. Esta zona presenta las mayores extensiones en arroz a nivel nacional, siendo su promedio de 45 hectáreas, mientras que en el resto del país el promedio está por debajo de 20 hectáreas. (Fondo Nacional del Arroz 2001)

Los ambientes del cultivo proveen condiciones favorables para el desarrollo de patógenos del suelo. Es el caso del pseudo-pseudo-hongo *Polymyxa graminis,* vector del virus de la Necrosis Rayada del Arroz (VNRA = Rice Stripe Necrosis Virus), que causa el Entorchamiento del arroz, observado por primera vez en Colombia en la zona arrocera de Ibagué, con síntomas característicos como el enrollamiento de la hoja principal, fusión del tejido foliar que da origen a un pseudotallo con una hoja principal que emerge en forma de zig-zag. Las hojas afectadas se tornan necróticas, y finalmente las plantas detienen su desarrollo normal (Restrepo, 1969). En 1991 se presentó en la zona arrocera de los Llanos Orientales (Bastidas y Montealegre,1994). En los años siguientes la incidencia de la enfermedad ha sido errática y ha variado apreciablemente de un semestre a otro.

En 1999 se encontraron en el Valle del Cauca lotes con incidencia hasta del 90% (Reyes y Holguín, 2000).

En el control del Virus de la Necrosis Rayada del Arroz, transmitido por el pseudo-pseudo-hongo *Polymyxa graminis* se han intentado varios métodos. Hasta la fecha, los tratamientos con productos químicos no han resultado ser económicamente viables en condiciones de campo. Las principales estrategias en la mayoría de los países templados afectados por estos virus transmitidos por *Polymyxa* spp., han sido, las prácticas culturales y la rotación de cultivos (Morales, 2001).

Teniendo en cuenta la importancia del cultivo del arroz en Colombia y el nivel de daño causado por esta enfermedad, junto con los elevados costos de los agroquímicos utilizados como control y su inefectividad, se hace necesario hallar algunas medidas de control para el "entorchamiento" del arroz como el desarrollo de posibles fuentes de resistencia al virus y/o vector.

OBJETIVOS

GENERAL

- Profundizar en el conocimiento de la interacción de germoplasma de arroz con el virus de la Necrosis Rayada del Arroz y de su vector el pseudo-pseudo-hongo *Polymyxa graminis*.

ESPECIFICOS

- Comparar tres metodologías de inoculación del pseudo-pseudo-hongo *Polymyxa graminis* para identificar la que presente mayor incidencia de la enfermedad para su uso en los ensayos posteriores de evaluación de germoplasma de arroz.
- Evaluar el comportamiento de las líneas resultantes del cruzamiento y retrocruzamiento de una accesión de *Oryza glaberrima* como parental resistente y la variedad comercial BG90-2 (*Oryza sativa)* utilizada como parental intermedio recurrente en las generaciones RC_2F_5, RC_3F_4 y RC_3F_5 al virus del entorchamiento del arroz en condiciones de invernadero.
- Determinar si las líneas resistentes al Entorchamiento, seleccionadas en el retrocruzamiento estudiado, presentan también resistencia a la infección de la raíz por parte del vector *Polymyxa graminis*.
- Evaluar la efectividad del fungicida HIMEXAZOL en el control químico de *Polymyxa graminis,* vector del entorchamiento.

1. REVISION DE LITERATURA

1.1 IMPORTANCIA DEL ARROZ EN COLOMBIA

El arroz es un cultivo de ciclo corto de vital importancia para la dieta alimenticia de los colombianos, tanto en la zona rural como en la urbana; es una fuente de calorías (14.3%) y de proteínas (12.5%) (Prado, 1994), siendo su consumo per cápita semanal de 1.44 libras. (Fondo Nacional del Arroz 2001)

En el año 2001, el arroz en Colombia se cultivó en 491.570 hectáreas en donde hubo una producción de 2.341.099 toneladas de paddy (Fondo Nacional del Arroz 2001).

El cultivo del arroz representa el 12% del área cosechada en Colombia y el 30% de los cultivos transitorios; su producción representa el 6% del valor de la producción agropecuaria y el 10% de la actividad agrícola Colombiana.(Cadena Arroz, 2002)

El sector arrocero colombiano se ha agrupado en cinco zonas, las cuales intentan cobijar el mayor número de departamentos con condiciones económicas y agronómicas similares. Estas zonas son: Centro, Llanos, Bajo Cauca, Costa Norte y Santanderes. La zona Centro corresponde a los departamentos de Huila, Tolima, Caquetá, Cundinamarca y Boyacá en las áreas aledañas al río Magdalena y a los departamentos del Valle del Cauca y Cauca. La zona arrocera de los Llanos Orientales se encuentra en las postrimerías de la cordillera

Oriental y cobija gran parte del oriente colombiano. Las principales áreas productoras de esta región están localizadas en los departamentos del Meta, Casanare y Arauca. La zona del Bajo Cauca, corresponde literalmente a la parte baja del Valle del río Cauca, comprende parte de los departamentos de Antioquia, Bolívar, Córdoba y Sucre, de los cuales algunos municipios hacen parte de la denominada subregión de la Mojana o Cono del Cauca donde se encuentran tierras muy fértiles. La zona Costa Norte está integrada por las áreas arroceras del Cesar, Guajira y Magdalena, donde generalmente se cultiva arroz de riego, aunque en la parte sur del departamento del Cesar se siembran algunas hectáreas en el sistema de secano. La zona que comprende a los departamentos de Santander y Norte de Santander, presentan los dos sistemas de producción, aunque predomina el sistema de riego. Los departamentos de Magdalena, Norte de Santander y Santander son los únicos, en toda la zona, que tienen una verdadera adecuación de tierras para el cultivo del arroz (Fondo Nacional del Arroz, 2001).

1.2 IMPORTANCIA DEL VIRUS DE LA NECROSIS RAYADA DEL ARROZ

Las enfermedades del arroz, principalmente la Pyricularia (*Pyricularia grisea* Sacc), el añublo de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kuhn), y el virus de la hoja blanca (VHBA), afectan constantemente el cultivo, causando pérdidas en los rendimientos hasta de un 50% en promedio y aumentando los costos de producción debido al alto consumo de pesticidas utilizados para su control (Bastidas y Montealegre, 1994).

Recientemente, en Colombia ha aparecido otra enfermedad causada por el Virus de la Necrosis Rayada del Arroz (VNRA) o entorchamiento, transmitida por el pseudo-hongo del

suelo *Polymyxa graminis*, que afecta los rendimientos del cultivo hasta en un 40% en zonas altamente infestadas (Correa, 2001. Comunicación personal).

La enfermedad se manifiesta en zonas tropicales, pero es posible que se presente en zonas templadas ya que el pseudo-hongo *Polymyxa graminis* proviene de estas zonas.(Morales et al, 1995)

Debido a la importancia económica que ha alcanzado el entorchamiento, es necesario iniciar un programa de evaluación e identificación de posibles fuentes de resistencia al virus para ser incorporadas en los programas de mejoramiento de desarrollo de variedades de arroz (Carrillo y Correa, 1998)

1.3 SINTOMATOLOGIA

Los síntomas de la enfermedad durante el desarrollo del cultivo se manifiestan de la siguiente forma: durante el estado de plántula se observa una proliferación de raíces secundarias que elevan la planta sobre la superficie del suelo, enroscamiento con o sin moteado de las hojas, enanismo, pérdida de turgencia, aceleramiento del desarrollo y muerte de plantas. En las plantas que sobreviven, el macollamiento se adelanta, las hojas y tallos se deforman, el anclaje es débil, las nuevas macollas emergen con deformaciones y enanismo que en la mayoría de los casos no se desarrollan y mueren (Agudelo et al, 2001).

1.4 EPIDEMIOLOGIA

Polymyxa graminis es un parásito obligado de las raíces de plantas susceptibles. Esta especie produce zoosporas biflageladas, las cuales nadan hacia los pelos radicales o a la superficie de la epidermis de las raíces, donde se enquistan, inyectando su protoplasto en las células atacadas. Este protoplasto se divide para formar un plasmodio multinucleado, que se convierte en un zoosporangio. Esta estructura produce zoosporas secundarias, encargadas de continuar el proceso de infección. En condiciones adversas los plasmodios producen cuerpos de resistencia, llamados cistosoros, los cuales pueden sobrevivir varios años en ausencia de hospederos y condiciones ambientales favorables. (Chen et al, 1991)

La enfermedad se manifiesta tanto en condiciones de irrigación temporal como en secano, teniendo mayor incidencia en suelos de textura liviana, como los Franco Arenosos. Esto se debe a la mayor movilidad de las zoosporas en este tipo de suelos, siempre y cuando tenga un contenido de humedad apropiado para el desplazamiento de las zoosporas y crecimiento del cultivo. La incidencia del "Entorchamiento" puede estar influenciada por factores climáticos, coincidiendo los brotes más severos con la ocurrencia de periodos de sequía y lluvias alternadas. (Morales et al, 1995)

A nivel regional, el pseudo-pseudo-hongo vector y el virus que porta, se propaga por diferentes medios. El agua de riego y sus fuentes de agua (lagunas, ríos, etc) pueden ser un medio de difusión de zoosporas virulíferas. Las labores de cultivo, los implementos y la maquinaria agrícola, así como semilla contaminada con suelo infestado constituyen un vehículo de contaminación de suelos libres del pseudo-hongo *Polymyxa graminis* y del

Virus de la Necrosis Rayada del arroz (VNRA). En algunas regiones productoras de arroz la maquinaria es alquilada y transportada por largas distancias, sin tomar las medidas necesarias para descontaminarla luego de haber sido utilizada en campos afectados por entorchamiento. (Morales, 2001)

1.5 AGENTE CAUSAL

Polymyxa es un género económicamente importante con solo dos especies: *Polymyxa graminis* Lendinghan y *Polymyxa betae* Keskin.

Polymyxa graminis y *Polymyxa betae* están registradas como especies separadas por Karling (1968) (citado por Barr 1979) en su monografía de pseudo-hongos plasmodioforos por lo siguiente: las paredes de los cistosoros en *P. graminis* son fusionadas, mientras que en *P. betae* son separadas por una sustancia y por que difieren en el tipo de huéspedes. D'Ambra (1967) (Citado por Barr, 1979), encontró una cercana semejanza entre las dos especies y concluyó que esta diferenciación no es posible morfológicamente, es decir que la clasificación es posible solo por características citológicas de los núcleos durante la mitosis y por el huésped específico. (Barr, 1979)

Polymyxa betae es un patógeno de la remolacha en Europa y en Norte América (Keskin, 1964 citado por Barr, 1979), mientas que *Polymyxa graminis* fue el primer plasmodioforomiceto identificado como un vector del virus en plantas de trigo (WMV) (Ratna et al 1990). *P. graminis* es un parásito biotrópico registrado en las raíces de especies de la familia de las gramíneas (Adams, et al, 1986). Aparentemente no causa pérdidas en la

cosecha directamente, siendo este un vector de virus en cereales: virus del mosaico del trigo que habita en el suelo (WSBNV) en los EE.UU. e Italia; virus del mosaico rayado del trigo (WSSMV) en Canadá, EE.UU. y posiblemente Francia; virus del mosaico de la avena (OMV) en EE.UU. y posiblemente Nueva Zelanda; virus del mosaico amarillo de la cebada (BaYMV) y virus del mosaico necrótico del arroz (RNMV) ambos en Japón (Barr, 1979).

La enfermedad viral descrita como "Entorchamiento", es causada por el furovirus de la necrosis rayada del arroz (VNRA), transmitido en África a través del suelo por el pseudo-hongo *P. graminis*. (Fauquet y Thouvenel, 1983; citado por Morales et al, 1995)

Restrepo (1969) en Colombia observó una nueva enfermedad en los cultivos de arroz de la Meseta de Ibagué con una sintomatología caracterizada por presentar enrollamiento de la hoja principal, fusión de tejido foliar dando lugar a un pseudotallo que contiene una hoja principal que emerge en forma de zig-zag, las hojas afectadas se tornan necróticas, y finalmente las plantas detienen su desarrollo normal.(Bastidas y Montealegre, 1994)

Fue después de 22 años cuando se volvió a detectar en Colombia un problema similar, observado en los municipios de Castilla la Nueva y de San Carlos de Guaroa, en el departamento del Meta (Bastidas y Montealegre, 1994), esta vez destacándose la presencia de rayas cloróticas paralelas a las nervaduras de las primeras hojas, sumándose a estas los síntomas descritos en 1969.(Morales et al, 1995)

El efecto de algunos herbicidas, la interacción de residuos de herbicidas con minerales del suelo y la transmisión por insectos o por organismos microscópicos que infectaron las plantas con alguna sustancia de tipo viral o que ocasionaron un daño directo fueron asociados con la enfermedad (Bastidas y Montealegre, 1994).

En 1993 Tapiero y Parada (citado por Acosta N. et al 1997) asocian la presencia del áfido *Rhopalosiphum rufiabdominalis* con el síndrome del entorchamiento, sin embargo en los estudios de transmisión estos investigadores obtuvieron síntomas del entorchamiento en plantas sembradas en suelo con poblaciones del áfido y en suelo esterilizado con o sin áfidos, no confirmándose la transmisión de este insecto. (Acosta, N. 1997)

En 1994 Pardo y Muñoz luego de realizar un estudio donde se asperjaron plántulas de arroz con una suspensión de nematodos con los que reprodujeron los síntomas de entorchamiento, concluyeron que el nematodo del género *Pratylenchus* era el agente causal de la enfermedad del entorchamiento en el cultivo de arroz de los Llanos Orientales.

A finales de 1993 se realizaron las primeras investigaciones sobre el agente causal del "entorchamiento" de arroz en la Unidad de Virología del CIAT; donde se investigó la posibilidad de que se tratara del virus del moteado amarillo del arroz (RYMV) transmitido por crisomélidos (Bakker, 1970; citado por Morales et al 1995) por presentar similitud en los síntomas, sin embargo los resultados fueron negativos. En 1994, se inició la investigación sobre la posible existencia de un furovirus, habiéndose observado partículas tubulares degradadas en extractos de hojas sintomáticas, y estructuras similares a

esporangios en raíces de plantas de arroz afectadas por entorchamiento. Estas investigaciones concluyeron ante el informe de que el agente causal del entorchamiento era el nematodo del género *Pratylenchus*. (Morales et al 1995)

En 1995 Morales y colaboradores reanudaron las investigaciones debido a la persistencia de la enfermedad a pesar del uso intensivo de nematicidas. Para dicho estudio se utilizaron plantas de arroz de diferentes variedades, afectadas por "entorchamiento", procedentes de las localidades de Santa Rosa, Acacías, y San Carlos de Guaroa, en el departamento del Meta. Se hicieron observaciones directas de extractos de plantas con síntomas de "entorchamiento" en un microscopio electrónico, se tomaron diferentes muestras del sistema radical de plantas de arroz sanas y afectadas por "entorchamiento" para la detección de microorganismos en microscopio de luz, se utilizó tejido foliar y raíces de plantas de arroz afectadas por "entorchamiento" para el aislamiento del agente causal y se determinaron sus características por medio de espectrofotometría, finalmente se realizó un análisis de proteínas y ARN de doble filamento. En dicha investigación se demostró la presencia de estructuras similares a los cistosoros característicos del pseudo-hongo plasmodioforomiceto *Polymyxa* spp., en plantas de arroz afectadas por "entorchamiento", de igual manera se demostró la asociación con esta enfermedad de un patógeno viral perteneciente al grupo de los furovirus. (Morales et al 1995)

El síndrome del "entorchamiento", presentó similitudes con los síntomas de la enfermedad viral conocida como "Necrosis Rayada del Arroz" descrita en África. Aislamientos de dicho virus de África y de Colombia, así como extractos de plantas de arroz afectadas por

"Entorchamiento" en Colombia, se sometieron a la prueba del WESTERN BLOTTING con antisuero para el VNRA producido en África Occidental, arrojando resultados positivos, lo que confirmó que se trataba del mismo virus y se identificó, entonces, como el agente causal al furovirus VNRA, transmitido por el pseudo-hongo plasmodióforo *Polymyxa graminis.*(Morales et al 1995)

Simultáneamente Carrillo y Correa (1997) realizaron un estudio sobre la confirmación de la transmisión del entorchamiento del arroz por el pseudo-hongo *Polymyxa graminis* en Colombia, cuyo objetivo era el de reproducir la sintomatología característica del entorchamiento lográndose mediante la inoculación del pseudo-hongo por diversos métodos. Se colectaron cistosoros individuales de *P. graminis* de raíces de plantas de arroz con presencia de VNRA mediante la ayuda de un estereoscopio y se usaron para iniciar cultivos puros, inoculándolos en raíces de plántulas sanas. Todas las plantas inoculadas desarrollaron los síntomas típicos del VNRA, después de dos meses de la inoculación mostrando además abundante cantidad de cistosoros en las raíces. Cistosoros individuales recuperados de plantas enfermas en el invernadero e inoculados sobre plantas sanas transmitieron otra vez el virus y produjeron la sintomatología típica del VNRA, confirmándose de esta forma los postulados de Koch. Extractos de raíces que contenían zoosporas del pseudo-hongo, así como fragmentos secos que contenían cistosoros fueron incorporados en potes con arena estéril transmitiendo el virus a plántulas sanas después de dos semanas de la siembra. Los resultados demostraron evidencia convincente que *P. graminis* es el vector del entorchamiento del arroz en Colombia.

El virus de la Necrosis Rayada del Arroz (VNRA) ha sido reclasificado recientemente con el apoyo del Departamento para el Desarrollo Internacional del Reino Unido (DFID), como un nuevo miembro del género benyvirus teniendo en cuenta los resultados de las pruebas llevadas a cabo de donde se demostró que VNRA, BNYVV y BSBMV pueden tener una organización genómica similar y por esto VNRA puede ser una especie del nuevo género benyvirus (CIAT, 2000).

Esta enfermedad se ha distribuido en 22 municipios de ocho departamentos en Colombia (tabla 1).

Tabla 1. Distribución del Virus de la Necrosis Rayada del Arroz en Colombia

Departamento	Municipio
Meta	Villavicencio Acacias San Carlos de Guaroa Castilla La Nueva Puerto Lopez
Casanare	Aguazul Nunchía
Tolima	Ibagué Lérida Armero Ambalema Venadillo Prado Purificación
Huila	Campoalegre Palermo Aipe Tello
Antioquia	Nechí
Cundinamarca	Paratebueno
Valle	Jamundí
Córdoba	Montelibano

Fuente: CIAT, 1998

Dados los altos niveles de entorchamiento observados en muchas plantaciones comerciales de arroz en diferentes zonas de Colombia, los cultivadores de arroz están empleando diferentes productos químicos, incluyendo fungicidas e insecticidas, para controlar la enfermedad, entre ellos un nuevo fungicida sistémico desarrollado en Japón contra diversos patógenos del suelo, también se conoce como promotor del desarrollo de las plantas y del crecimiento de raíces; cuyo ingrediente activo es el HIMEXAZOL. Se recomienda para el tratamiento del suelo y de la semilla (CIAT 2000).

1.6 CLASIFICACION TAXONOMICA

Según Agrios, *Polymyxa graminis* se clasifica taxonómicamente así:

Reino: Protozoario

Phylum: Plasmodioforomicota

Clase: plasmodioforomicetos

Orden: plasmodioforales

Género: *Polymyxa*

Especie: *Polymyxa graminis*.

Los plasmodioforomicetos son pseudo-hongos cuyo soma vegetativo es un plasmodio, es decir, una masa amiboidea de protoplasma que posee muchos núcleos y que carece de una pared celular definida. (Agrios, 1997)

En el orden de los plasmodiforales el soma vegetativo es también un plasmodio, pero se forma sólo en las células de la planta hospedero y sus esporas latentes se producen en

masas y no en cuerpos fructíferos bien definidos. Los plasmodiforales producen zoosporas que por lo común poseen un par de flagelos (Agrios, 1985).

El grupo de los plasmodioforales penetra y parásita las raíces y otros órganos subterráneos de las plantas e incluye tres géneros fitoparásitos obligados: *Plasmodiophora*, *Polymyxa* y *Spongospora*. Estos pseudo-hongos se encuentran ampliamente distribuidos en los suelos, donde invernan como esporas latentes. Cuando la temperatura es favorable y la humedad abundante, la espora latente produce una zoospora que infecta un pelo radicular y produce un plasmodio. Este último se transforma en un zoosporangio que produce abundantes zoosporas secundarias que, quizá después de haberse apareado, penetran en la raíz o en los tejidos de un tubérculo, producen un plasmodio y ocasionan la enfermedad característica. El plasmodio se propaga en los tejidos del hospedero y finalmente produce esporas latentes invernantes. (Agrios, 1985)

Estos pseudo-hongos son parásitos obligados y aun cuando pueden sobrevivir en el suelo como esporas latentes durante muchos años, sólo pueden desarrollarse y reproducirse en un número limitado de hospederos. El plasmodio vive a expensas de las células del hospedero que ha invadido sin que las destruya. Por el contrario, en algunas enfermedades, muchas células adyacentes y las que han sido invadidas son estimuladas por el patógeno para que crezcan y se dividan, lo cual hace que este último disponga de una mayor cantidad de nutrientes. Los patógenos se propagan de planta a planta mediante zoosporas o mediante cualquier vector que lleve suelo o agua conteniendo esporas, mediante transplantes infectados, etc. (Agrios, 1997)

Los géneros *Polymyxa* y *Spongospora*, además de las enfermedades que producen transmiten diversos virus que atacan a diferentes especies; *Spongospora* es el vector del virus del enanismo de los tallos de la papa, mientras que *Polymyxa graminis* es el vector del virus del mosaico del trigo que habita en el suelo. (Agrios, 1985)

1.7 CICLO DE VIDA DEL PSEUDO-HONGO

Los plasmodioforomicetos son un moho mucilaginoso cuyo soma es un plasmodio. El plasmodio produce zoosporangios o esporas latentes. Cuando ambas estructuras reproductoras germinan, producen zoosporas. Las zoosporas producidas a partir de las esporas latentes penetran en los pelos radícula res del hospedero y ahí forman un plasmodio. A cabo de algunos días, el plasmodio se fragmenta en porciones multinucleadas y rodeadas por membranas individuales; cada una de las porciones forma un zoosporangio. Los zoosporangios salen del hospedero a través de poros que hay en su pared celular y cada uno de ellos libera de cuatro a ocho zoosporas secundarias. Algunas de estas zoosporas se fusionan en pares para formar cigotos que producen nuevas infecciones y un nuevo plasmodio. Por último el plasmodio produce de nuevo esporas latentes que son liberadas al suelo después de haberse producido la desintegración de las paredes celulares del hospedero por la acción de microorganismos secundarios. (Agrios, 1997).

1.8 METODOS DE INOCULACIÓN DE CONTROL DEL ENTORCHAMIENTO

El control de virus transmitidos por pseudo-hongos plasmodioforomicetos, como *P. Graminis,* ha sido intentado por varios métodos. Hasta la fecha, los tratamientos químicos no han resultado ser económicamente viables en condiciones de campo. Las principales estrategias en las mayorías de los países templados afectados por estos virus transmitidos por *Polymyxa* spp., han sido:

- Las practicas culturales donde se adelanta o atrasa la época de siembra para reducir la incidencia de la enfermedad y la rotación de cultivos.
- Es posible darle un manejo integrado al "Entorchamiento" del arroz, el primer paso seria la "exclusión" del patógeno en países o regiones donde no se ha presentado aún.
- Evitar la compra de semilla proveniente de regiones productoras de arroz afectadas por esta enfermedad.
- Cuando el pseudo-hongo vector y el VNRA se manifiestan en un lote determinado, lo mas indicado es tomar las medidas necesarias para no contaminar otros lotes vecinos. Por ejemplo, manejando el agua de riego o canales de drenaje, así como evitando el movimiento de personal e implementos agrícolas contaminados entre lotes afectados y libres de la enfermedad. Una vez cosechado el lote afectado se debe evitar la siembra de arroz antes de hacer una rotación con una especie no gramínea.
- Hacer un buen control de gramíneas silvestres antes de la siembra de arroz. (Morales *et al*., 1995B)

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 LOCALIZACION Y DURACION

El presente trabajo se realizó en los invernaderos y en el laboratorio del programa de Fitopatología de Arroz del Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT – ubicado en Palmira, Valle, Colombia a 30^0 30' al norte y 76^0 21'al este con una altura de 965 m.s.n.m.

El trabajo se realizó desde Junio de 2001 hasta Junio de 2002.

2.2 COMPARACION DE TRES METODOS DE INOCULACION

Para desarrollar este ensayo se usarán los siguientes genotipos de arroz: cinco variedades comerciales colombianas Oryzica 3, Fedearroz 2000, Coprosem 1, Oryzica Yacú 9 y Oryzica Caribe 8; dos variedades comerciales de origen africano: Irat 128 y Makalioka; dos líneas CT8220-2-15-7P-2X y P3082-F4-18; y la accesión de origen silvestre *Oryza glaberrima*, clasificadas como resistentes, intermedias y susceptibles (tabla 2).

Tabla 2. Reacción de Diferentes Genotipos de Arroz al Entorchamiento o VNRA

Variedad o Línea	Resistente	Intermedia	Susceptible
Oryzica 3			+
Fedearroz 2000			+
Coprosem 1		+	
Oryzica yacu 9		+	
Oryzica caribe 8		+	
Irat 128	+		
Makalioka	+		
Oryza glaberrima	+		
P 3082-F4-18			+
CT 8220-2-15-7p-2X		+	

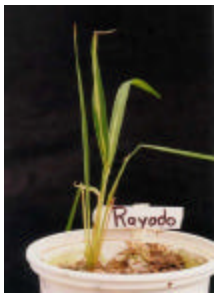
Fuente: CIAT, 2000.

En las tres metodologías para la inoculación del pseudo-hongo *Polymyxa graminis* se utiliza suelo seco proveniente de fincas arroceras con alta incidencia de entorchamiento en la zona de Jamundí (Valle).

El suelo se seca en los invernaderos de CIAT a temperatura ambiente y se muele en máquina para ser distribuido en materos de 8" de diámetro y 500 gr de capacidad. En cada matero se siembra 10 semillas de la variedad Oryzica 3, altamente susceptible (incidencia de entorchamiento mayor al 70%), para determinar el nivel de infestación del suelo. Una vez realizada la prueba las plantas se cortan al nivel del suelo, para mantenerlo altamente infestado con el pseudo-hongo, se deja secar hasta su próximo uso. Este suelo una vez seco se vuelve a moler, dejándolo de esta manera listo para la evaluación del germoplasma. Este proceso ayuda a aumentar la infestación del suelo con estructuras de *Polymyxa graminis*. Se utilizan materos sin agujeros, para evitar que al regar las plantas se laven las zoosporas y otras estructuras producidas por el pseudo-hongo. De esta manera, el suelo mantiene residuos de raíces infestadas por *Polymyxa graminis* que luego sirven como inóculo primario.

Las evaluaciones para las tres metodologías se incluyeron como fuentes de variación para los ensayos estadísticos y se iniciaron a los 20 días después de la siembra y se seguían realizando cada 7 días, según la escala visual descrita en la tabla 3.

Tabla 3. Síntomas del Virus de la Necrosis Rayada del Arroz

Entorchamiento	Deformación principalmente de las hojas, las cuales sufren un retraso en su desenvolvimiento y se desarrollan en forma de zig-zag o muy deformadas.	
Rayado clorótico	Es la aparición de rayas o bandas cloróticas en la base o lámina de las hojas usualmente a lo largo de la nervadura central.	
Enanismo	Crecimiento lento de la planta enferma	
Muerte		

2.2.1 METODO 1. Se siembran directamente 10 semillas de cada genotipo en cada matero que contenga el suelo infestado sometido al procedimiento descrito anteriormente.

Se fertiliza con sulfato de amonio a los 15 días después de la siembra y cada 15 días hasta terminar las evaluaciones.

Se evalúa según los parámetros y las fechas establecidas anteriormente.

2.2.2 METODO 2. Se ponen en contacto las semillas de los genotipos a evaluar con suelo humedecido y altamente infestado por el entorchamiento, con el propósito de lograr que partículas de suelo infestado se impregnen en la semilla y sirvan de inóculo.

Luego se procede a sembrar la semilla impregnada con suelo infestado en materos con arena estéril.

Se fertiliza con sulfato de amonio a los 15 días después de la siembra y cada 15 días hasta terminar las evaluaciones, aplicando simultáneamente solución nutritiva.

Se evalúa según los parámetros y las fechas establecidas anteriormente.

2.2.3 METODO 3. En bandejas tipo restaurante se siembran 10 semillas de cada genotipo en el suelo infestado sometido al procedimiento descrito inicialmente.

A los 10 días después de la siembra se arrancan las plántulas para causar heridas en las raicillas y permitir la penetración del pseudo-hongo *Polymyxa graminis*, luego se transplantan a materos que contengan suelo contaminado el cual ha pasado por el mismo procedimiento de secado y molido.

Se fertiliza con sulfato de amonio a los 15 días después de la siembra y cada 15 días hasta terminar las evaluaciones. Se evalúa según los parámetros y las fechas establecidas anteriormente.

Para todo el ensayo se realizaron 10 repeticiones, y se utilizó un diseño de parcelas divididas, siendo la parcela principal el método de inoculación y la subparcela los diferentes genotipos.

El esquema del análisis de varianza se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Análisis de Varianza para la Comparación de Tres Métodos de Inoculación del Pseudo-hongo *Polymyxa graminis*

Parcelas Divididas

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Repetición	9
Variedad	9
Método	2
Variedad x Método	18
Repetición x Variedad x Método	162
Evaluación	4
Variedad x Evaluación	36
Método x Evaluación	8
Variedad x Método x Evaluación	72
Total	320

2.3 EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA REACCION AL VNRA DE LINEAS DE ARROZ DE DIFERENTES GENERACIONES DEL RETROCRUZAMIENTO ENTRE *O. glaberrima* Y *O. sativa* (VARIEDAD BG90-2)

2.3.1 Genotipos: En Este ensayo se evaluaron 1194 genotipos distribuidos así: 973 líneas F_5 del segundo retrocruzamiento, 203 líneas F_4 del tercer retrocruzamiento, 15 líneas F_5 del tercer retrocruzamiento entre la variedad BG90-2 con una accesión de *Oryza glaberrima*. Se incluyeron como testigos: BG90-2, *Oryza glaberrima* y Oryzica 3 como testigo susceptible

2.3.2 Metodología: Todas las líneas se siembran de acuerdo con el método 1 que fue el de los mejores resultados en el ensayo realizado previamente (ver resultados Pág. 28).

Se utilizó suelo recolectado tanto en fincas de Jamundí como del Tolima, sembrando 10 plantas de cada genotipo por cada matero por cada suelo. Una vez realizado este procedimiento se estudió la incidencia de la enfermedad, realizando tres evaluaciones; la primera se hizo a los 21 días después de la siembra, tiempo que tarda en manifestarse la enfermedad; la segunda a los 36 días y la tercera a los 51 días; teniendo en cuenta los mismos caracteres del ensayo de metodologías (Entorchado, Rayado, Enanismo y Mortalidad) y fertilizando a los 15 días después de la siembra y cada 15 días hasta terminar las evaluaciones.

Se analiza la información de tres siembras para decidir cuales genotipos son tolerantes o resistentes y para continuar el proceso de evaluación.

2.4 COMPROBACIÓN DE LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD EN GENOTIPOS SELECCIONADOS

2.4.1 Genotipos: Se seleccionaron las 16 líneas más resistentes del estudio preliminar, 10 susceptibles que presentaron una incidencia entre 10-100% de entorchamiento, el progenitor resistente *O. glaberrima,* el progenitor susceptible BG90-2, el control comercial de reacción intermedia Coprosem 1 y la variedad susceptible Oryzica 3.

2.4.2 Metodología: De cada genotipo se sembraron 10 plantas por matero que contenía suelo infestado de la zona de Jamundí y se fertilizó con sulfato de amonio a los 15 días después de la siembra y cada 15 días hasta la última evaluación.

Las plantas se evaluaron teniendo en cuenta la aparición de entorchamiento, rayado, enanismo, mortalidad y plantas sanas que de acuerdo con el ensayo preliminar debe hacerse a los 23, 37 y 51 días después de la siembra.

Estos 30 genotipos se distribuyeron en el invernadero de acuerdo con un diseño de Bloques Completos al Azar con estructura factorial, con cuatro repeticiones. El análisis de varianza para este ensayo de comprobación se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis de Varianza para la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad al VNRA de Genotipos de Arroz Seleccionados

Bloques Completos al Azar con Estructura Factorial

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Bloque	3
Genotipo	29
Error	87
Total	119

2.5 ENSAYO DE RESISTENCIA AL VECTOR

Para este ensayo se seleccionaron las 5 líneas más resistentes del ensayo anterior, los progenitores *O. glaberrima* y BG90-2; y el testigo susceptible Oryzica 3. Se sembraron 10 semillas de cada uno de los genotipos en materos que contenían una mezcla de arena y suelo infestado, esto para que las plantas al ser colectadas no perdieran sus raíces.

Cada 10 días después de la siembra se tomaron 100 raíces de cada genotipo y se lavaron para realizar las observaciones bajo el microscopio y determinar la reacción de cada genotipo al pseudo-hongo *Polymyxa graminis*. Esta prueba permite conocer si la resistencia seleccionada es contra el virus o contra el pseudo-hongo vector.

El conteo de cistosoros se realizó a los 10, 20, 30, 40, y 50 días después de la siembra.

Los 8 genotipos se distribuyeron en materos de acuerdo con un diseño de bloques completos al azar, con dos repeticiones (tabla 6).

Tabla 6. Análisis de Varianza para el Ensayo de Resistencia al Vector del Pseudo -hongo *Polymyxa graminis*

Bloques Completos al Azar

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Repetición	1
genotipo	7
Repetición (genotipo)	7
Total	15

2.6 ENSAYO DE CONTROL QUÍMICO

En este ensayo se trabajó con el fungicida HIMEXAZOL evaluándose en tratamientos a la semilla y al suelo en concentraciones de 0X, 1X, 5X, 10X Y 50X del ingrediente activo recomendado (tabla 7).

Tabla 7. Concentraciones de HIMEXAZOL para tratamiento a la semilla y al suelo

Concentración	Tratamiento a la semilla	Tratamiento al suelo*
0X	0ml TACH+10ml H20/100gr semilla	0ml Tach + 200 ml H20
1X	0.1 ml TACH + 9.9 ml H2O/100 gr semilla	1ml Tach + 199 ml H20
5X	0.5 ml TACH + 9.5 ml H2O/100gr semilla	5ml Tach + 195 ml H20
10X	1.0 ml TACH + 9.0 ml H2O/100gr semilla	10ml Tach + 190 ml H20
50X	5 ml TACH + 5.0 ml H2O/100gr semilla	50ml Tach + 150 ml H20

*Para el tratamiento al suelo se aplica 30ml de cada concentración por matero

Se sembraron 10 plantas por matero, de cada uno de los cuatro genotipos de arroz (BG90-2, Caiapó, Oryzica 3 y Fedearroz 50) y se hicieron cinco repeticiones distribuidos en el invernadero de acuerdo con un diseño de bloques completos al azar. Se utilizó como fuente de inóculo el suelo del ensayo de comprobación de la resistencia y susceptibilidad de genotipos. Cada matero contenía 500 gr de suelo infestado.

Se evaluó entorchamiento, rayado, enanismo, mortalidad y plantas sanas a los 21, 35 y 48 días después de la siembra. El análisis de varianza para este ensayo se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Análisis de Varianza para el Ensayo de Control Químico con el Funguicida HIMEXAZOL Aplicado a la Semilla y al Suelo en Dosis de 0X, 1X, 5X, 10X Y 50X

Bloques completos al Azar

FV	GL
Repetición	4
Tratamiento	9
Genotipo	3
Tratamiento x Genotipo	27
Repetición x (Tratamiento x Genotipo)	160
D.D.S	2
Tratamiento x D.D.S	18
Genotipo x D.D.S	6
Tratamiento x Genotipo x D.D.S	54
Repetición x D.D.S (Tratamiento x Genotipo)	320
Total	603

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 COMPARACION DE TRES METODOS DE INOCULACION

Los datos se analizaron con base en la metodología uno (siembra directa), y la metodología tres (transplante), ya que en la metodología dos (semilla infectada sembrada en arena estéril) las plantas morían antes de manifestar los síntomas de la enfermedad.

Según la tabla 9, se puede observar que para todos los síntomas y en todas las épocas de evaluación hay diferencias significativas entre las variedades.

Hubo también diferencias estadísticas entre los métodos al considerar todos los síntomas, para entorchamiento no hubo diferencias entre los métodos en las dos primeras y en la ultima evaluación, para rayado no se establecieron diferencias en la evaluación de los 27 días. Para la medición de la mortalidad de plantas, no hubo diferencias entre los métodos a los 48 días.

El síntoma de entorchamiento en los primeros 27 días es de baja expresión en las variedades estudiadas como se observa en la tabla 10 con excepción de la variedad susceptible Oryzica 3, en la cual hubo una alta manifestación del síntoma desde los 21 días. A los 48 días la expresión del síntoma disminuyo en las variedades mas susceptibles como Oryzica 3, Fedearroz 2000 y Oryzica Yacú 9 (Tabla 10, graficas 11,12,14). Al parecer este síntoma es difícil de observar en plantas adultas, por tal motivo no hubo diferencias entre los métodos para estas evaluaciones.

La mortalidad de plantas alcanzan los mayores valores a los 48 días en todas las variedades, con excepción de la accesión resistente *Oryza glaberrima* (Tabla 13) en este caso no se detectan diferencias entre los métodos.

La interacción variedad x método fue significativa especialmente para los síntomas de enanismo y mortalidad; para entorchamiento la interacción fue significativa solamente a los 27 y 34 días y para rayado no fue significativa a los 48 días, esto indica que hay algunas variedades en las que el síntoma se expresa mejor utilizando un método determinado y en una época determinada de evaluación. Para el caso de entorchamiento en la Tabla 10 se observa que las variedades Irat 128 y Makalioka presentan los porcentajes mas altos con el método 3, mientras que las otras variedades, excepto *O. glaberrima* que no manifiesta el síntoma y Oryzica Yacú 9 que tiene valores iguales con los dos métodos, presentan valores mas altos con el método 1. Para el síntoma rayado la variedad Irat 128, presenta valores mas altos con el método 3 (Tabla 11), en tanto que las demás variedades lo manifiestan con el método 1, la variedad Oryzica Yacú 9 presenta mayores valores con el método 3 en las evaluaciones realizadas a los 20 y 27 días, pero en las siguientes evaluaciones el método 1 presenta mayores porcentajes. Para el síntoma de enanismo la variedad Oryzica 3 presenta valores mas altos en el método 1 en todas las evaluaciones (Tabla 12), mientras que *Oryza glaberrima* los presenta con el método 3 en todas las evaluaciones, al igual que Irat 128 y Makalioka. Esto indica que dependiendo del síntoma que se esté evaluando y de la época de evaluación hay variación en la tendencia de expresión del síntoma. En la misma tabla 12 se puede ver que todas las variedades, con excepción de *Oryza glaberrima*, Makalioka e Irat 128 presentan un mayor porcentaje de enanismo a los 20 y 27 días con el método 3 y a los

34, 41 y 48 días la situación es contraria, es decir el síntoma se expresa mejor con el método 1.

Para el síntoma de mortalidad de plantas y especialmente en la evaluación de los 48 días (Tabla 13) la línea CT 8220 –2-15 y las variedades Makalioka, Oryzica Caribe 8 y Oryzica Yacú 9 presentan valores mas altos en el método 1, mientras que en las otras variedades los valores son mas altos con el método 3. *Oryza glaberrima* no presenta mortalidad.

Al tener en cuenta los cuatro síntomas, entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad, se puede considerar que el método de siembra directa, presenta los valores mas altos con las excepciones ya analizadas (Graficas 1,2,3 y 4), sin embargo, hay que considerar que el rayado y el enanismo, son los únicos síntomas que se expresan en la accesión resistente *O. glaberrima* y es el enanismo el de mayor expresión con valores que van desde el 10.4% para la evaluación de los 20 días, hasta 17.1% a los 48 días con el método 3, para el rayado los valores son bajos, pero a los 34 días presentan un 2.3% con el método 1. En la grafica 4 se observan valores mayores para mortalidad con el método de transplante, pero al analizar la tabla 13 dichos porcentajes son muy bajos comparados con el resto de síntomas.

Tabla 9. Resumen ANOVA de Métodos de Evaluación para VNRA

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Entorchamiento					Rayado					Enanismo					Mortalidad				
		D.D.S					D.D.S					D.D.S					D.D.S				
		20	27	34	41	48	20	27	34	41	48	20	27	34	41	48	20	27	34	41	48
Repetición	9	NS	NS	**	**	**	**	NS	NS	NS	**	NS	NS	**	**	**	**	NS	NS	NS	NS
Variedad	9	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Método	1	NS	NS	**	**	NS	**	NS	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	NS
Variedad x Método	9	NS	**	**	NS	NS	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**	**	**	**	NS	**

** Significativa, NS No Significativa
D.D.S: Días Después de Siembra.

De acuerdo con las tablas 10, 11, 12 y 13 de promedios de los porcentajes se analizaron los síntomas de la siguiente manera:

3.1.1 Entorchamiento: Como se muestra en la tabla 10, en las cinco evaluaciones se presentó la tendencia a una mayor expresión de este síntoma con el método 1 (siembra directa).

En general, el síntoma tiene muy poca expresión en los primeros 27 días . a partir de los 34 días, se comienza a observar la diferencia en el comportamiento de los diferentes genotipos evaluados y hay una mayor expresión a los 41 días (Grafica 6 -14). A los 48 días el síntoma se manifiesta ligeramente en las variedades Coprosem 1, Oryzica Caribe 8, Irat 128, y Oryzica Yacú 9 (Graficas 8-11) o tiende a decrecer como en la línea P3082- F4-18 y en las variedades Fedearroz 2000 y Oryzica 3, aunque en esta variedad, para el método de siembra directa, el síntoma decrece mas claramente a partir de los 34 días. Esta variedad es un buen testigo susceptible para este síntoma.

La accesión de *Oryza glaberrima* no presenta entorchamiento en ninguna de las evaluaciones (Grafica 5). La variedad Makalioka presenta porcentajes muy bajos, y solamente a los 41 días llega a 3.4 y 5% para el método 1 y el método 3 respectivamente (Grafica 6). La línea CT 8220-2-15 (Grafica 7), presenta porcentajes bajos de 5.3 a 9.3% y estables a partir de los 34 días.

Al parecer evaluaciones hechas a los 34 y a los 41 días son suficientes para separar los genotipos en los rangos de resistentes a susceptibles.

Tabla 10. Promedios del Porcentaje de Incidencia del Síntoma Entorchamiento en diez genotipos de arroz, para dos métodos de Inoculación y cinco evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B.

Variedad	EVAL 1		EVAL 2		EVAL 3		EVAL 4		EVAL 5	
	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3
CT 8220-2-15	2.3	1.1	3.7	1.1	7.9	5.3	8.5	7.6	5.6	9.3
Coprosem 1	1.0	0.8	1.0	3.3	6.6	5.9	21.6	11.9	23.3	18.0
Fedearroz 2000	2.0	2.6	6.7	6.7	17.0	11.8	33.4	26.6	28.9	32.5
Irat 128	0.7	0.0	0.7	2.2	8.1	21.6	19.2	30.9	27.9	35.4
Makalioka	0.6	0.0	1.4	0.0	1.4	2.7	3.4	5.0	1.5	0.8
Oryzica 3	28.0	16.3	43.3	19.7	62.1	23.1	46.7	31.0	39.8	24.3
Oryzica Caribe 8	1.5	1.0	2.7	2.7	7.9	6.1	19.0	11.2	33.1	14.6
Oryza glaberrima	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Oryzica Yacú 9	0.0	2.5	1.5	9.0	15.5	15.4	32.2	28.7	34.5	36.9
P3082F4-18	2.5	1.7	6.3	1.7	23.2	9.9	36.2	21.6	35.2	25.8

Met. 1: Siembra Directa, Met.: 3 Transplante
Eval 1: 20 D.D.S, Eval 2: 27 D.D.S, Eval 3: 34 D.D.S, Eval 4: 41 D.D.S, Eval 5: 48 D.D.S

3.1.2 Rayado: Como se observa en la tabla 11, en esta variable en la evaluación 1 el promedio fue mayor para la metodología 1 en todas las variedades excepto para la especie *Oryza glaberrima* la cual no presentó síntomas en ninguno de los métodos. La variable continuo con la misma tendencia de crecimiento durante el resto de evaluaciones, pero siempre se manifestó mas en el método 1 que en el método 3 (Gráfica 2).

Oryza glaberrima se comportó de una manera muy similar con los dos métodos (Gráfica 15), la línea CT 8220-2-15 y la variedad Makalioka presentaron mayores índices de rayado en la siembra directa, sin embargo en los días 27 y 41 respectivamente se comportaron de igual manera en los dos métodos (Gráficas 16, 17), el índice de rayado para la variedad Coprosem 1 fue muy parecido en los dos métodos hasta el día 34, a partir del cual la manifestación del síntoma fue mayor por medio de la siembra directa (Gráfica 18), en la variedad Irat 128 el síntoma se manifestó mejor con el método de transplante hasta el día 48, donde se presentó un índice mayor en la siembra directa (Gráfica 20), la variedad Oryzica yacú 9 en las dos primeras evaluaciones no presentó diferencias significativas para la manifestación del síntoma; sin embargo a partir de la tercera evaluación el síntoma se manifiesta mejor en el método de siembra directa (Gráfica 21).

La variedades Fedearroz 2000, Oryzica 3, Oryzica Caribe 8 y la línea P3082-F4-18 presentaron mayores porcentajes del síntoma con la siembra directa que con el transplante durante todo el ensayo (Gráficas 22, 23).

Tabla 11. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma Rayado en 10 genotipos para dos Métodos de Inoculación y cinco Evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B.

Variedad	EVAL 1		EVAL 2		EVAL 3		EVAL 4		EVAL 5	
	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3
CT 8220-2-15	22.0	13.87	28.1	27.5	34.4	28.6	28.1	20.2	21.0	13.7
Coprosem 1	5.3	4.2	7.8	10.2	12.3	15.5	22.5	13.7	36.9	28.1
Fedearroz 2000	11.1	10.7	23.9	21.0	38.4	23.5	55.0	31.9	69.5	42.6
Irat 128	10.7	18.9	14.2	35.9	20.1	41.5	22.9	38.6	47.9	37.7
Makalioka	25.9	7.9	36.6	19.1	37.9	21.6	18.5	18.0	11.0	11.1
Oryzica 3	52.6	19.5	66.7	37.0	81.6	43.3	74.3	43.7	71.8	46.3
Oryzica Caribe 8	15.5	7.1	21.9	20.6	34.3	23.9	31.1	20.4	32.6	17.1
Oryza glaberrima	0.0	0.0	0.0	0.8	2.3	0.0	0.8	0.0	4.0	0.0
Oryzica Yacú 9	20.6	23.3	31.6	33.2	44.9	40.5	48.3	37.8	66.9	49.6
P3082F4-18	29.0	11.4	37.0	28.3	43.7	30.1	42.0	20.3	56.6	29.7

Met. 1: Siembra Directa, Met.: 3 Transplante
Eval 1: 20 D.D.S, Eval 2: 27 D.D.S, Eval 3: 34 D.D.S, Eval 4: 41 D.D.S, Eval 5: 48 D.D.S

3.1.3 Enanismo: Todas las variedades excepto Oryzica 3 presentaron inicialmente un índice de enanismo menor en el método 1 que en el método 3, como se observa en la tabla 12, esto pudo deberse a que en el método 3 (transplante) las plantas se sometían a un nivel de estrés el cual no permitía su rápido crecimiento. Sin embargo, a partir de la tercera evaluación esta tendencia empieza a cambiar y variedades como Fedearroz 2000, Oryzica 3, Oryzica caribe 8 , Oryzica Yacú 9 y las líneas CT-8220-2-15 y P3082 F4-18, presentaron un mayor índice de enanismo en el método 1 (siembra directa) que en el método tres (transplante); se debe tener en cuenta que esta evaluación se realizó 48 días después de la siembra, tiempo en el cual el síntoma se podía evaluar claramente (Grafica 25-34).

En la cuarta y quinta evaluación solo Irat 128, Makalioka y *Oryza glaberrima* presentaron mayores promedios en la metodología tres que en la primera (Gráfica 3).

Tabla 12. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma de Enanismo en diez genotipos de arroz para dos Métodos de Inoculación y cinco evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B.

Variedad	EVAL 1		EVAL 2		EVAL 3		EVAL 4		EVAL 5	
	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3
CT 8220-2-15	17.9	28.3	29.3	33.4	62.0	35.7	48.4	35.8	25.0	23.6
Coprosem 1	6.9	21.8	12.4	26.9	30.6	31.9	43.3	32.7	55.8	32.6
Fedearroz 2000	8.2	20.3	16.5	22.8	62.1	36.0	71.5	38.5	79.8	36.0
Irat 128	2.1	20.9	7.4	27.0	20.3	38.1	33.0	42.3	46.3	41.0
Makalioka	8.9	21.5	16.3	29.0	34.8	37.0	28.9	33.0	22.4	26.3
Oryzica 3	51.1	25.0	74.7	34.7	97.8	45.3	97.5	52.7	90.6	50.8
Oryzica Caribe 8	15.9	27.1	28.5	32.2	55.4	36.4	59.8	36.5	58.4	34.0
Oryza glaberrima	0.0	10.4	0.7	13.8	1.5	15.5	1.5	15.5	1.5	17.1
Oryzica Yacú 9	5.4	22.5	10.1	32.4	34.9	34.9	48.6	45.1	61.1	46.8
P3082F4-18	6.6	36.9	19.0	42.9	62.7	45.4	67.5	47.7	69.5	35.1

Met. 1: Siembra Directa, Met.: 3 Transplante
Eval 1: 20 D.D.S, Eval 2: 27 D.D.S, Eval 3: 34 D.D.S, Eval 4: 41 D.D.S, Eval 5: 48 D.D.S

3.1.4 Mortalidad: Los índices de mortalidad fueron muy bajos hasta los 48 días para todas las variedades (Tabla 13), sin embargo siempre se marcó un mayor promedio de esta variable en el método 3. De acuerdo con las observaciones realizadas en invernadero las plantas se morían más por el estrés al que eran sometidas al momento del transplante que por la enfermedad en sí y esto se puede demostrar al observar que los promedios de mortalidad aumentaron considerablemente a partir de los 48 días en el método 1 (siembra directa), pero siempre manteniendo un promedio menor al método 3 (transplante).

Todas las variedades manifestaron porcentajes muy bajos del síntoma para los dos métodos excepto la accesión *Oryza glaberrima* que no manifestó el síntoma durante el ensayo en ninguno de los dos métodos (Gráfica 35) la variedad Makalioka y la línea CT8220-2-15 cuyo índice de mortalidad fue ascendente a través del tiempo con los dos métodos, pero hasta la cuarta evaluación los índices de mortalidad fueron mas altos con el método de transplante; en la quinta evaluación el índice de mortalidad fue mas alto en la siembra directa (Gráfica 36 -44).

En general la accesión de *Oryza glaberrima* utilizada como testigo por su resistencia a la enfermedad no mostró síntomas de entorchamiento ni de mortalidad, sin embargo presentó bajos promedios de rayado con el método de siembra directa y promedios mas altos de enanismo con el método de transplante.

Los síntomas se manifiestan mejor a medida que se hacen las evaluaciones en plantas adultas, y en la cuarta evaluación a los 41 días cuando se alcanzan los valores mas altos pues ya en la quinta evaluación, a los 48 días los porcentajes de los síntomas tienden a disminuir o se estabilizan.

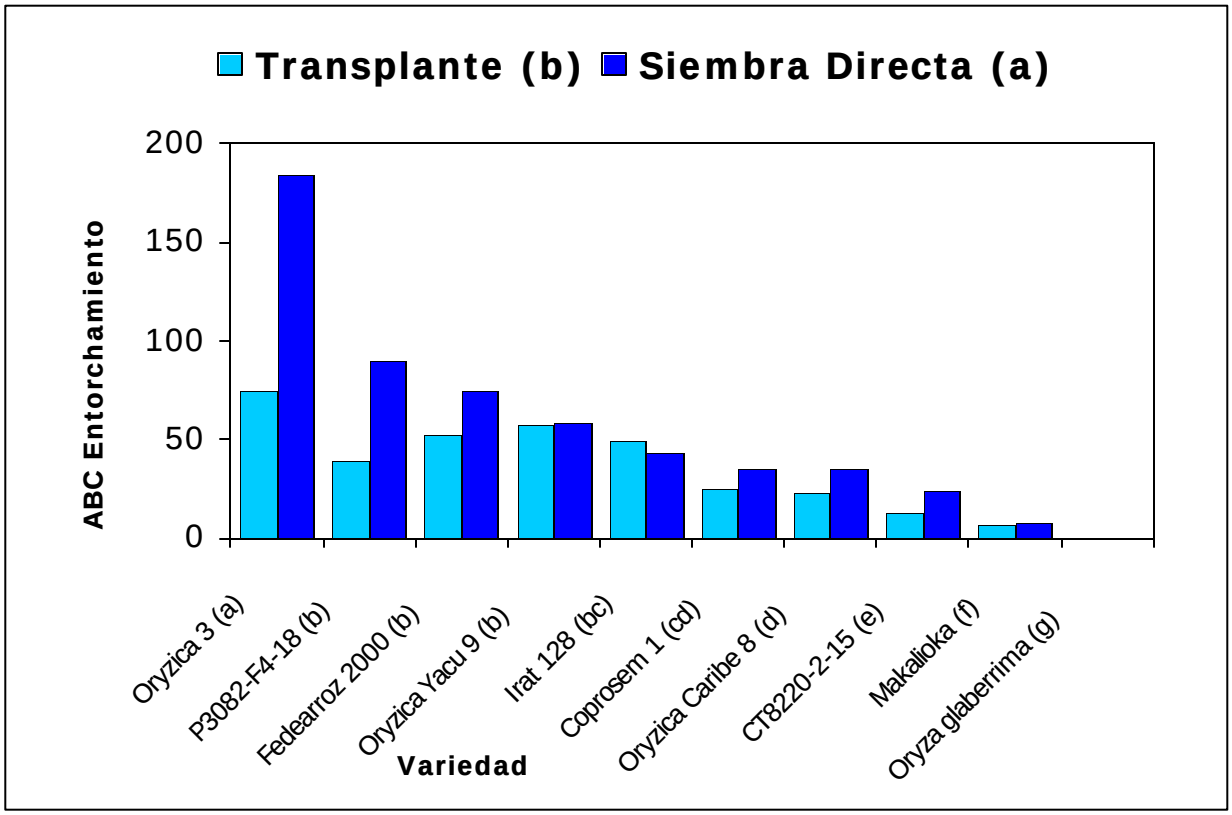
Oryzica 3 es la variedad más susceptible de las evaluadas y presentó los promedios más altos para todos los síntomas con la metodología 1, excepto para el síntoma de mortalidad (Gráfica 4).

Con base en los resultados descritos anteriormente, se llegó a la conclusión que en el método de siembra directa hay una mayor manifestación de los síntomas, entorchamiento, rayado y enanismo los cuales son de gran importancia al hacer selección por resistencia al VNRA, además es un método rápido para su utilización con grandes poblaciones.

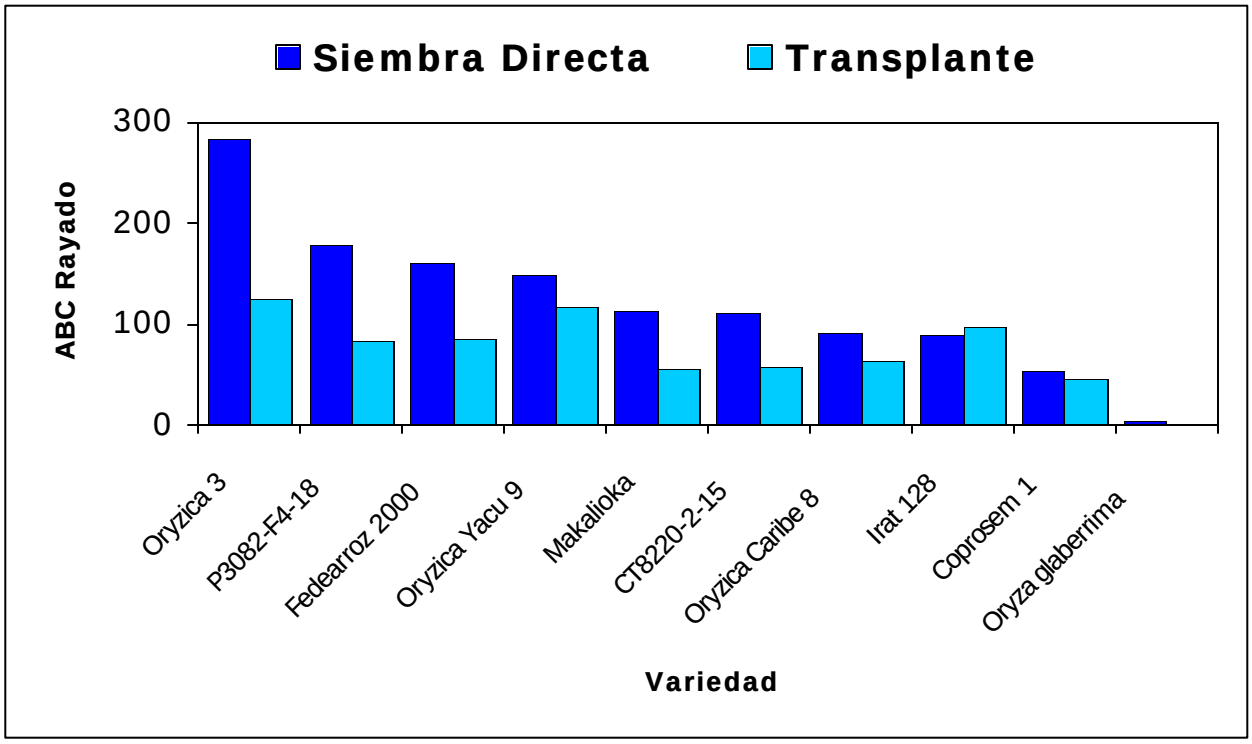
Tabla 13. Promedios del Porcentaje de Incidencia del síntoma Mortalidad en diez genotipos de arroz para dos Métodos de Inoculación y cinco evaluaciones de los síntomas. Palmira 2001 B.

Variedad	EVAL 1		EVAL 2		EVAL 3		EVAL 4		EVAL 5	
	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3	MET 1	MET 3
CT 8220-2-15	2.1	10.8	3.4	18.7	7.7	25.1	23.2	32.4	53.0	44.4
Coprosem 1	0.0	1.8	0.0	1.8	0.8	3.5	0.8	6.0	6.0	6.9
Fedearroz 2000	0.0	0.8	1.4	1.7	2.1	5.0	4.8	6.7	4.8	10.1
Irat 128	0.0	1.0	0.0	2.1	1.3	3.4	1.3	6.4	8.6	9.6
Makalioka	0.8	9.0	0.8	14.0	5.8	20.8	18.2	27.6	42.6	34.5
Oryzica 3	0.7	7.1	0.7	12.6	1.5	17.9	6.8	19.8	13.1	28.6
Oryzica Caribe 8	0.0	1.8	1.9	6.0	2.9	9.3	12.3	11.0	22.1	15.2
Oryza glaberrima	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Oryzica Yacú 9	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0	2.5	0.7	2.5	7.4	5.8
P3082F4-18	0.0	1.6	0.7	3.3	0.7	9.1	2.0	13.2	6.6	22.5

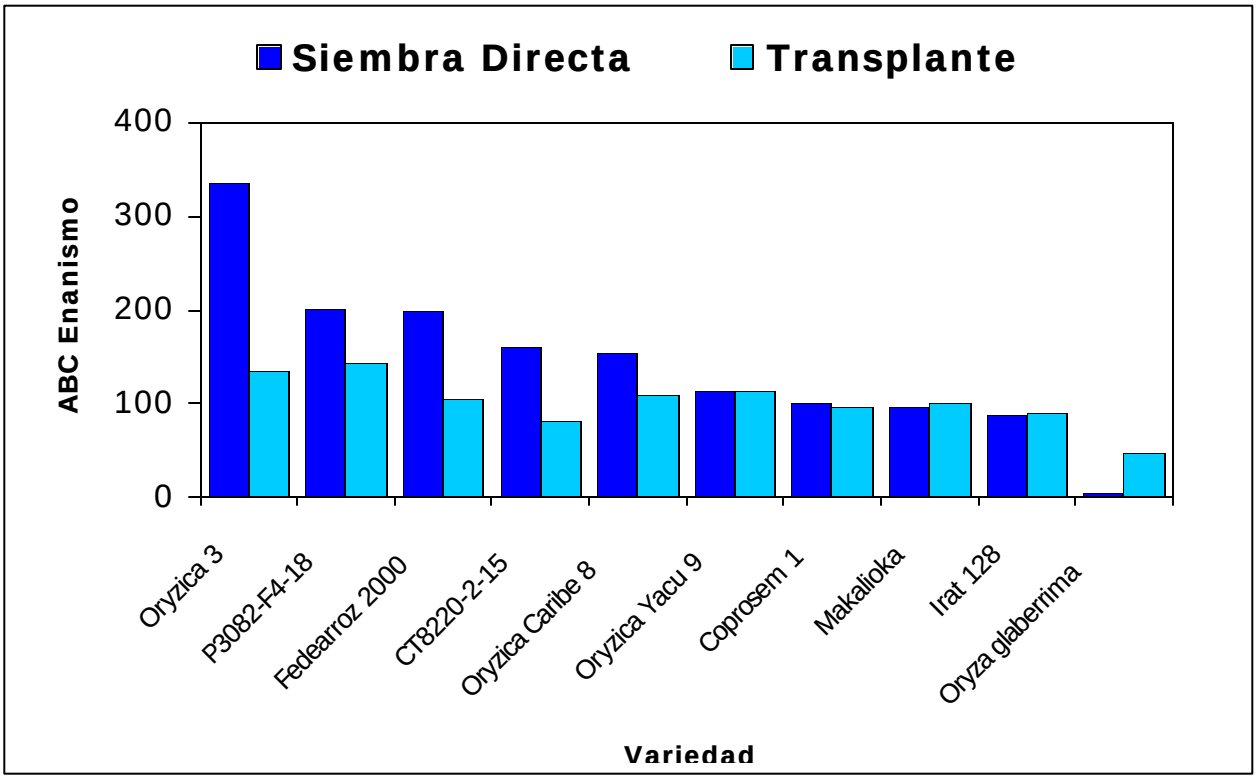
Met. 1: Siembra Directa, Met.: 3 Transplante
Eval 1: 20 D.D.S, Eval 2: 27 D.D.S, Eval 3: 34 D.D.S, Eval 4: 41 D.D.S, Eval 5: 48 D.D.S



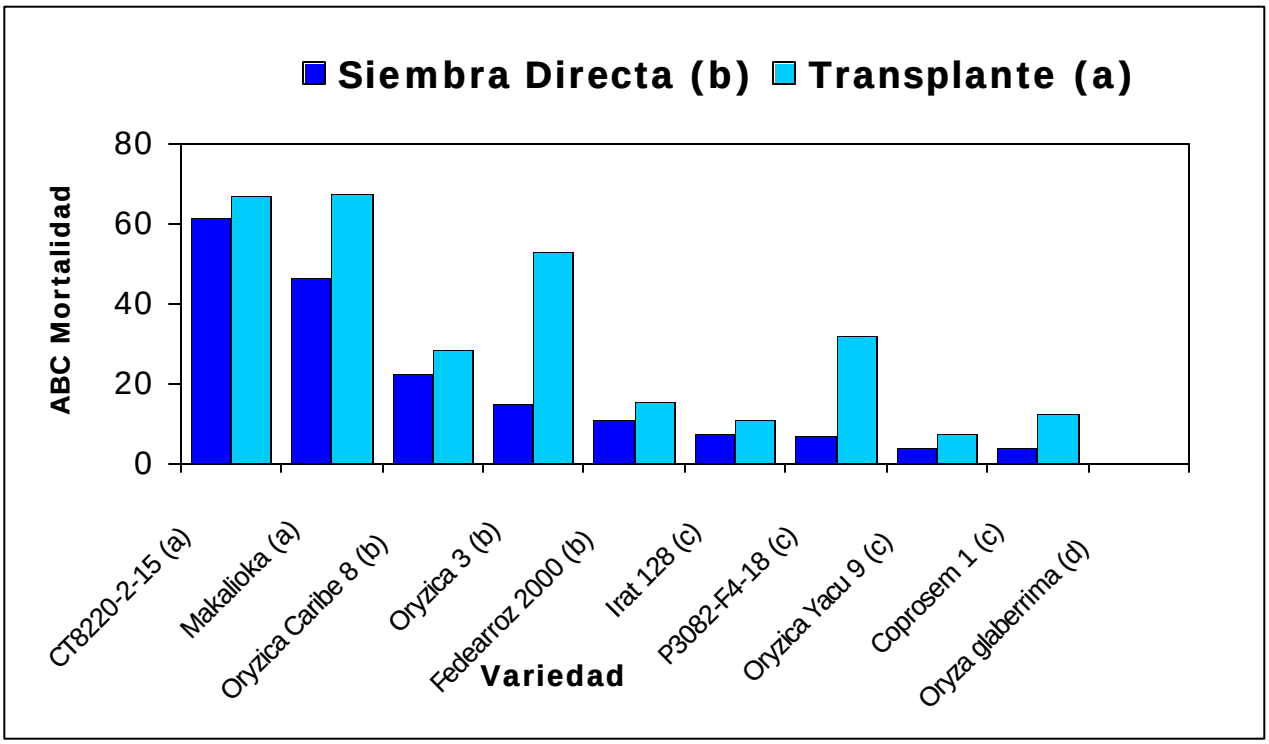
Gráfica 1. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Entorchamiento en 10 Variedades de Arroz en Colombia



Gráfica 2. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Rayado en 10 Variedades de Arroz en Colombia

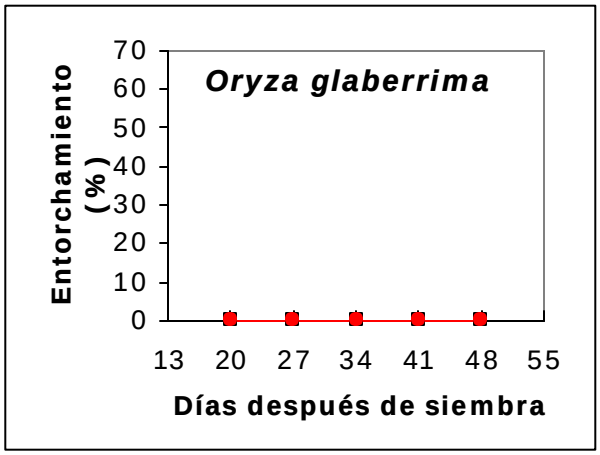


Gráfica 3. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Enanismo en 10 Variedades de Arroz en Colombia

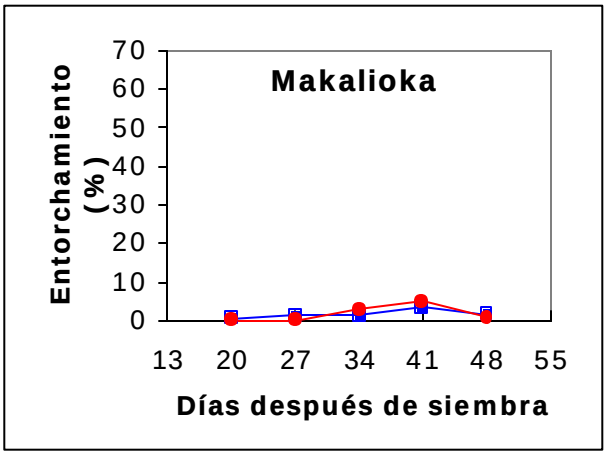


Gráfica 4. Área Bajo la Curva para el Síntoma de Mortalidad en 10 Variedades de Arroz en Colombia

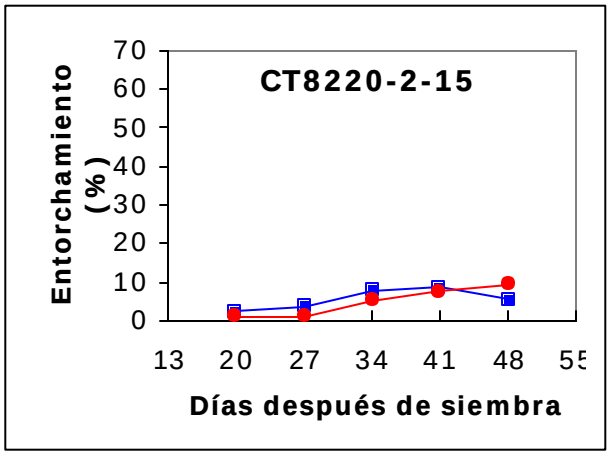
Grafica 5-14. Comparación de Métodos de Inoculación de *Polymyxa graminis* en Diez Variedades de Arroz para el Síntoma de Entorchamiento



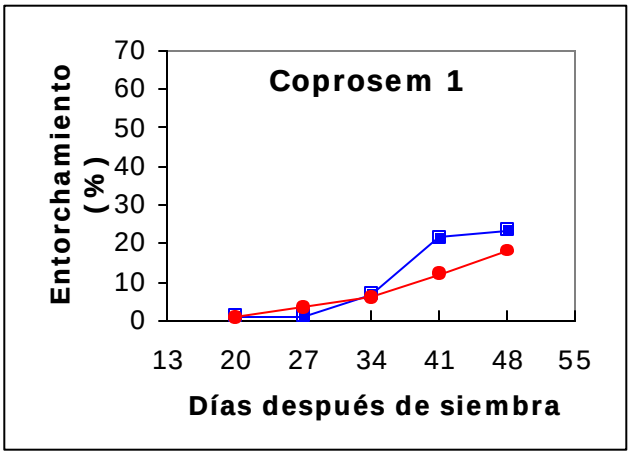
Gráfica 5.*O. glaberrima*



Gráfica 6. Makalioka

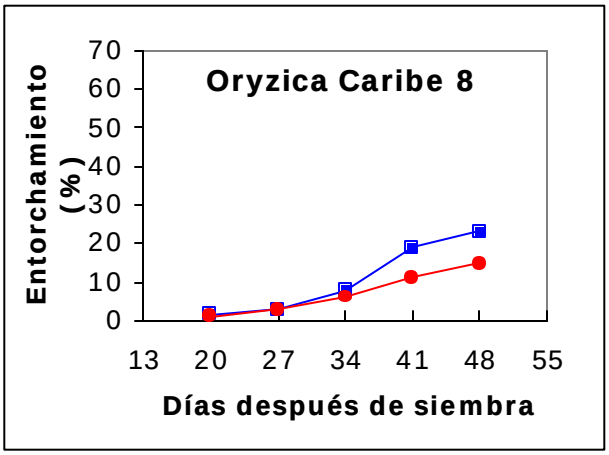


Gráfica 7. CT8220-2-15

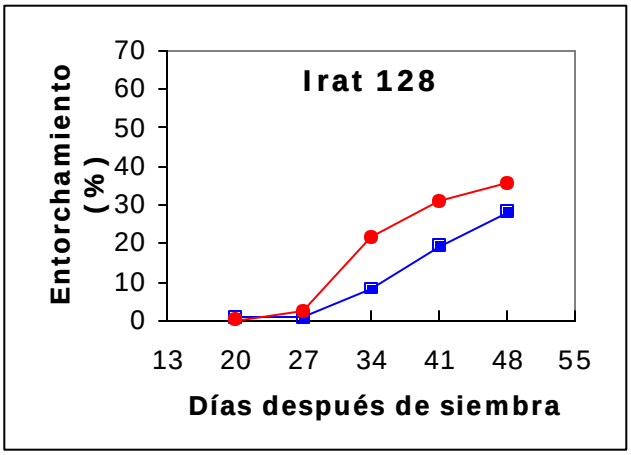


Gráfica 8. Coprosem 1

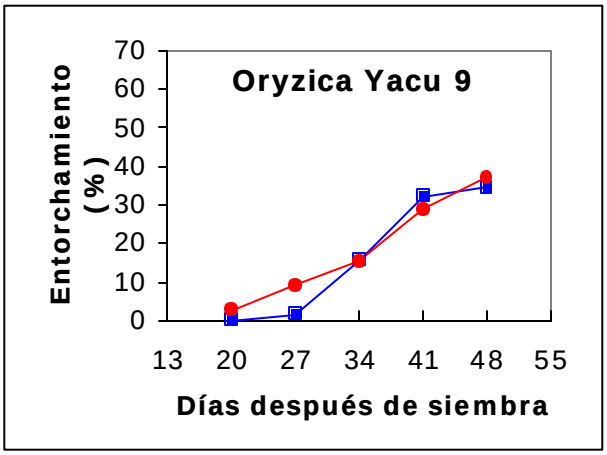
Siembra Directa **Transplante**



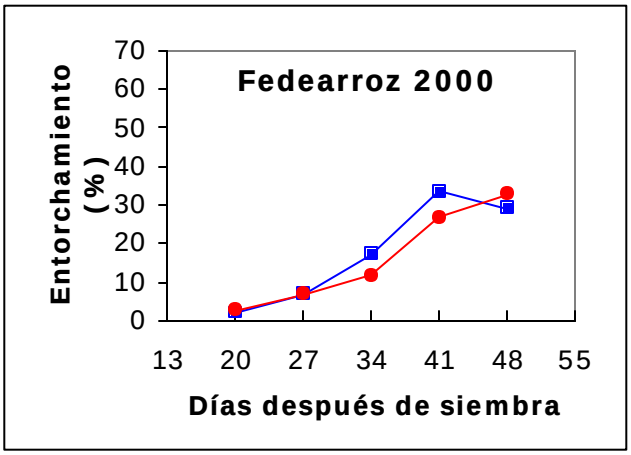
Gráfica 9. Oryzica Caribe 8



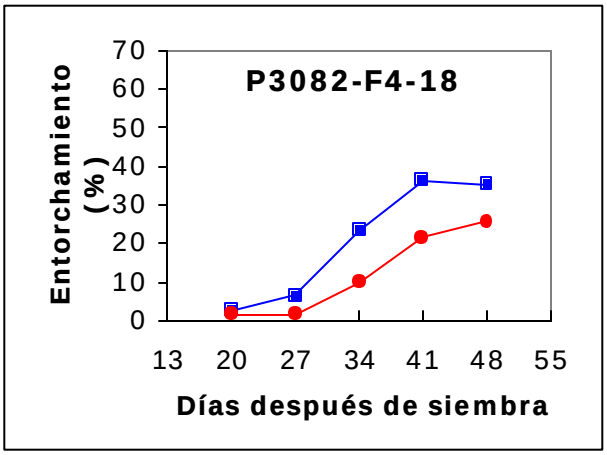
Gráfica 10. Irat 128



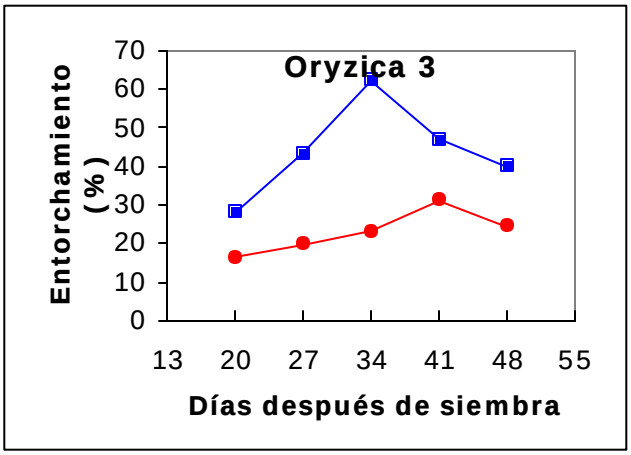
Gráfica 11. Oryzica Yacu 9



Gráfica 12. Fedearroz 2000



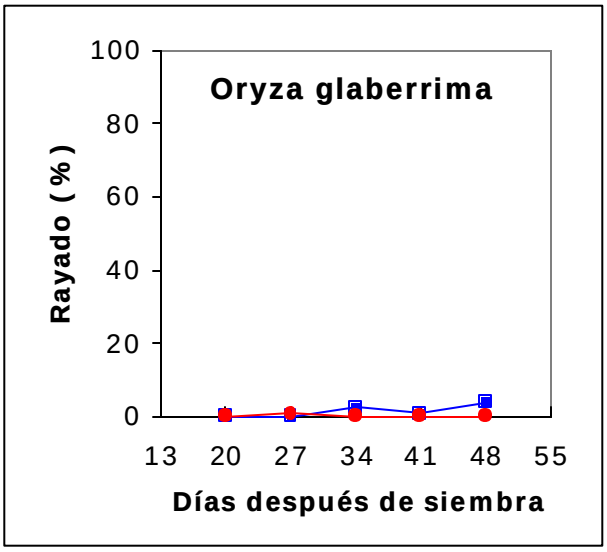
Gráfica 13. P3082-F4-18



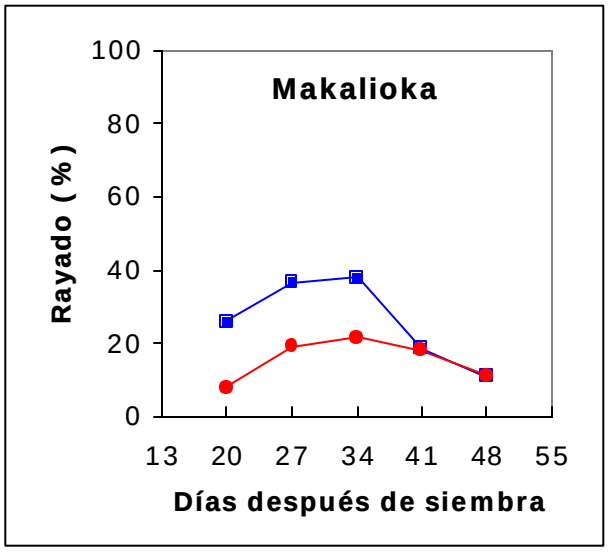
Gráfica 14. Oryzica 3

Siembra Directa Transplante

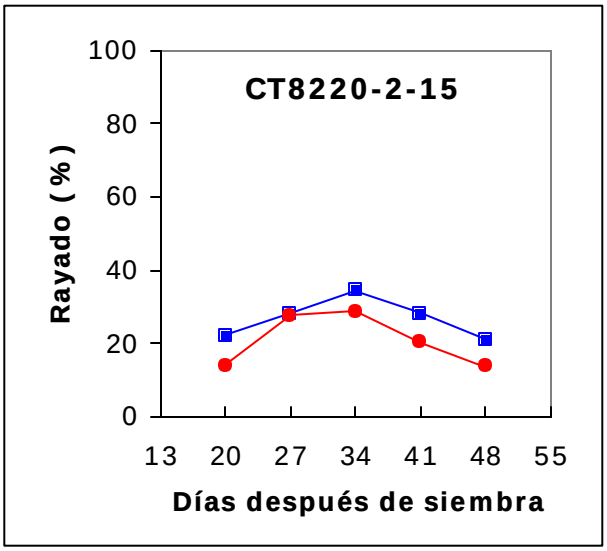
Grafica 15-24. Comparación de Métodos de Inoculación de *Polymyxa graminis* en 10 Variedades de Arroz para el Síntoma de Rayado



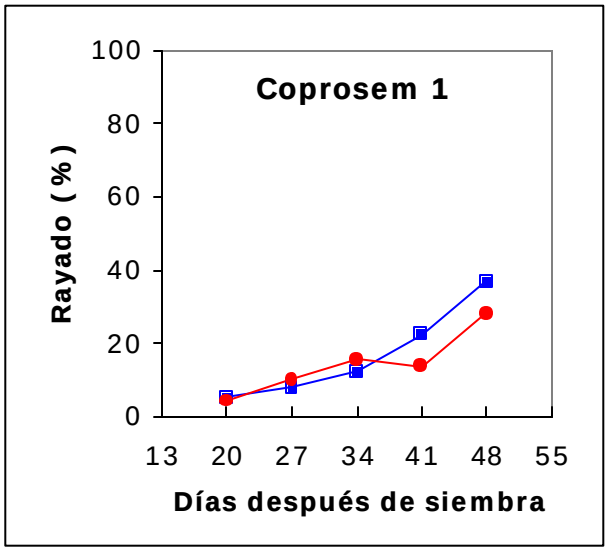
Gráfica 15. ***O. glaberrima***



Gráfica 16. Makalioka

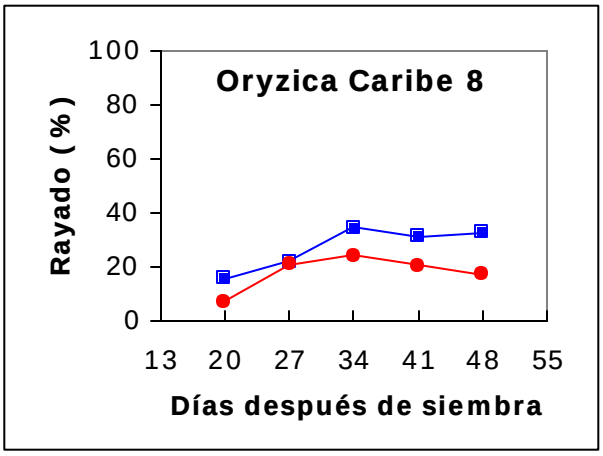


Gráfica 17. CT8220-2-15

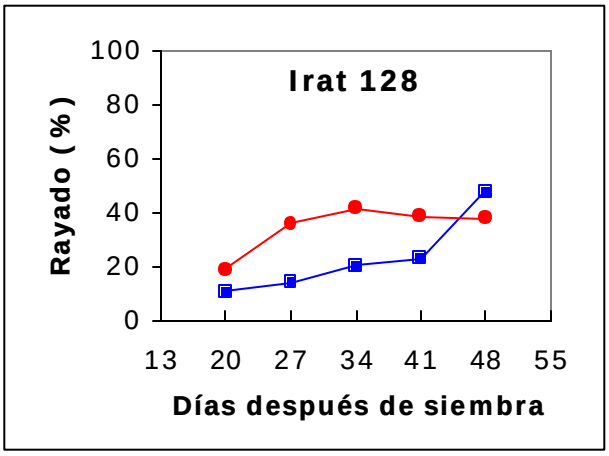


Gráfica 18. Coprosem 1

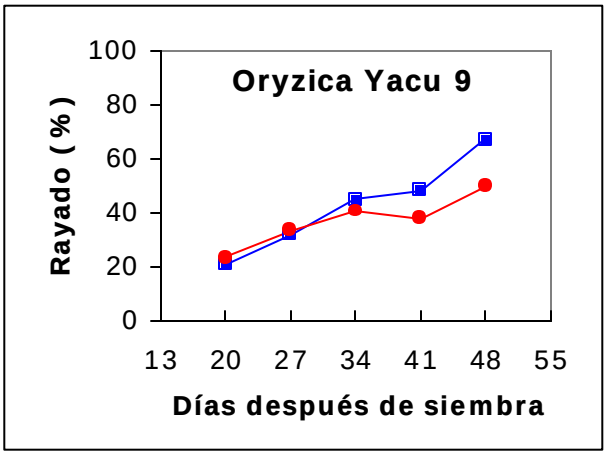
Siembra Directa Transplante



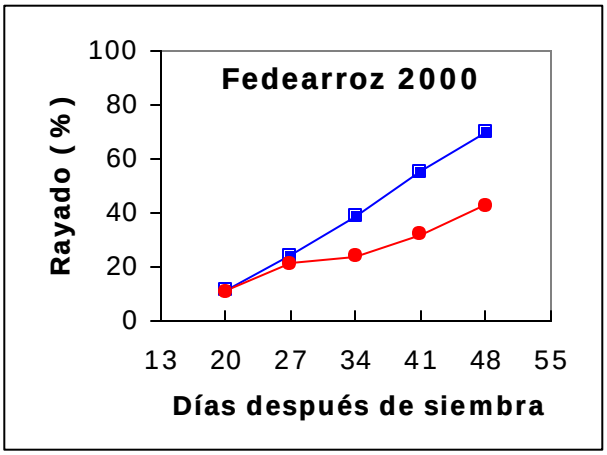
Gráfica 19. Oryzica Caribe 8



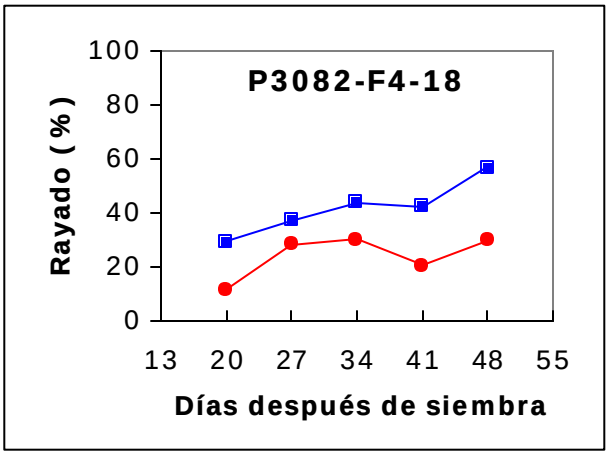
Gráfica 20. Irat 128



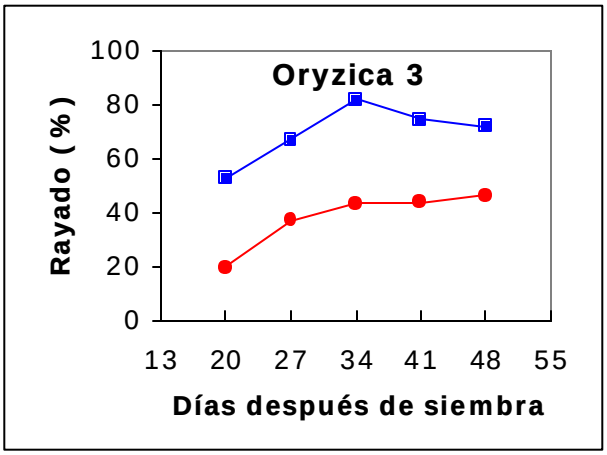
Gráfica 21. Oryzica Yacu 9



Gráfica 22. Fedearroz 2000



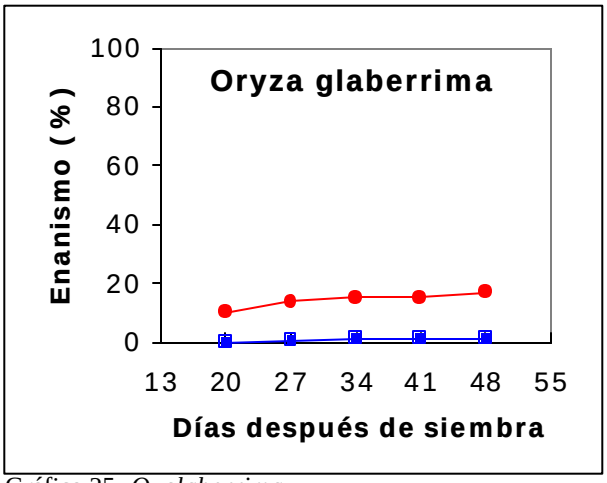
Gráfica 23. P3082-F4-18



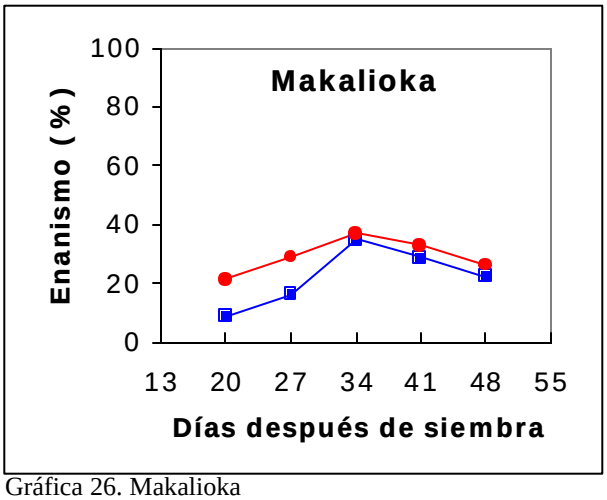
Gráfica 24. Oryzica 3

Siembra Directa Transplante

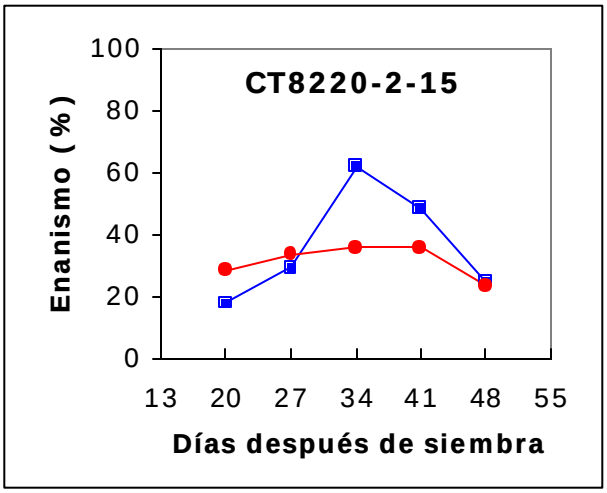
Grafica 25-34. Comparación de Métodos de Inoculación de *Polymyxa graminis* en 10 Variedades de Arroz para el Síntoma de Enanismo



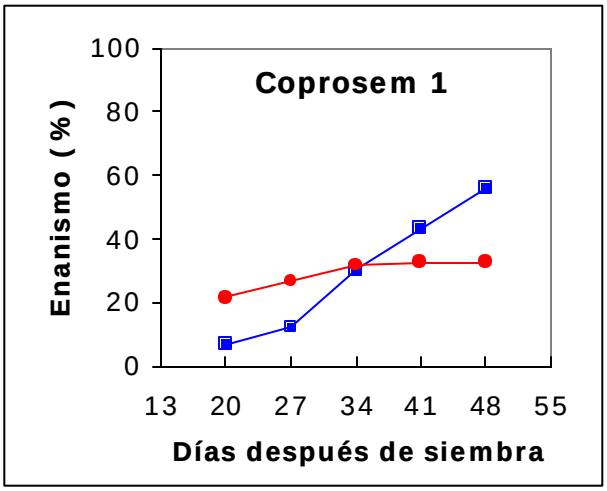
Gráfica 25. *O. glaberrima*



Gráfica 26. Makalioka

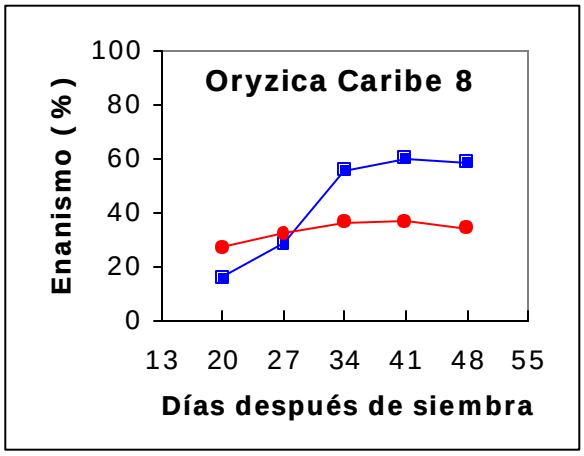


Gráfica 27. CT8220-2-15

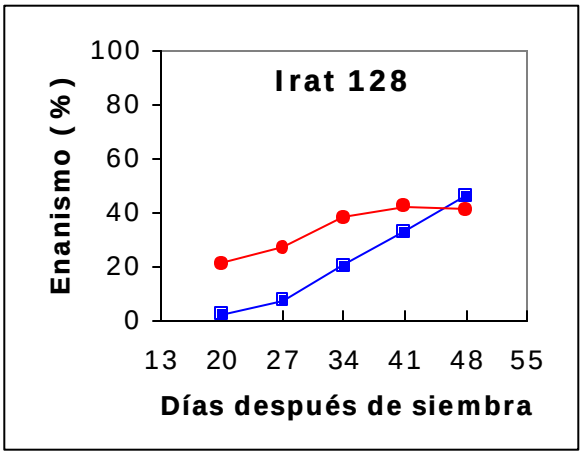


Gráfica 28. Coprosem 1

Siembra Directa **Transplante**

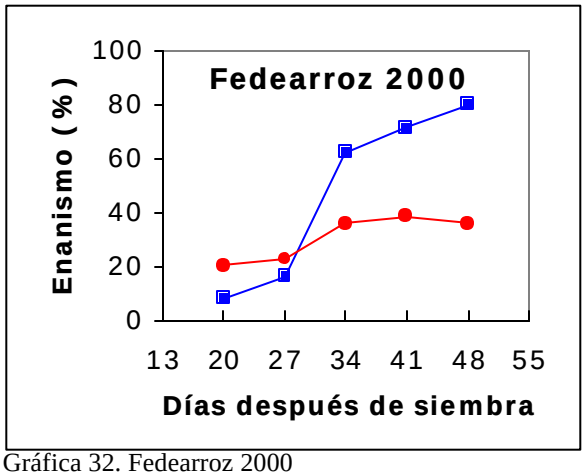


Gráfica 29. Oryzica Caribe 8

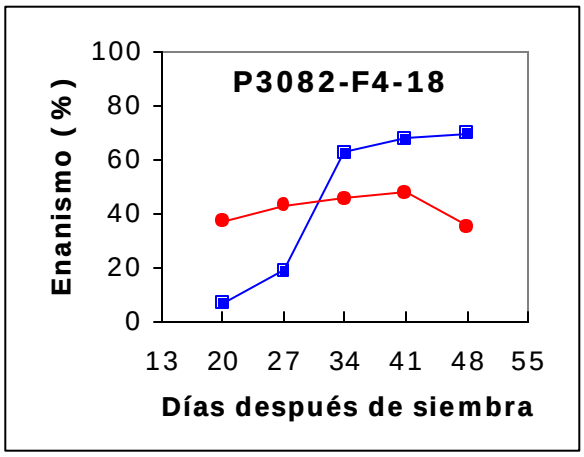


Gráfica 30. Irat 128

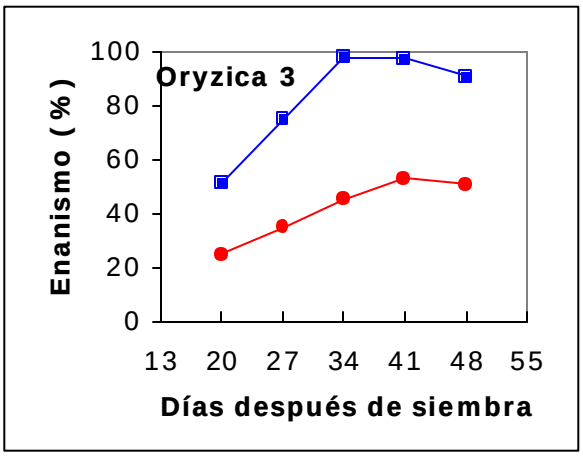
Gráfica 31. Oryzica Yacu 9



Gráfica 32. Fedearroz 2000



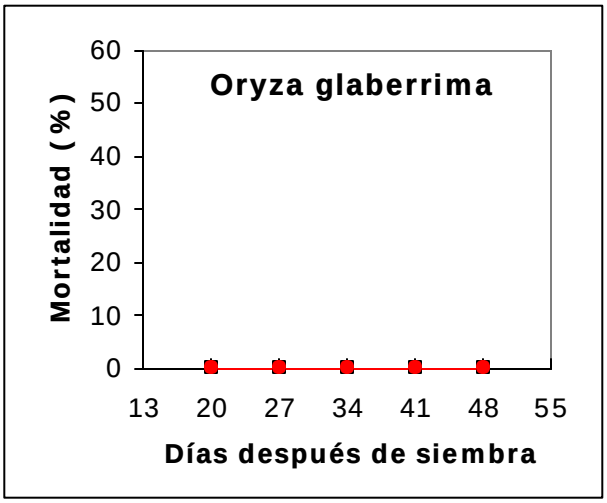
Gráfica 33. P3082-F4-18



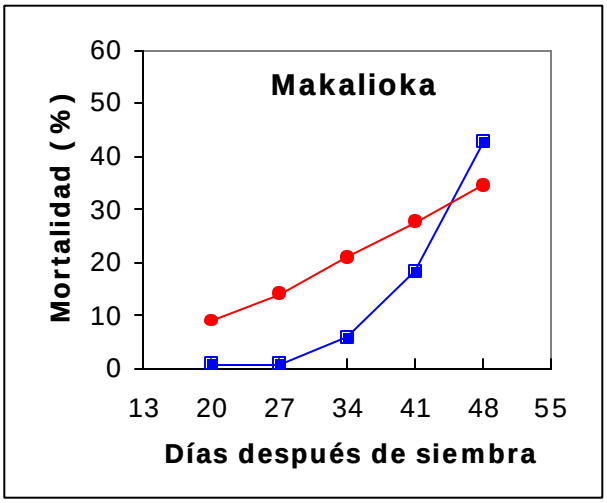
Gráfica 34. Oryzica 3

Siembra Directa Transplante

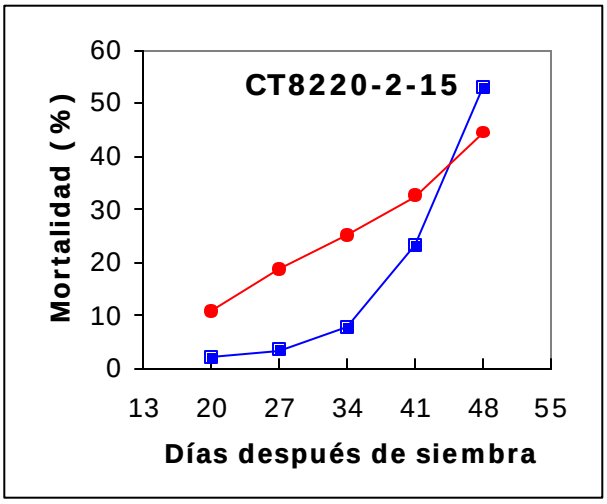
Grafica 35-44. Comparación de Métodos de Inoculación de *Polymyxa graminis* en 10 Variedades de Arroz para el Síntoma de Mortalidad



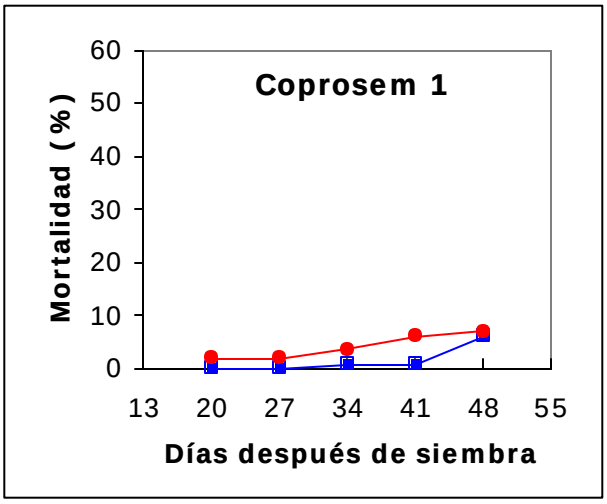
Gráfica 35. ***O.*** *glaberrima*



Gráfica 36. Makalioka

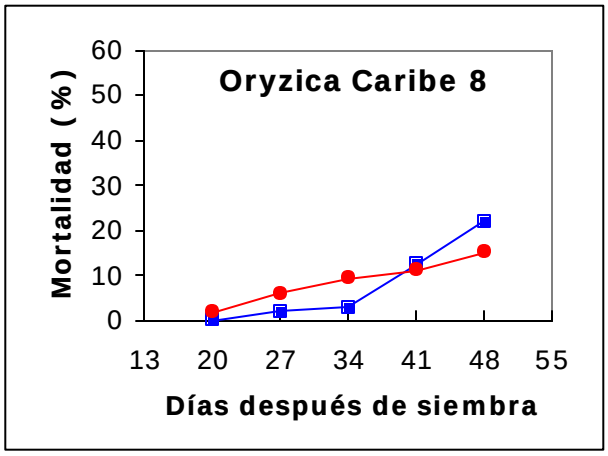


Gráfica 37. CT8220-2-15

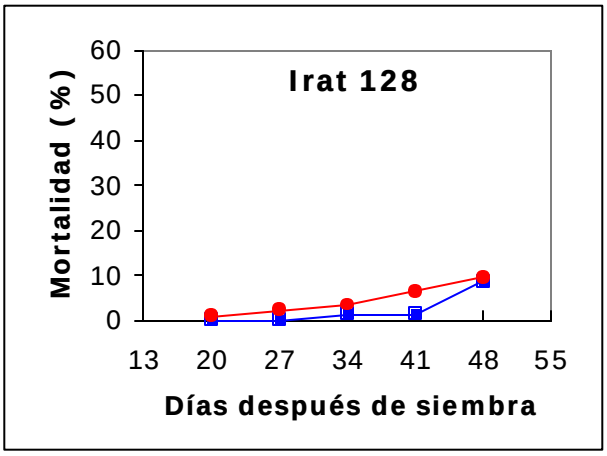


Gráfica 38. Coprosem 1

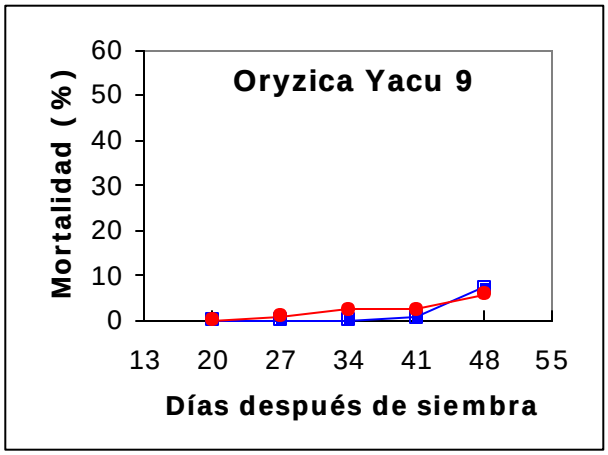
Siembra Directa **Transplante**



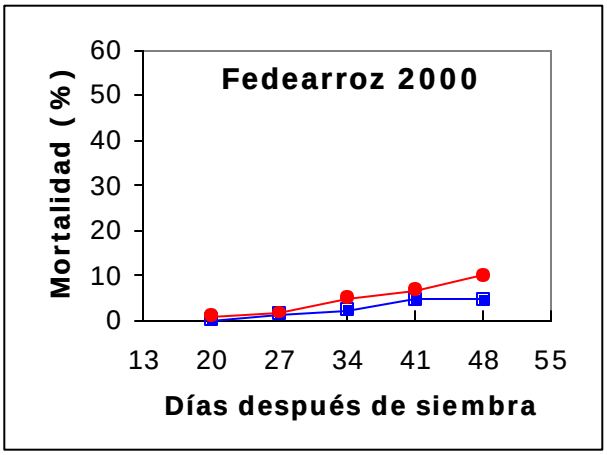
Gráfica 39. Oryzica Caribe 8



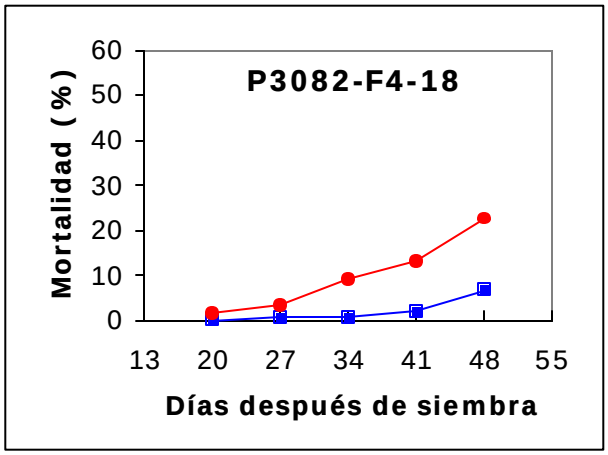
Gráfica 40. Irat 128



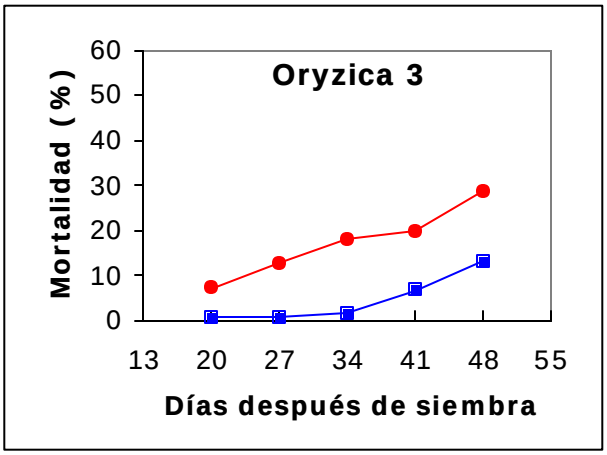
Gráfica 41. Oryzica Yacu 9



Gráfica 42. Fedearroz 2000



Gráfica 43. P3082-F4-18



Gráfica 44. Oryzica 3

Siembra Directa Transplante

3.2. REACCION AL VNRA DE LINEAS DE ARROZ DE DIFERENTES GENERACIONES DEL RETROCRUZAMIENTO ENTRE *O. glaberrima* Y *O. Sativa* (VARIEDAD BG90-2)

Este ensayo no tuvo un diseño experimental, ya que la población evaluada tenía gran cantidad de líneas (1230), los dos progenitores BG90-2, *Oryza glaberrima* y la variedad susceptible Oryzica 3. La selección de líneas resistentes y susceptibles se realizó de acuerdo a los porcentajes mas altos de resistencia (90-100%) y susceptibilidad (40-100%) que presentaron las líneas en este ensayo, con base al porcentaje de plantas sanas obtenido del promedio de las tres repeticiones evaluadas. Como resultado se obtuvo la selección de 16 líneas resistentes y 10 líneas susceptibles de las poblaciones RC_3F_4 y RC_2F_5 (Figura 2 y 3) utilizadas en ensayos posteriores (Tabla 14, 15).

Figura 2. Líneas Resistentes de la Población RC_2F_5

Figura 3. Líneas (Resistente y susceptible)de la Población RC_3F_4

Tabla 14. Líneas Resistentes al VNRA del RC_2 (CT15150) y del RC_3 (CT16053 A) con base en el porcentaje de Plantas Sanas. Palmira 2002 A.

N^0 Línea resistente	**Porcentaje de resistencia %**
138 CT15150-M-21-8-2	100
299 CT15150-M-50-2-1	100
303 CT15150-M-50-2-5	97.5
395 CT15150-M-79-9-3	100
403 CT15150-M-79-11-2	100
405 CT15150-M-79-11-4	100
478 CT15150-M-92-3-5	95.0
489 CT15150-M-106-5-2	100
497 CT15150-M-124-1-2	100
513 CT15150-M-129-1-2	100
514 CT15150-M-129-1-3	100
629 CT15150-M-149-1-1	100
810 CT15150-M-181-4-1	100
859 CT15150-M-190-2-1	100
1004 CT15150-M-242-3-1	100
1135 CT16053A-6-1-1	100

Tabla 15. Líneas Susceptibles al VNRA del RC_2 (CT15150) y del RC_3 (CT16053 A) con base en el porcentaje de Plantas Sanas. Palmira 2002 A.

N^0 Línea susceptible	**Porcentaje de susceptibilidad %**
13 CT15150-M-10-1-1	60.0
158 CT15150-M-23-8-2	92.5
501 CT15150-M-127-1-1	95.0
594 CT15150-M-141-4-2	82.5
824 CT15150-M-181-9-5	65.0
870 CT15150-M-192-13-2	45.0
913 CT15150-M-205-7-1	97.5
928 CT15150-M-211-6-2	87.5
1080 CT16053A-1-14-1	62.5
1164 CT16053A-9-13-1	70.0

Para este ensayo se utilizó el método de siembra directa escogido como el mejor de acuerdo con el estudio anterior, ya que permitió hacer una selección rigurosa de líneas con resistencia al virus. Las líneas que presentan un 100% de plantas sanas igual al comportamiento de *O. glaberrima,* indica que se ha podido transferir la resistencia de esta especie a sus líneas descendientes mediante el retrocruzamiento, aunque el hecho de que sólo 16 líneas que representan el 1.3% de la población, sugiere a los fitomejoradores y patólogos la dificultad de manejo de esta resistencia, haciendo necesario el uso de poblaciones segregantes altas y un cuidadoso método de selección.

3.3 COMPROBACION DE LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD EN GENOTIPOS SELECCIONADOS.

En este estudio se incluyeron las 16 líneas resistentes y las 10 líneas susceptibles seleccionados del ensayo anterior, los parentales BG90-2, *O. glaberrima* y los testigos Oryzica 3 y Coprosem 1. se utilizó el método de siembra directa.

De las líneas aquí evaluadas, quince líneas resistentes se derivan del RC_2F_5 y solo una del RC_3F_4. de 10 líneas susceptibles ocho se derivan del RC_2F_5 y dos líneas del RC_3F_4. Para la evaluación se tuvieron en cuenta los promedios de los porcentajes de los cuatro síntomas entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad. Se incluyó el conteo de plantas sanas, como una variable de respuesta, pues de acuerdo con la experiencia del ensayo anterior, esta variable puede resumir el comportamiento de una línea.

Para el análisis de los resultados se tuvo en cuenta la evaluación a partir de los 37 días después de siembra, ya que para esta fecha se empiezan a mostrar diferencias entre los genotipos y los porcentajes mas altos de los síntomas de una forma más clara.

Para determinar la resistencia de una línea se tomó como índice, que presentará como mínimo 97.5% de plantas sanas y un porcentaje máximo de 2.5% para cada uno de los síntomas, entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad.

Como se puede observar en la tabla 16 las tres líneas utilizadas de la población se consideraron como susceptibles con base en el bajo porcentaje de plantas sanas y altos porcentajes de manifestación de los síntomas entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad. Las líneas 1080 y 1164, continuaron con su comportamiento preliminar, como líneas susceptibles. La línea 1135, previamente clasificada como resistente en esta evaluación resulto ser susceptible.

De las 16 líneas de la población RC_2F_5, previamente clasificadas como resistentes, solo 9 confirmaron su comportamiento (Tabla 16) tales líneas son 1004, 299, 303, 395, 405, 489, 497, 629 y 810. De estas 9 líneas confirmadas como resistentes, se destacan 4 que no presentaron ninguno de los síntomas, entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad y presentaron el 100% de plantas sanas. Estas líneas son 303, 395, 405 y 1004.

La línea 1135 del RC_3F_4 y las líneas 138 y 478 clasificadas como resistentes previamente, en esta evaluación se manifestaron claramente susceptibles por sus altos porcentajes en cada uno de los síntomas.

Las líneas 403, 514 y 859 presentaron porcentajes relativamente bajos para los síntomas evaluados, pero su porcentaje de plantas sanas estuvo por debajo del índice establecido. La línea 513 merece una nueva evaluación pues no presenta ni entorchamiento, ni rayado ni enanismo, pero su porcentaje de mortalidad es del 5%. Esta variable parece ser la menos útil pues la mortalidad puede ocurrir por alguna otra causa y no necesariamente por la acción del virus. En el caso de esta línea es dudoso que sin tener ningún síntoma, haya un 5% de plantas muertas por el virus.

Se hace necesario resaltar que la variable plantas sanas, puede resumir en forma clara y rápida, el comportamiento de una línea frente al VNRA. Es decir, en la evaluación de un gran número de líneas esta variable podría simplificar mucho el trabajo de selección. Queda por determinar si la manifestación de cada uno de los síntomas entorchamiento, rayado y enanismo están manejado por los mismos o por diferentes genes, información que será muy útil para escoger los mejores parentales para cruzamientos y escoger el mejor o mejores síntomas de manifestación del virus, para el proceso de selección en poblaciones segregantes.

Es necesario también, determinar el valor agronómico de estas líneas, para asegurar su utilización como líneas comerciales, o como mejores fuentes para ser utilizadas como parentales, en un paso mas avanzado de transferencia de la resistencia.

Tabla 16. Evaluación del Porcentaje de Síntomas del VNRA en Líneas Seleccionadas como Resistentes y Susceptibles

Tipo	N^0 Línea	Eval. Preliminar	Ent	Ray	Enan	Mort	Sana	Clasifi
RC_3F_4	**1080** CT16053A-1-14-1	**S**	63.1	65.8	66.1	2.5	26.4	
	1135 CT16053A-6-1-1	**R**	45.0	55.0	55.0	10.0	32.5	
	1164 CT16053A-9-13-1	**S**	22.5	52.5	55.0	10.0	30.0	
RC_2F_5	**13** CT15150-M-10-1-1	**S**	28.9	31.7	31.1	15.3	48.1	
	138 CT15150-M-21-8-2	**R**	25.0	40.0	37.5	15.6	39.4	
	158 CT15150-M-23-8-2	**S**	35.0	45.0	47.5	17.5	32.5	
	299 CT15150-M-50-2-1	**R**	0.0	0.0	2.5	0.0	97.5	**R**
	303 CT15150-M-50-2-5	**R**	0.0	0.0	0.0	0.0	100	**R**
	395 CT15150-M-79-9-3	**R**	0.0	0.0	0.0	0.0	100	**R**
	403 CT15150-M-79-11-2	**R**	5.3	5.3	7.8	2.8	89.4	
	405 CT15150-M-79-11-4	**R**	0.0	0.0	0.0	0.0	100	**R**
	478 CT15150-M-92-3-5	**R**	22.8	35.0	40.3	0.0	59.7	
	489 CT15150-M-106-5-2	**R**	0.0	0.0	0.0	2.5	97.5	**R**
	497 CT15150-M-124-1-2	**R**	2.5	2.5	2.5	0.0	97.5	**R**
	501 CT15150-M-127-1-1	**S**	38.9	69.2	63.9	0.0	28.3	
	513 CT15150-M-129-1-2	**R**	0.0	0.0	0.0	5.0	95.0	
	514 CT15150-M-129-1-3	**R**	0.0	2.5	5.0	0.0	95.0	
	594 CT15150-M-141-4-2	**S**	47.5	67.5	70.0	2.5	25.0	
	629 CT15150-M-149-1-1	**R**	2.5	2.5	2.5	0.0	97.5	**R**
	810 CT15150-M-181-4-1	**R**	0.0	0.0	2.5	0.0	97.5	**R**
	824 CT15150-M-181-9-5	**S**	32.5	47.5	50.0	15.0	30.0	
	859 CT15150-M-190-2-1	**R**	2.5	5.0	2.5	7.5	87.5	
	870 CT15150-M-192-13-2	**S**	20.6	43.9	43.3	5.0	46.1	
	913 CT15150-M-205-7-1	**S**	47.5	62.5	52.5	0.0	35.0	
	928 CT15150-M-211-6-2	**S**	41.1	50.6	48.6	2.5	41.4	
	1004 CT15150-M-242-3-1	**R**	0.0	0.0	0.0	0.0	100	**R**
Progen	BG90-2	**I**	41.9	57.2	54.7	7.5	30.3	
Prosilv	O. glaberrima	**R**	0.0	0.0	0.0	0.0	100	**R**
Varcom	Coprosem 1	**I**	20.0	30.0	35.0	2.5	62.5	
Varsusc	Oryzica 3	**S**	55.0	72.5	72.5	7.5	17.5	

3.3.1 COMPARACION DE LAS POBLACIONES RC_3F_4, RC_2F_5 CON LOS PARENTALES Y CON LOS TESTIGOS

Los resultados se analizaron teniendo en cuenta el agrupamiento de DUNCAN que se observa en la tabla 17

Tabla 17. Resumen del Agrupamiento de DUNCAN para la comprobación de la resistencia y susceptibilidad en genotipos seleccionados para VNRA

Genotipo	Entorchamiento 37 D.D.S	Rayado 37 D.D.S	Enanismo 37 D.D.S	Mortalidad 37 D.D.S	Plantas sanas 37 D.D.S
Oryzica 3	A	A	A	A	C
RC_3F_4	A	A	A	A	C
BG90-2	A	A	A	A	C
RC_2F_5	B	B	B	A	B
Coprosem 1	B	C	C	A	B
O. glaberrima	C	D	D	A	A

Igual Número de Letra no Difie ren Significativamente.

Teniendo en cuenta los resultados de la Tabla 16, el único genotipo resistente es *O. glaberrima.* El parental BG90-2 y la variedad comercial Coprosem 1, previamente clasificadas como de reacción intermedia al virus, en la presente evaluación son claramente susceptibles. Oryzica 3 sigue siendo un buen testigo susceptible.

Al comparar las diferentes poblaciones, como se observa en la tabla 17 y en las gráficas 50, 51, 52, 53 y 54, el agrupamiento es similar para los síntomas entorchamiento, rayado y

enanismo, en donde se puede ver un grupo susceptible conformado por el testigo Oryzica 3, el parental susceptible BG90-2 y la población RC_3F_4, un grupo intermedio conformado por la población RC_2F_5 y el testigo comercial Coprosem 1 y bien diferenciado aparece *O. glaberrima* como un genotipo completamente resistente al virus.

Se puede resaltar cómo estos grupos reflejan claramente lo que se ha encontrado en este estudio, que con dos retrocruzamientos es suficiente para transferir la resistencia. En esta evaluación toda la población RC_3F_4 resultó susceptible. Oryzica 3 y *O. glaberrima* son muy buenos testigos susceptible y resistente respectivamente.

También se confirma, que la variable porcentaje de mortalidad, no es adecuada, al menos como se tomó en este estudio, para determinar la resistencia o la susceptibilidad de un genotipo. De acuerdo con la Tabla 17 y la gráfica 53, esta variable no supera los genotipos evaluados en este estudio.

3.3.2 PROMEDIOS DE AREA BAJO LA CURVA

En la tabla 18 y en las Gráficas 45,46, 47, 48 y 49 se puede observar el comportamiento de las líneas frente a todos los síntomas de una forma general durante todo el proceso de evaluación.

Las líneas 1080, 1135 y 1164 de la población RC_3F_4 tuvieron un promedio muy alto para todos los síntomas (entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad) en todas las evaluaciones, observándose así la susceptibilidad de estas líneas frente a la enfermedad.

De la población RC_2F_5 se pueden señalar las líneas 1004, 299, 303, 395, 405, 489, 513, 514 y 810 como las más resistentes a la enfermedad según la tabla, ya que presentaron los

promedios más bajos para entorchamiento, rayado, enanismo, mortalidad y los mas altos para plantas sanas; siendo las líneas 405 y 810 las más resistentes.

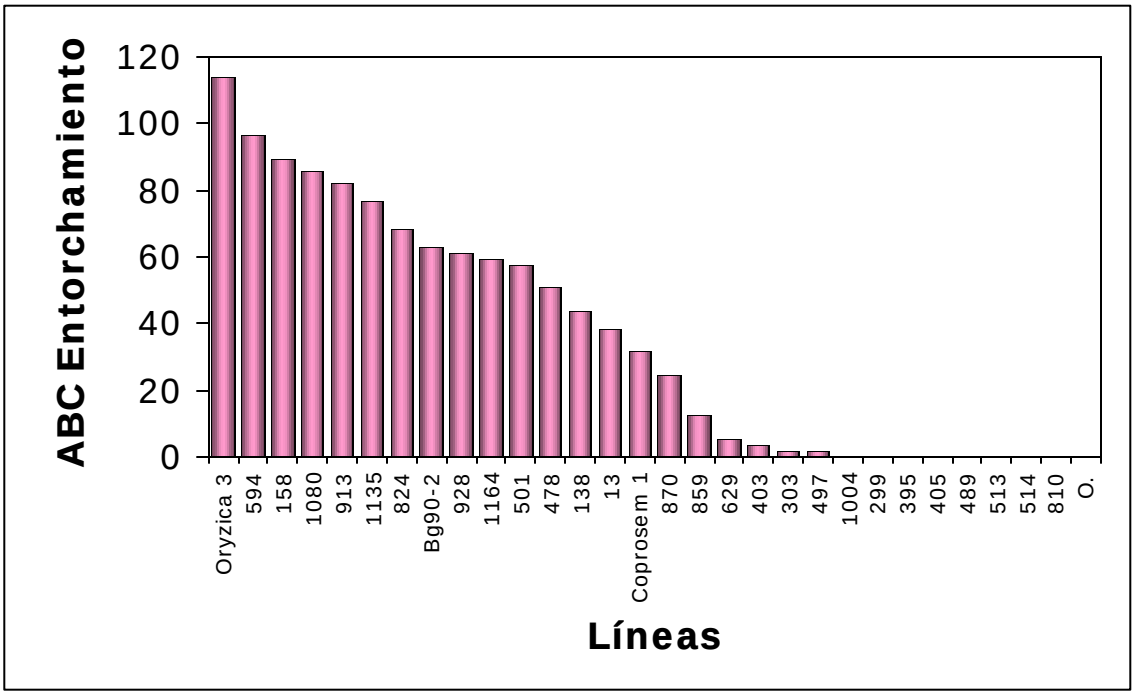
El progenitor silvestre *O. glaberrima* no manifestó ningún síntoma y tuvo el porcentaje mas alto de plantas sanas, lo que nos permite confirmar que esta especie es resistente a entorchamiento, mientras que la variedad BG90-2 manifestó la enfermedad.

La variedad comercial Coprosem 1 presenta índices más bajos de los síntomas (entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad)que la variedad BG90-2 y Oryzica 3, esta última presentó promedios muy altos para cada uno de los síntomas(entorchamiento, rayado, enanismo y mortalidad) confirmando su susceptibilidad a la enfermedad, y porcentajes bajos para plantas sanas.

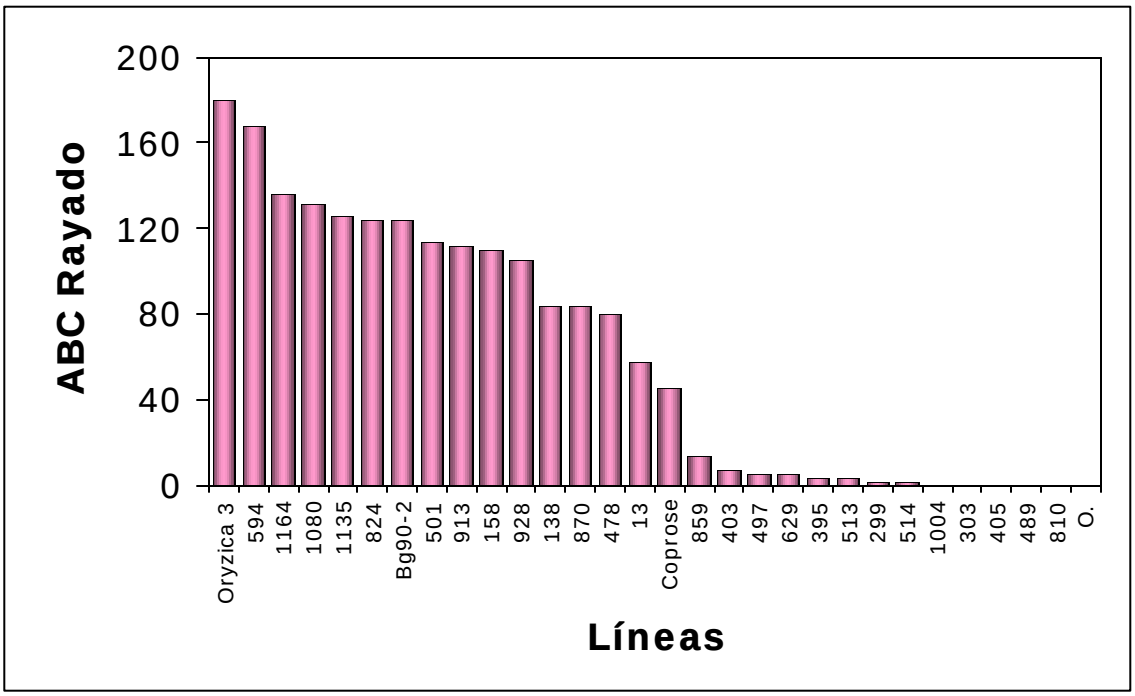
Tabla 18. Área Bajo la Curva para todos los Síntomas del VNRA en Líneas y Variedades Resistentes y Susceptibles a la Enfermedad.

Tipo	Líneas	Entorcham	Rayado	Enanismo	Mortalidad	sanas
RC_3F_4	**1080** CT16053A-1-14-1	85.8	131.3	131.3	1.8	112
	1135 CT16053A-6-1-1	77	126	126	7	119
	1164 CT16053A-9-13-1	59.5	136.5	155.8	7	103.3
RC_2F_5	**13** CT15150-M-10-1-1	38.5	57.8	57.8	24.5	176.8
	138 CT15150-M-21-8-2	43.8	84	87.5	21	145.3
	158 CT15150-M-23-8-2	89.3	110.3	129.5	12.3	119
	299 CT15150-M-50-2-1	0	1.8	12.3	0	267.8
	303 CT15150-M-50-2-5	1.8	0	12.3	0	267.8
	395 CT15150-M-79-9-3	0	3.5	12.3	0	264.3
	403 CT15150-M-79-11-2	3.5	7	15.8	1.8	257.3
	405 CT15150-M-79-11-4	0	0	1.8	0	271.3
	478 CT15150-M-92-3-5	50.8	80.5	103.3	3.5	166.3
	489 CT15150-M-106-5-2	0	0	15.8	1.8	259
	497 CT15150-M-124-1-2	1.8	5.3	12.3	10.5	252
	501 CT15150-M-127-1-1	57.8	113.8	129.5	35	131.3
	513 CT15150-M-129-1-2	0	3.5	7	7	259
	514 CT15150-M-129-1-3	0	1.8	17.5	0	260.8
	594 CT15150-M-141-4-2	96.3	168	169.8	1.8	91
	629 CT15150-M-149-1-1	5.3	5.3	14	0	262.5
	810 CT15150-M-181-4-1	0	0	12.3	0	267.8
	824 CT15150-M-181-9-5	68.3	124.3	129.5	21	120.8
	859 CT15150-M-190-2-1	12.3	14	22.8	8.8	246.8
	870 CT15150-M-192-13-2	24.5	84	106.8	3.5	161
	913 CT15150-M-205-7-1	82.3	112	113.8	0	147
	928 CT15150-M-211-6-2	61.3	105	92.8	5.3	152.3
	1004 CT15150-M-242-3-1	0	0	24.5	0	255.5
Progen	BG90-2	63	124.3	129.5	8.8	124.3
Prosilv	O. glaberrima	0	0	0	0	280
Varcom	Coprosem 1	31.5	45.5	56	1.8	218.8
Varsusc	Oryzica 3	113.8	180.3	204.8	8.8	59.5

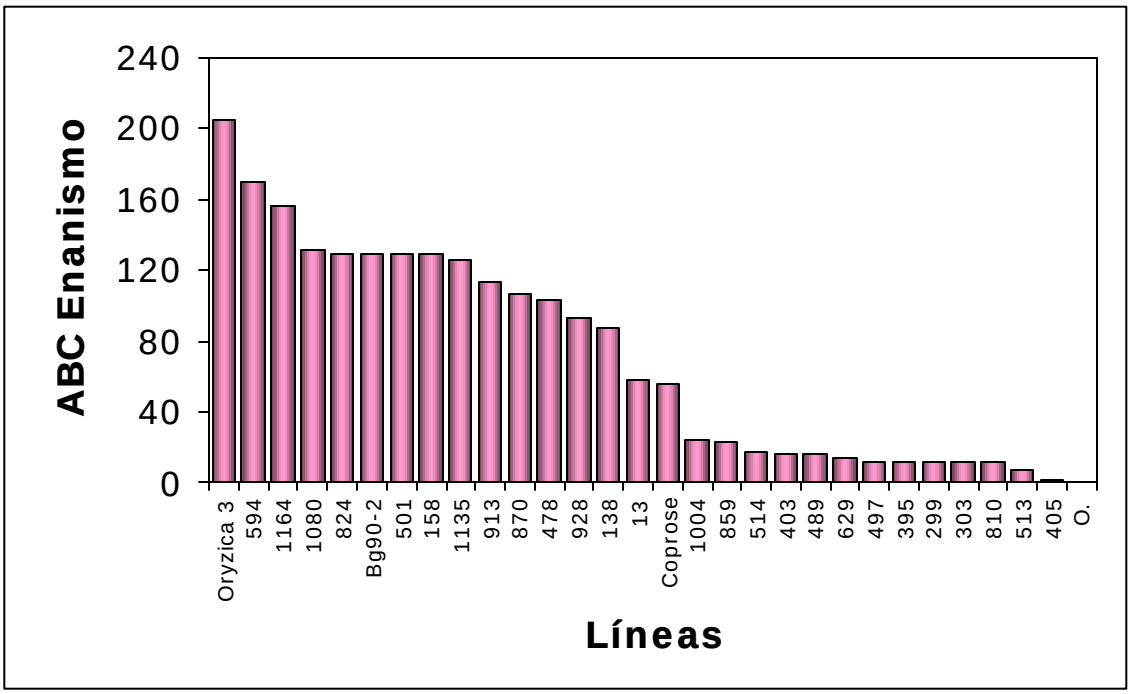
Área Bajo la Curva Calculado con base a Tres Evaluaciones y Cuatro Repeticiones por Síntoma



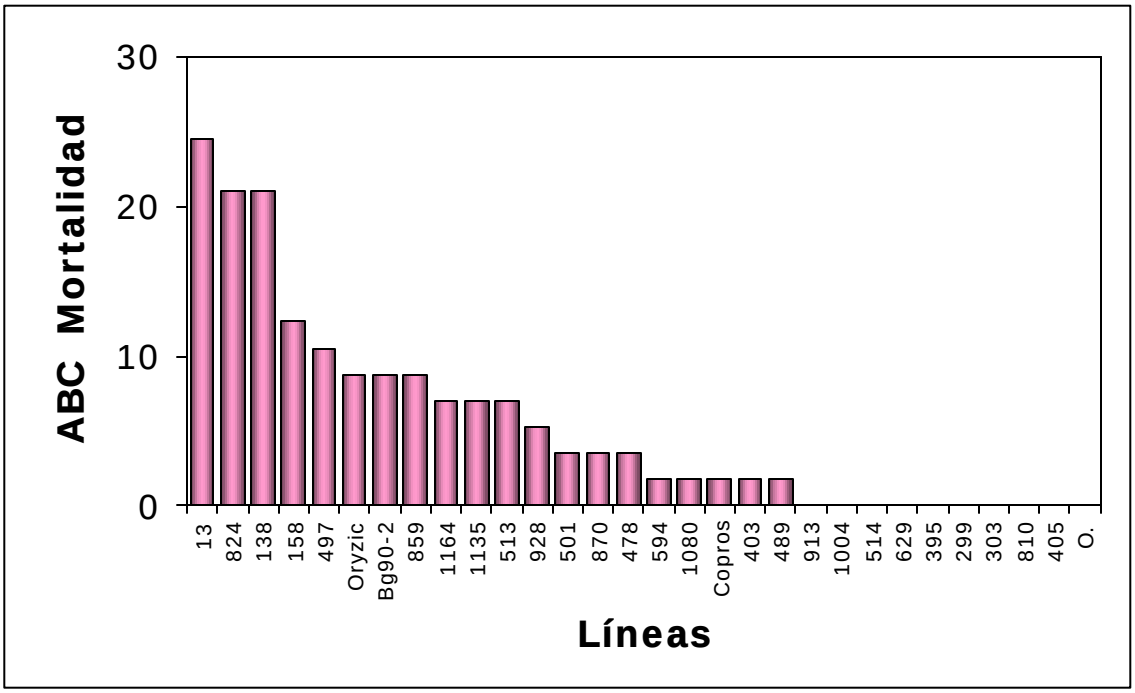
Gráfica 45**.** Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Entorchamiento



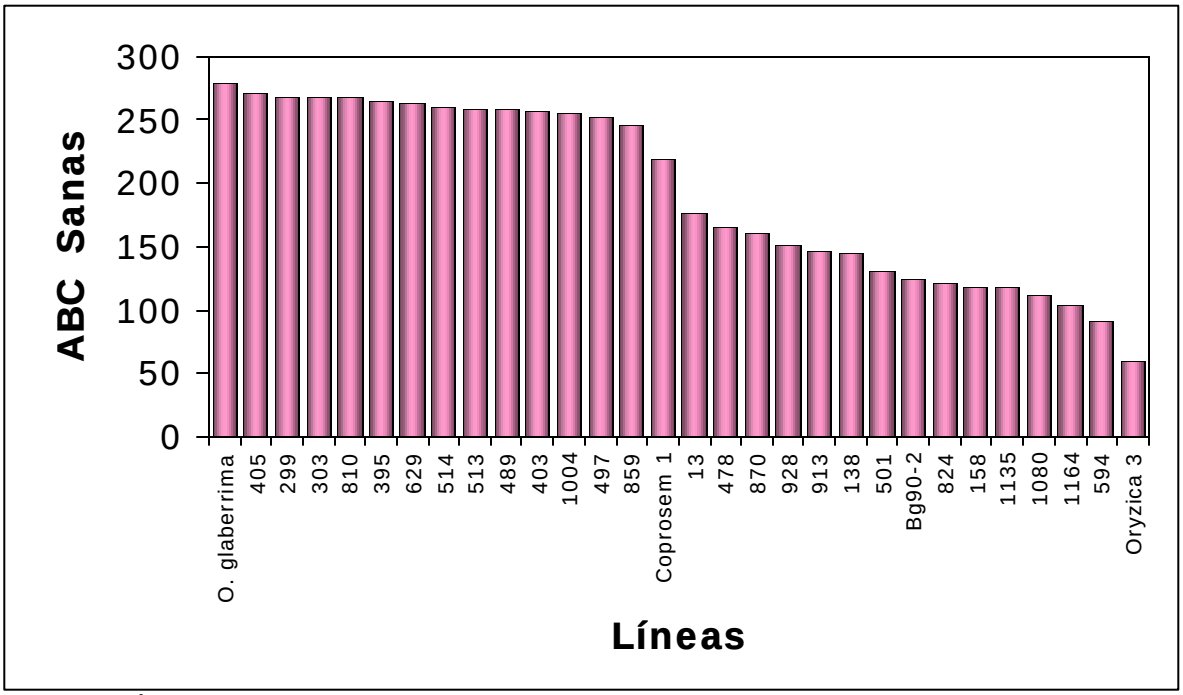
Gráfica 46**.** Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Rayado



Gráfica 47**.** Area Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Enanismo



Gráfica 48. Area Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Mortalidad.



Gráfica 49. Área Bajo la Curva de la Comprobación de la Resistencia y Susceptibilidad en Genotipos Seleccionados de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* para Plantas Sanas

3.3.3 INTERPRETACION DE GRAFICAS DE LA COMPROBACIÓN DE LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD EN GENOTIPOS SELECCIONADOS

Para la variable entorchamiento todas las variedades y poblaciones evaluadas tuvieron un comportamiento ascendente en cuanto a la manifestación del síntoma, excepto, el progenitor silvestre *O. glaberrima*, que no lo manifestó en ninguna de las evaluaciones.

La población RC_2F_5 tuvo un comportamiento muy similar a la variedad comercial Coprosem, al igual que la población RC_3F_4 y el progenitor BG90-2.

La variedad Oryzica 3 manifestó el síntoma con índices mayores que las otras variedades y poblaciones desde la primera evaluación (Gráfica 50), en la variable rayado podemos observar que entre la población RC_3F_4 y la variedad BG90-2 no existen diferencias en

cuanto a la manifestación del síntoma, presentándose un alto porcentaje hasta la segunda evaluación y estabilizándose. La población RC_2F_5 y la variedad Coprosem 1 manifestaron el síntoma de una manera muy similar hasta la segunda evaluación, a partir del cual la variedad Coprosem 1 alcanzó mayores porcentaje de rayado que la población RC_2F_5; pero en menor grado al grupo descrito anteriormente, la variedad Oryzica 3 usada como testigo presentó los porcentajes mas altos del síntoma. La especie silvestre *O. glaberrima* no manifestó el síntoma durante todo el ciclo de evaluación (Gráfica 51).

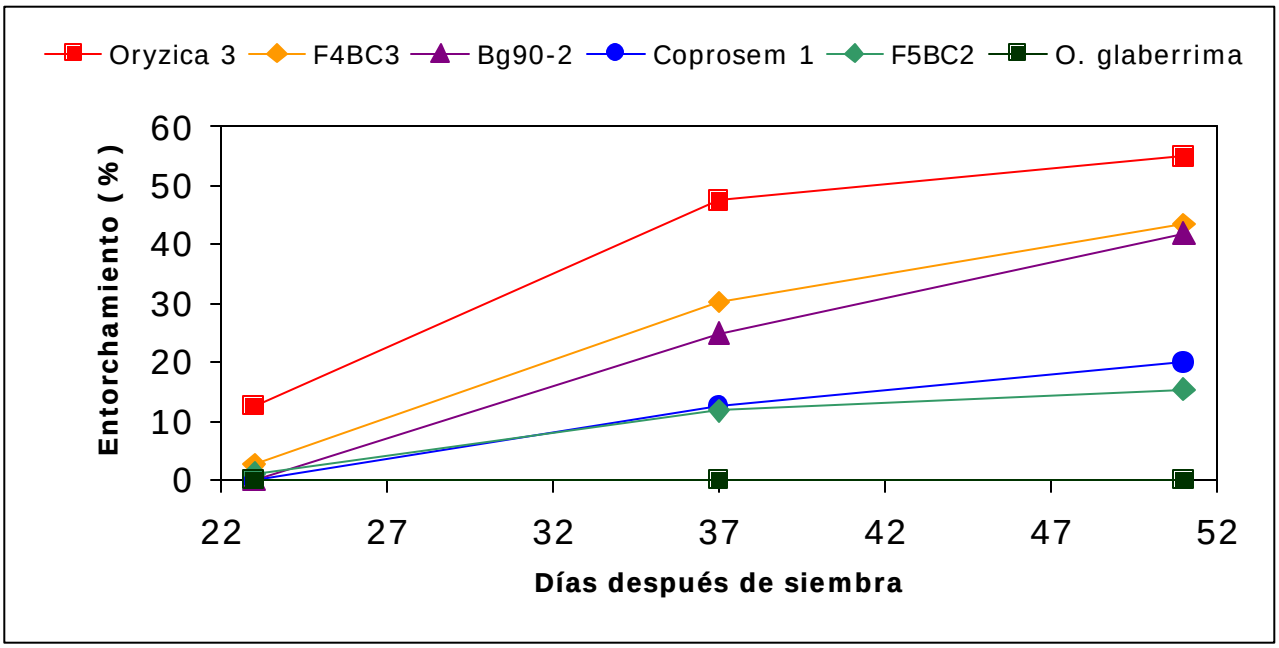
En la variable enanismo, dos grupos se comportaron de la misma manera frente al síntoma: la población RC_3F_4 con el progenitor BG90-2 y la variedad Coprosem 1 con la población RC_2F_5, el segundo de ellos manifestó el síntoma en menor grado que el primero, observándose que la población RC_2F_5 presentó un comportamiento estable, mientras que la variedad Coprosem 1 en la segunda evaluación alcanzó porcentajes menores que la población RC_2F_5 y para la tercera evaluación obtuvo el mayor porcentaje, la variedad Oryzica 3 mantuvo un porcentaje muy alto en cuanto a la manifestación del síntoma y la especie silvestre *O. glaberrima* no manifestó el síntoma en todo el ciclo de evaluación (Gráfica 52).

En la variable Mortalidad se puede observar que la variedad Oryzica 3 y el progenitor BG90-2 tuvieron el mismo comportamiento frente al síntoma. En la primera evaluación no hubo plantas muertas pero a partir de la segunda evaluación el porcentaje aumenta hasta llegar al grado mas alto de mortalidad en la tercera evaluación en relación con las demás variedades y poblaciones evaluadas, la población RC_2F_5 tuvo un comportamiento ascendente durante todo el ciclo de evaluación, mientras que la población RC_3F_4 presentó el síntoma a partir de la segunda evaluación, alcanzando porcentajes tan altos en la tercera

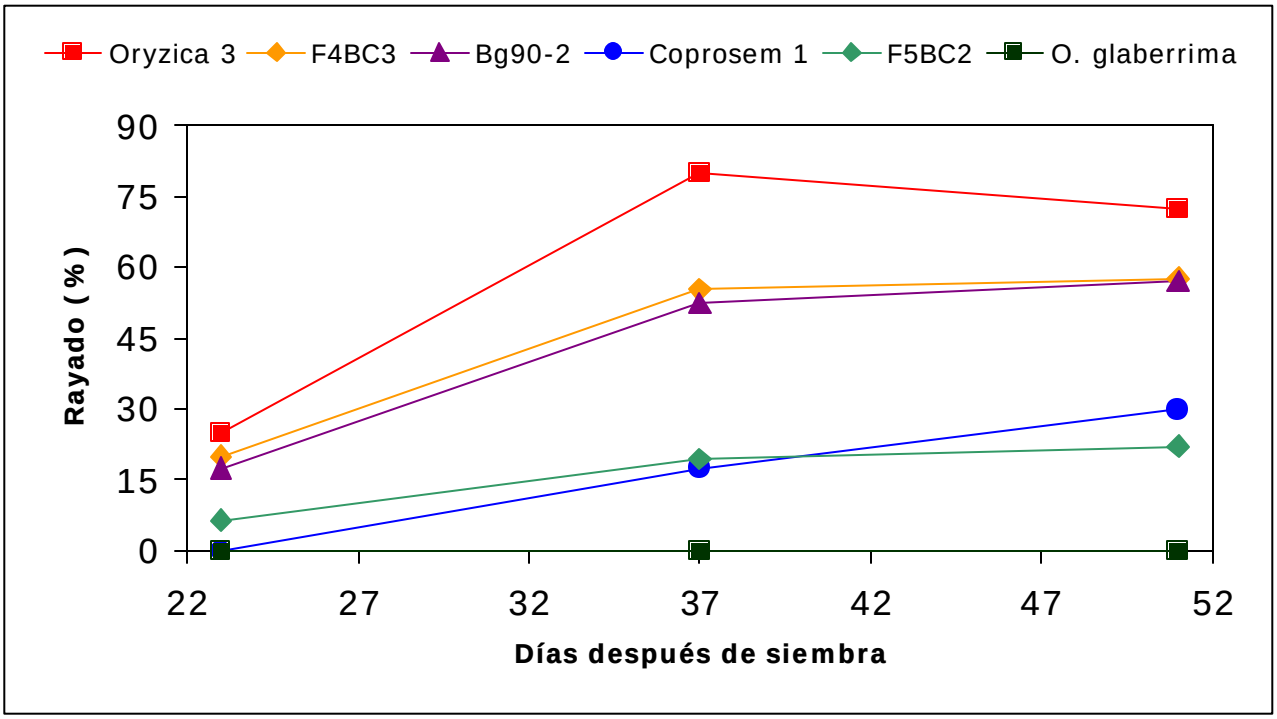
evaluación como el progenitor BG90-2 y la variedad Oryzica 3. En la variedad Coprosem 1 solo se manifestó el síntoma a partir de la segunda evaluación y fue en la tercera evaluación donde alcanzó el porcentaje más altos de mortalidad. En la especie silvestre *O. glaberrima* no hubo manifestación del síntoma (Gráfica 53).

Para la variable plantas sanas la especie silvestre *O. glaberrima* obtuvo el 100% durante todo el ciclo de evaluación, el testigo Oryzica 3 presentó el menor porcentaje, lo que corrobora su susceptibilidad; la población RC_2F_5 y la variedad comercial Coprosem 1 tuvieron un comportamiento muy similar, pero esta tuvo un mayor porcentaje en la segunda evaluación y para la tercera evaluación dicho porcentaje disminuye.

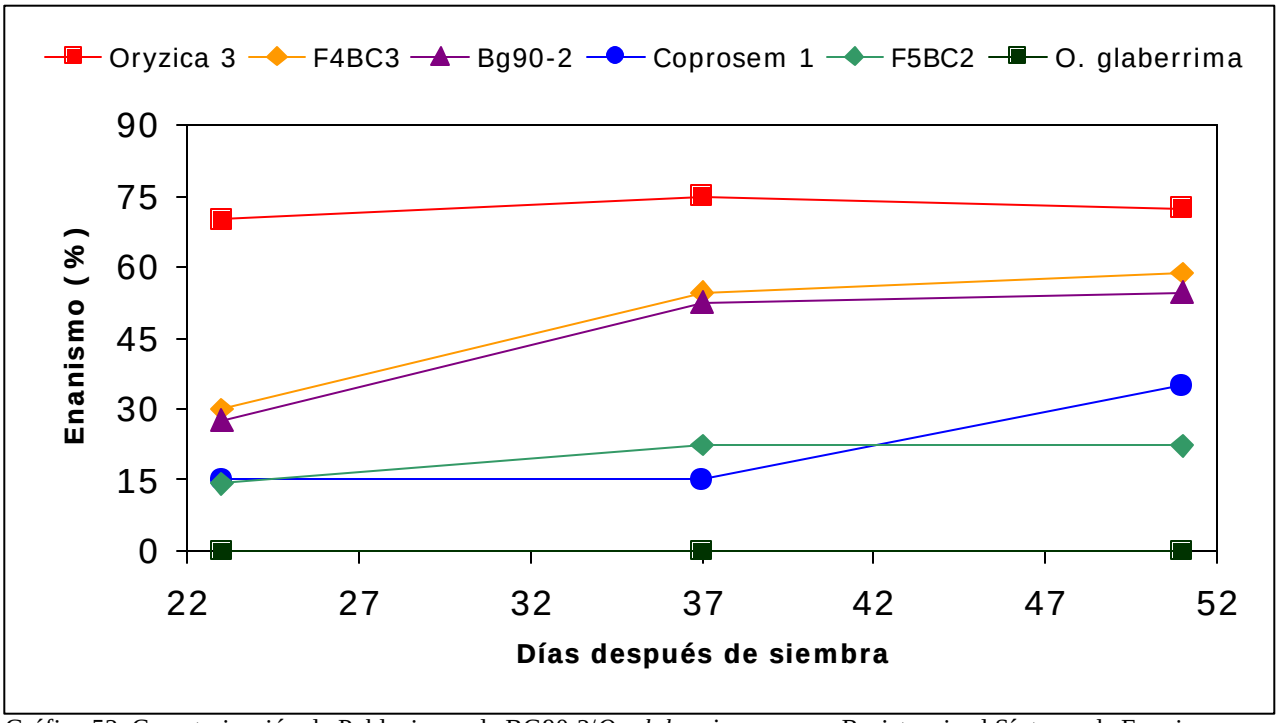
La variedad Bg90-2 y la población RC_3F_4 también tuvieron un comportamiento similar durante el ciclo de evaluación donde los porcentajes disminuían a medida que pasaba el tiempo (Gráfica 54).



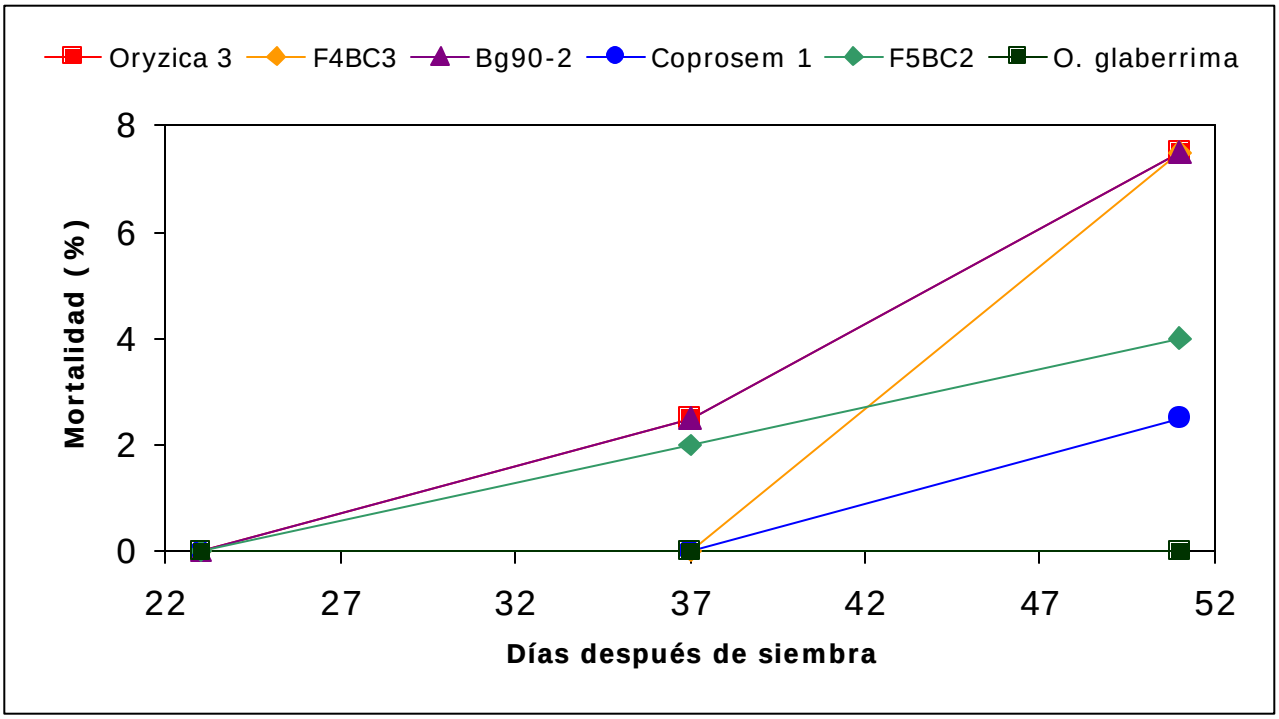
Gráfica 50. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Entorchamiento.



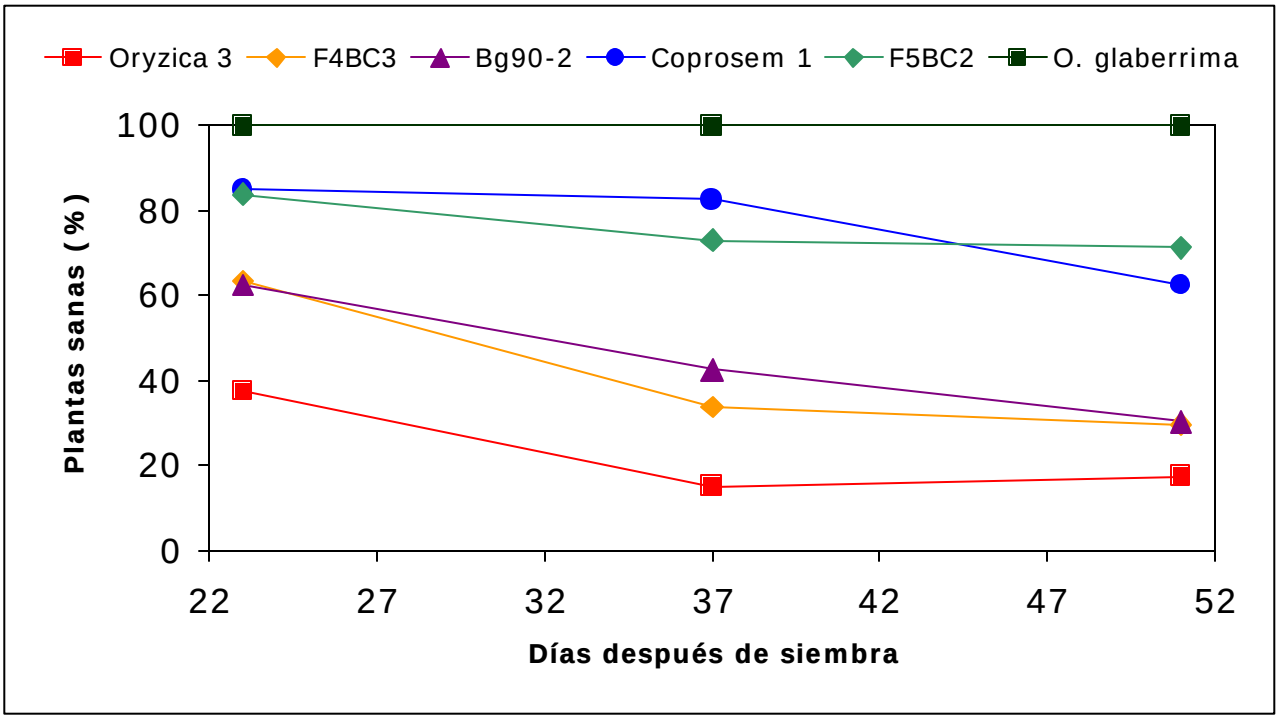
Gráfica 51. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Rayado



Gráfica 52. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Enanismo



Gráfica 53.Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Síntoma de Mortalidad



Gráfica 54.Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* para Plantas Sanas

3.4 ENSAYO DE RESISTENCIA AL VECTOR

Para este análisis se evaluaron las siguientes 5 líneas resistentes 395, 405, 489, 514, 629 provenientes del ensayo de selección anterior, los dos progenitores (BG90-2, *O. glaberrima*) y la variedad susceptible (Oryzica 3), en dos repeticiones, durante 50 días. Se utilizó el método de siembra directa y para determinar la resistencia se utilizó la frecuencia y el porcentaje de cistosoros en la raíz.

El análisis mostró que hubo diferencias significativas entre líneas y repeticiones (Tabla 19).

En la tabla 20 se puede observar que la variedad Oryzica 3 presenta la media mas alta y se comporta diferente a las líneas 514, 395, 405, 629 y al progenitor silvestre *O. glaberrima*.

La variedad BG90-2 no tiene diferencias significativas con la variedad Oryzica 3 ni con la línea 489. La línea 489 no presenta diferencias significativas con ninguna de las variedades y líneas evaluadas.

La línea 514 solo presenta diferencias significativas con la variedad Oryzica 3 (Gráfica 55).

El mayor número de cistosoros se presentó en la variedad Oryzica 3 con un porcentaje de 50% y se observa una mayor cantidad de cistosoros durante los veinte primeros días de la evaluación (Tabla 21), lo cual confirma su susceptibilidad a la penetración del pseudo-hongo *Polymyxa graminis*, le sigue la variedad BG90-2. Las líneas en que se presentó una menor frecuencia de aparición del pseudo-hongo fueron la 629, 405, 395 y el progenitor silvestre *Oryza glaberrima*.

La especie silvestre *O. glaberrima* presenta un bajo porcentaje de cistosoros (4.37%), y dos líneas la 629 y la 405; presentaron porcentajes de cistosoros menores que el de *O. glaberrima*. Esto permite pensar que la resistencia de estos genotipos, que se debe a la

dificultad del pseudo-hongo para penetrar y establecerse en las raíces. Se puede afirmar entonces que el tipo de resistencia de *O. glaberrima* si se pudo transferir a sus líneas descendentes. Esto sugiere que la resistencia al VNRA puede ser debida a una barrera al vector y no necesariamente una resistencia al virus

De manera general se encontró que la mayor penetración del pseudo-hongo se observa a los 20 días para aquellas líneas que presentan la mayor frecuencia de cistosoros

Tabla 19. Análisis de Varianza para Ensayo de Resistencia al Vector

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Grado de Significancia
Repetición	1	***
genotipo	7	***

*** Diferencia Significativa

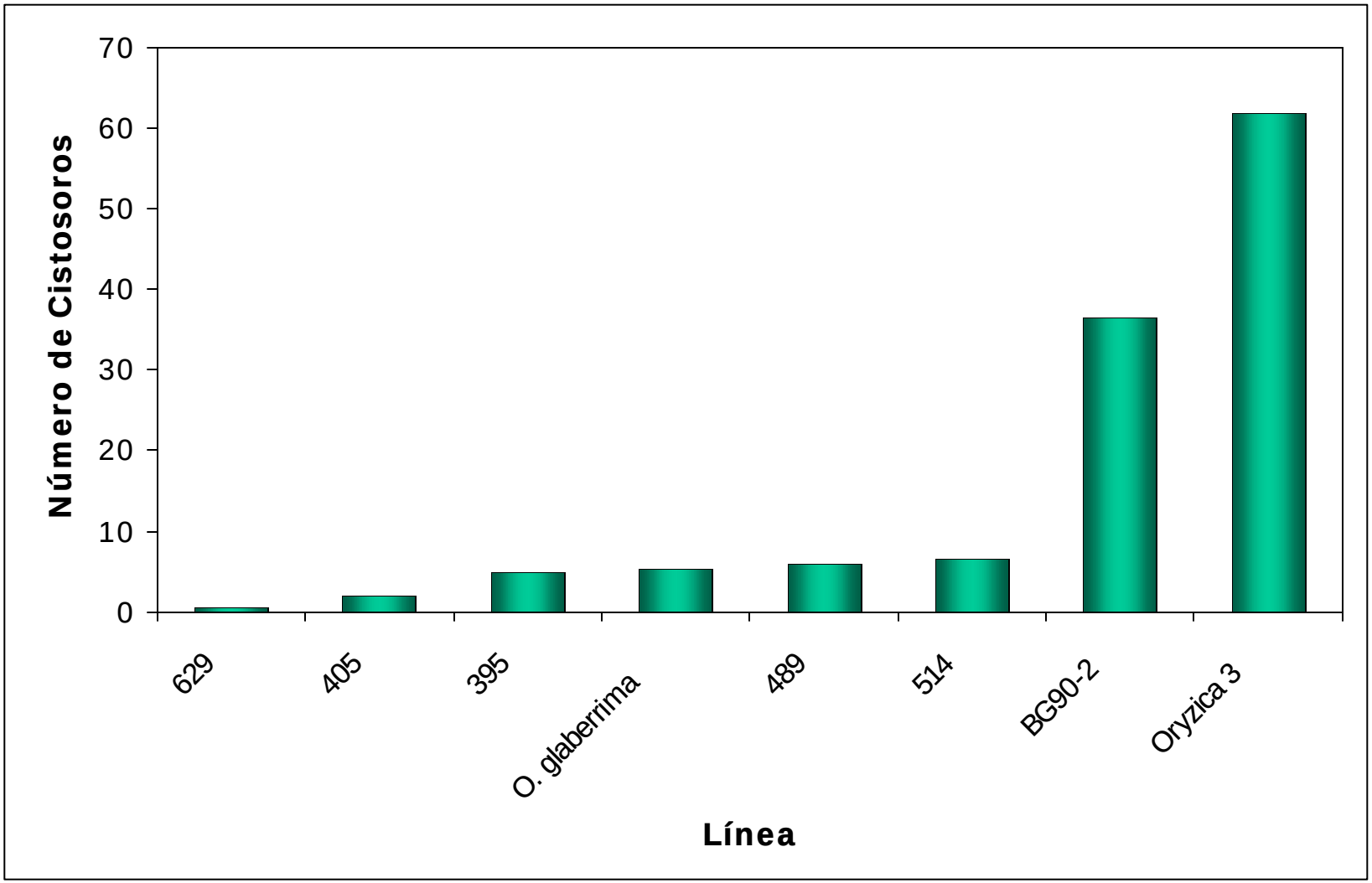
Tabla 20. Agrupamiento de DUNCAN y promedio de Área bajo la curva para el Ensayo de Resistencia al Vector

LINEA	AGRUPAMIENTO	MEDIA
Oryzica 3	A	7.95
BG90-2	AB	6.95
489 CT15150-M-106-5-2	ABC	4.63
514 CT15150-M-129-1-3	BC	3.08
395 CT15150-M-79-9-3	C	2.92
O. glaberrima	C	2.80
405 CT15150-M-79-11-4	C	2.31
629 CT15150-M-149-1-1	C	1.71

Tabla 21. Frecuencia y Porcentaje de Cistosoros

LÍNEA	Días Después de Siembra											
	10		20		30		40		50		TOTAL	
	%	FREC	%	FREC	%	FREC	%	FREC	%	FREC	%	FREC
395 CT15150-M-79-9-3	2.2	27	0	0	0	0	1.7	21	0	0	3.9	48
405 CT15150-M-79-11-4	1.6	20	0	0	0	0	0	0	0	0	1.6	20
489 CT15150-M-106-5-2	0.97	12	0.97	12	0.9	11	1.6	20	0.40	5	4.8	60
514 CT15150-M-129-1-3	0	0	0.3	4	0	0	2.0	25	2.9	37	5.3	66
629 CT15150-M-149-1-1	0.5	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0.49	6
BG90-2	4.8	59	18.8	232	0.6	7	0	0	5.3	66	29.4	364
Oryza glaberrima	2.7	34	0	0	0	0	0	0	1.6	20	4.4	54
Oryzica 3	4.9	61	30.8	381	11.6	144	0.1	1	2.6	32	50.0	619
Total	17.7	219	50.8	629	13.1	162	5.4	67	12.9	160	100	1237

%: Frecuencia / Total
Frecuencia: N^0 cistosoros en cada día evaluado



Gráfica 55. Caracterización de Poblaciones de BG90-2/*O. glaberrima* por su Resistencia al Pseudo-hongo Vector *Polymyxa graminis*

3.5 ENSAYO DE CONTROL QUÍMICO

En este modelo se consideró la aplicación del fungicida al suelo y directamente a la semilla en 5 concentraciones (0X, 1X, 5X, 10X y 50X) para cada tratamiento y con 5 repeticiones. Se utilizaron las variedades BG90-2, Caiapó, Fedearroz 50 y Oryzica 3 y tres fechas de evaluación (21, 35 y 48 días después de siembra). La concentración de 50X para el suelo, no se tuvo en cuenta para este análisis ya que las plantas no germinaron, debido a que se presentó toxicidad. Se tomaron los porcentajes de entorchamiento, rayado, enanismo, mortalidad y plantas sanas.

Como se puede ver en la Tabla 22 hubo diferencias altamente significativas entre los dos tratamientos para todos los síntomas considerados, también entre los genotipos utilizados se presentaron diferencias significativas para todas los síntomas excepto para mortalidad. La interacción genotipo x tratamiento fue significativa para el entorchamiento, el rayado y el enanismo, lo que indica que para estos síntomas los genotipos respondieron en forma diferente a los dos tratamientos. Hubo diferencias significativas entre épocas (D.D.S) y las interacciones de tratamiento x D.D.S y genotipo x D.D.S fueron también significativas para todos los síntomas, lo que indica que es necesario tener en cuenta estos factores para tomar conclusiones adecuadas.

Tabla 22. Fuentes de Variación y significancia de los Cuadrados Medios de las Variables Entorchamiento, Rayado, Enanismo, Mortalidad y Plantas Sanas para el ensayo de Control Químico al Suelo y a la Semilla

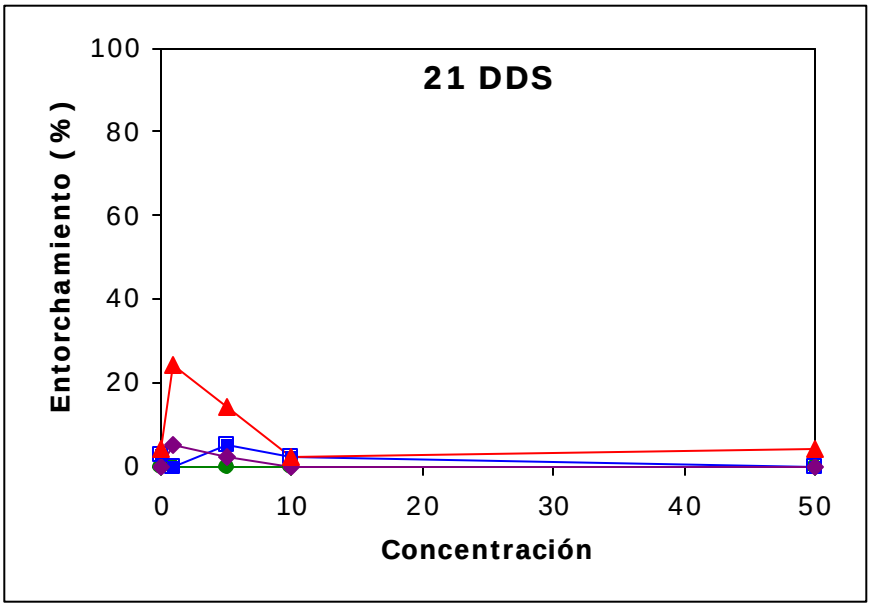
FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	Entorc	Ray	Enan	Mor	sanas
Repetición	4	***	***	***	***	***
Tratamiento	8	***	***	***	***	***
Genotipo	3	***	***	***	NS	***
Tratamiento x Genotipo	24	***	***	***	NS	NS
Repetición x (Tratamiento x Genotipo)	135	***	***	***	***	***
D.D.S	2	***	***	***	***	***
Tratamiento x D.D.S	16	***	***	***	***	***
Genotipo x D.D.S	6	***	***	***	***	***
Tratamiento x Genotipo x D.D.S	48	***	***	NS	***	NS
Repetición x D.D.S (Tratamiento x Genotipo)	241	NS	NS	NS	NS	NS

*** Signifiativo; NS: No Significativo

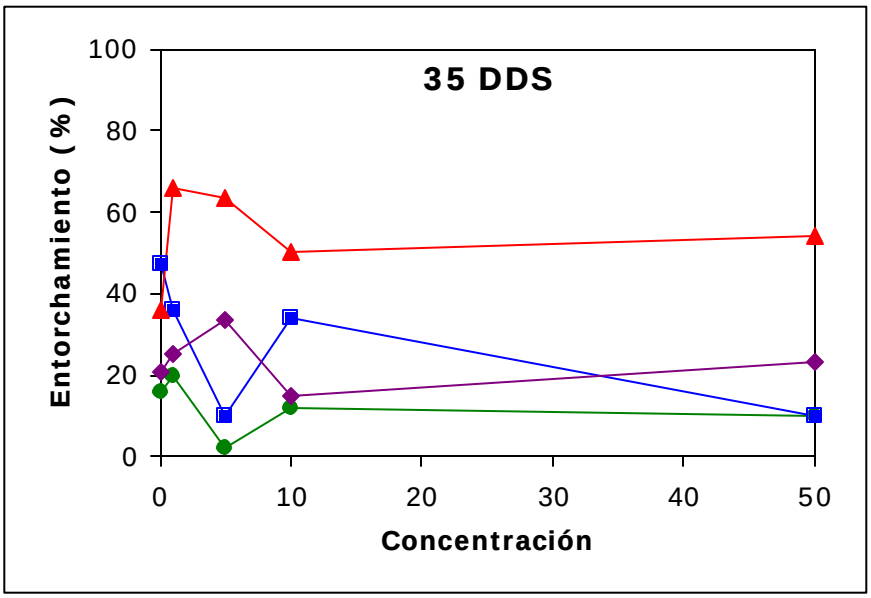
3.5.1 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE HIMEXAZOL A LA SEMILLA

3.5.1.1 Entorchamiento: A los 21 día después de siembra sólo en la variedad Oryzica 3 se presentan síntomas a concentraciones de 1X y 5X; las demás variedades aún no manifiestan el síntoma,. A los 35 días después de siembra el porcentaje de entorchamiento fue menor con concentraciones de 10X para la variedad Oryzica 3 y Fedearroz 50, para las variedades Caiapó y BG90-2 el síntoma se controló con concentraciones de 5X y 5OX. En la última evaluación para las variedades Oryzica 3 y Fedearroz 50 se observa control del síntoma con concentraciones de 1X; en la variedad Caiapó el menor porcentaje del síntoma

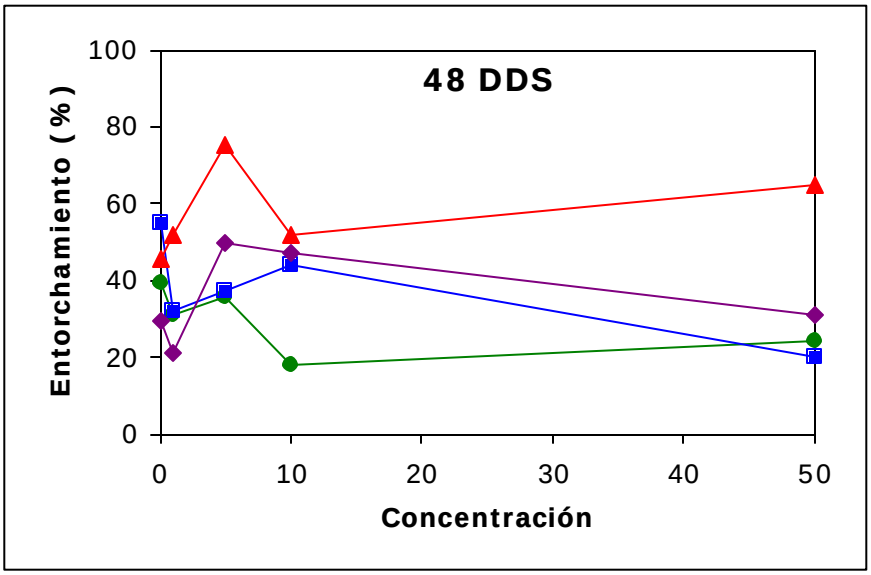
se presenta con concentraciones de 10X y para la variedad BG90-2 con concentraciones de 50X (Gráficas 56, 57, 58).



Gráfica 56. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Entorchamiento a los 21 D.D.S



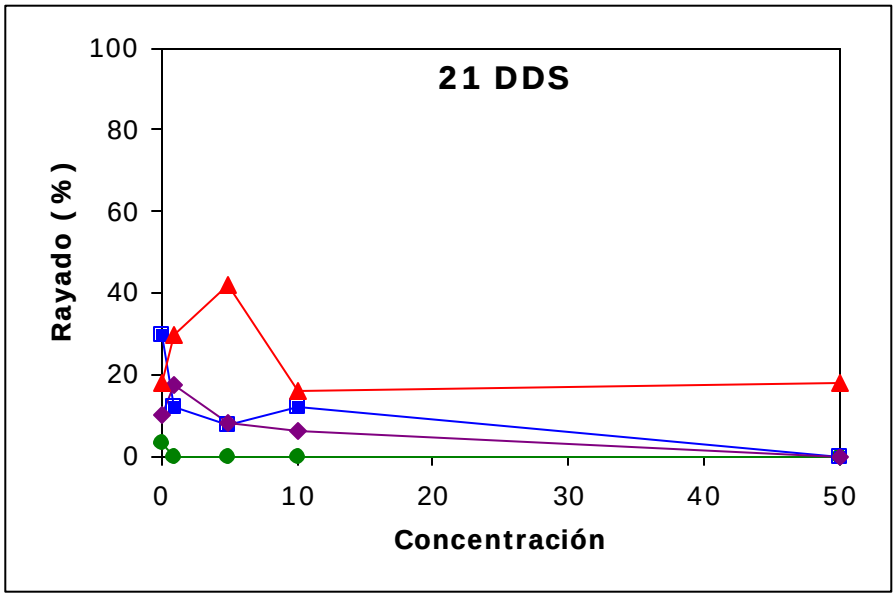
Gráfica 57. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Entorchamiento a los 35 D.D.S



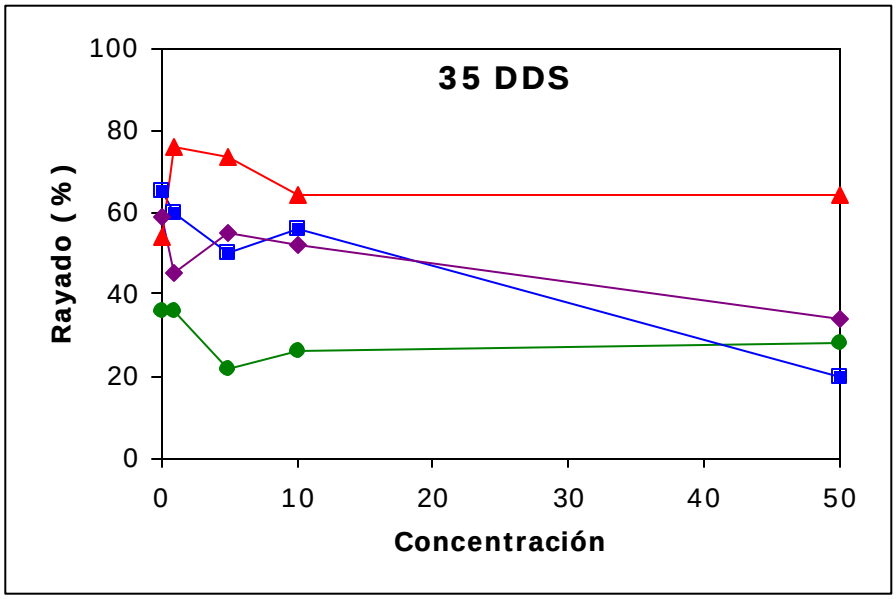
Gráfica 58. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Entorchamiento a los 48 D.D.S

3.5.1.2 Rayado: A los 21 días después de siembra en la variedad Oryzica 3 se observó un menor porcentaje del síntoma con dosis de 10X y 50X, en las variedades BG90-2 y Fedearroz 50 hay cierto control con dosis de 5X y no hay presencia del síntoma con dosis de 50X, para la variedad Caiapó no hay manifestación del síntoma con ninguna concentración. A los 35 días el porcentaje de rayado es menor en la variedad Oryzica 3 cuando no hay aplicación del tratamiento, a los 35 y 48 días hay control con dosis de 50X para todas las variedades, sin embargo también hay control a los 35 días para Fedearroz 50 con dosis de 1X, para BG90-2 con dosis de 5X y a los 48 días con concentraciones de 1X para ambas variedades.

Para la variedad Caiapó a los 35 días hay control con 5X y a los 48 con dosis de 10X (Gráficas 59, 60, 61).

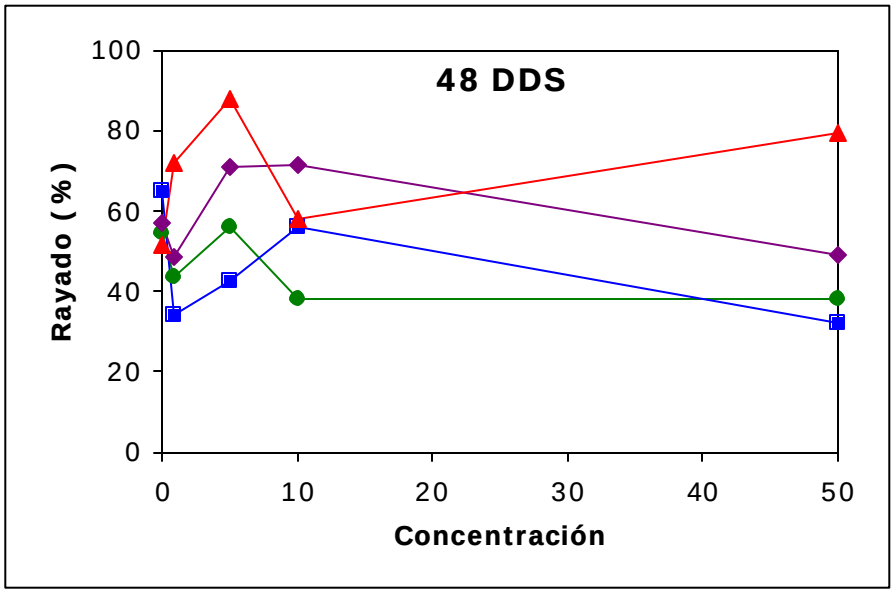


Gráfica 59. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Rayado a los 21 D.D.S



Gráfica 60. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Rayado a los 35 D.D.S

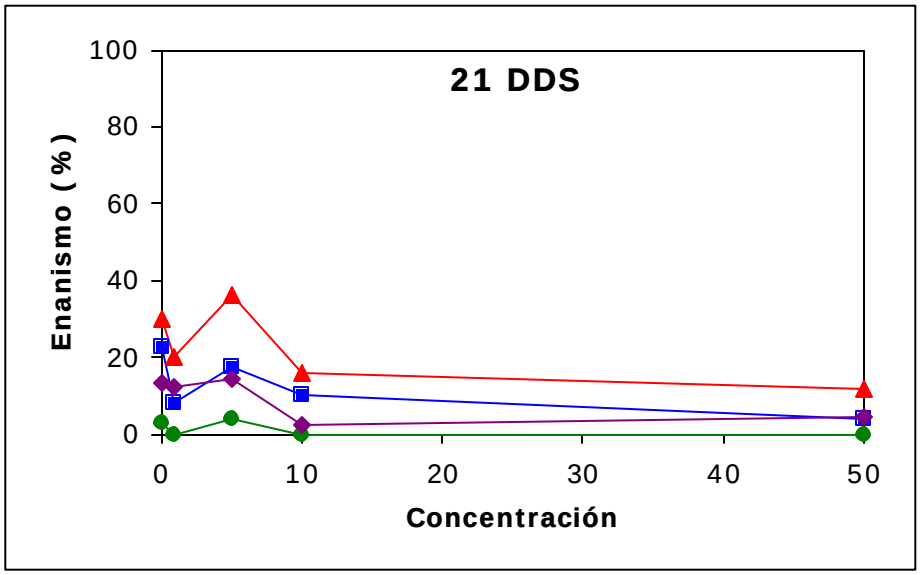
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



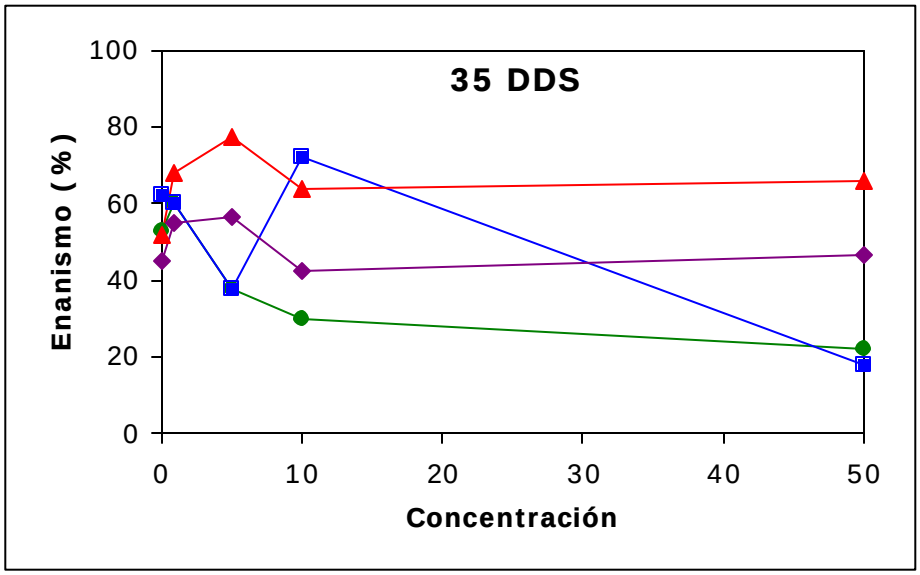
Gráfica 61. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Rayado a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.1.3 Enanismo: A los 21 días para todas las variedades hay control del síntoma con dosis de 1X, 10X y 50X, excepto la variedad Fedearroz 50 que solo presenta menores porcentajes con dosis de 10X y 50X, a los 35 días, para las variedades Oryzica 3, Fedearroz 50 y Caiapó hay menores porcentajes del síntoma con concentraciones de 10X y 50X; para la variedad BG90-2 se presenta control con dosis de 5X y 50X. A los 48 días en la variedad Oryzica 3 no hay presencia del síntoma cuando no hay aplicación del tratamiento, en la variedad Fedearroz 50 se observa control del síntoma con dosis de 1X y 50X, para las variedades Caiapó y BG90-2 se disminuye el porcentaje de manifestación del síntoma con dosis de 1X y 50 X respectivamente (Gráficas 62, 63, 64).

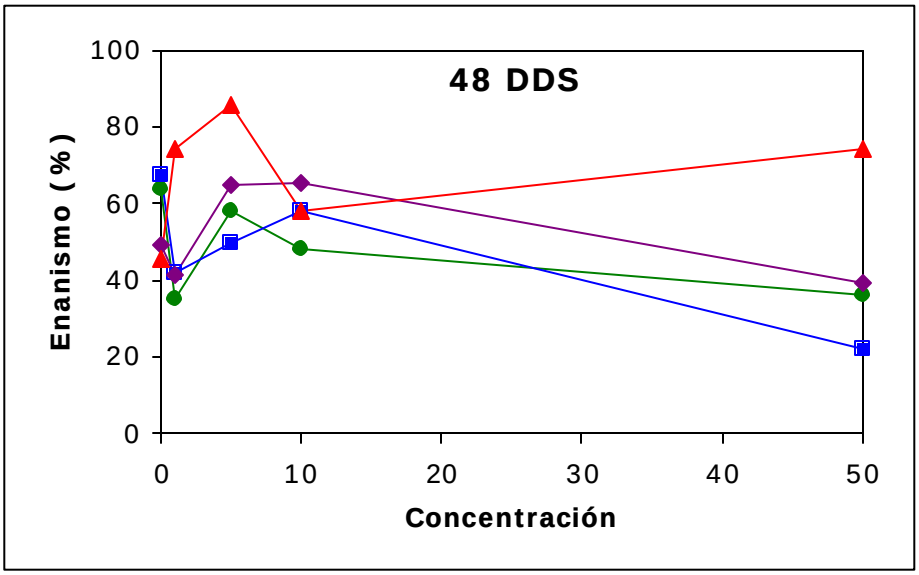


Gráfica 62. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Enanismo a los 21 D.D.S



Gráfica 63. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Enanismo a los 35 D.D.S

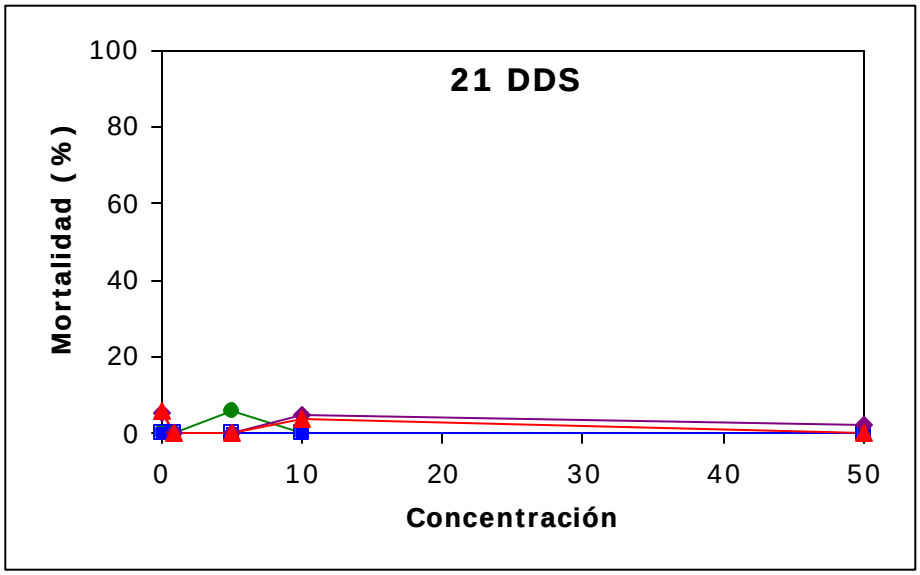
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



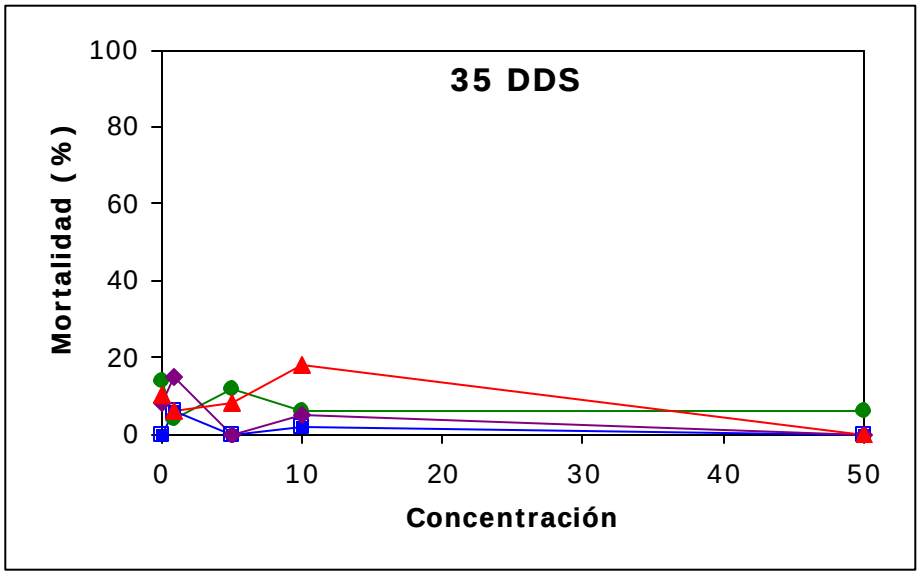
Gráfica 64. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma de Enanismo a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.1.4 Mortalidad: Para esta variable a los 21 días todas las variedades presentaron el menor porcentaje de manifestación del síntoma con dosis de 1X, 5X y 50X, a los 35 días para las variedades BG90-2 y Fedearroz 50 con dosis de 5X no se presenta mortalidad, para la variedad Caiapó hay control con concentraciones de 10X y para la variedad Oryzica 3 con dosis de 1X y 50X. A los 48 días para las variedades Fedearroz 50, Oryzica 3 y BG90-2 se presenta los menores porcentajes del síntoma con dosis de 5X y 50X, mientras que en la variedad Caiapó se observa control con dosis de 50X (Gráficas 65, 66, 67).

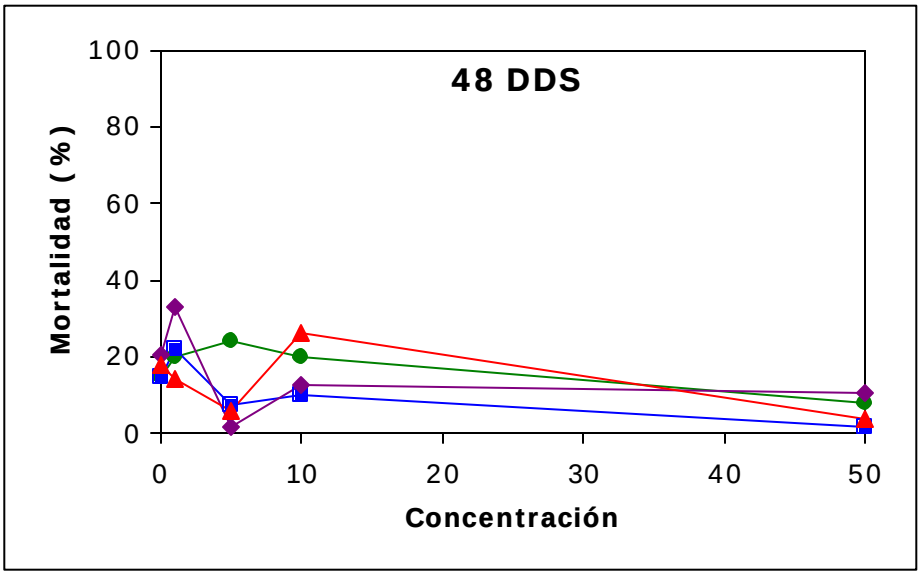


Gráfica 65. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 21 D.D.S



Gráfica 66. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 35 D.D.S

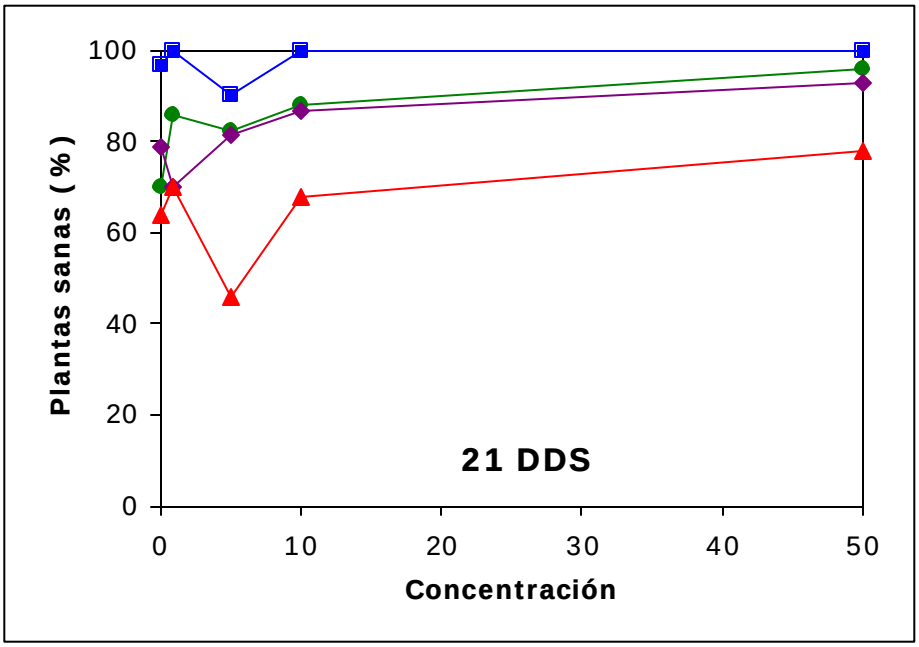
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



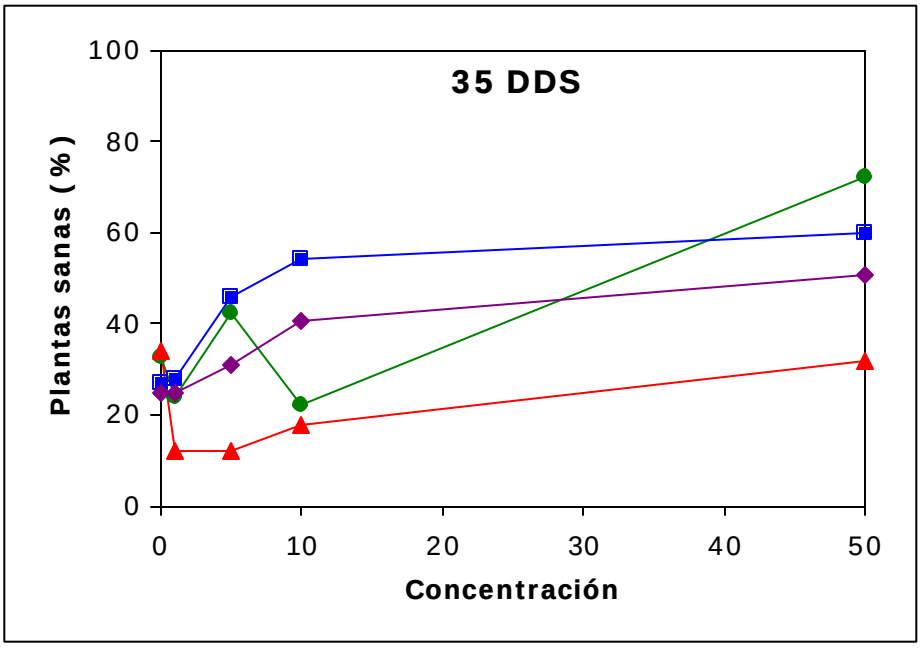
Gráfica 67. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.1.5 Plantas sanas: A los 21 días la variedad BG90-2 presenta los mayores porcentajes de plantas sanas con dosis de 1X, 10X y 50X, la variedad Oryzica 3 con dosis de 1X y 50X y las variedades Fedearroz 50 y Caiapó con concentraciones de 10X y 50X, a los 35 y 48 días se presentan los mayores porcentajes con la concentración de 50X para todas las variedades (Gráficas 68, 69, 70).

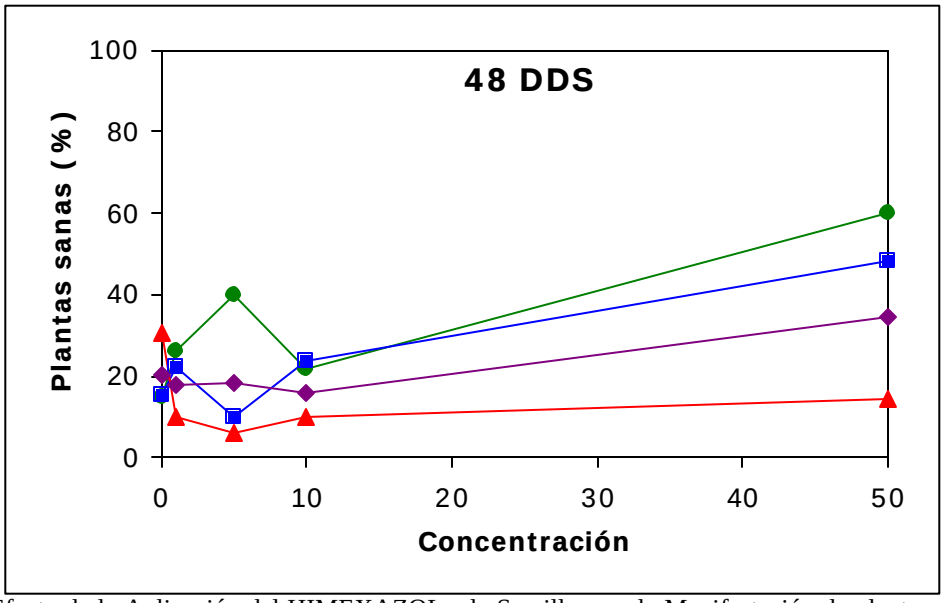


Gráfica 68. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 21 D.D.S



Gráfica 69. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 35 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



Gráfica 70. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL a la Semilla para la Manifestación de plantas sanas a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

En las figuras 4, 5, 6 y 7 se muestra el comportamiento de las variedades frente a las diferentes concentraciones del fungicida HIMEXAZOL.

Figura 4. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Caipó

Figura 5. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Fedearroz.

Figura 6. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Oryzica 3.

Figura 7. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL a la Semilla en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad BG90-2.

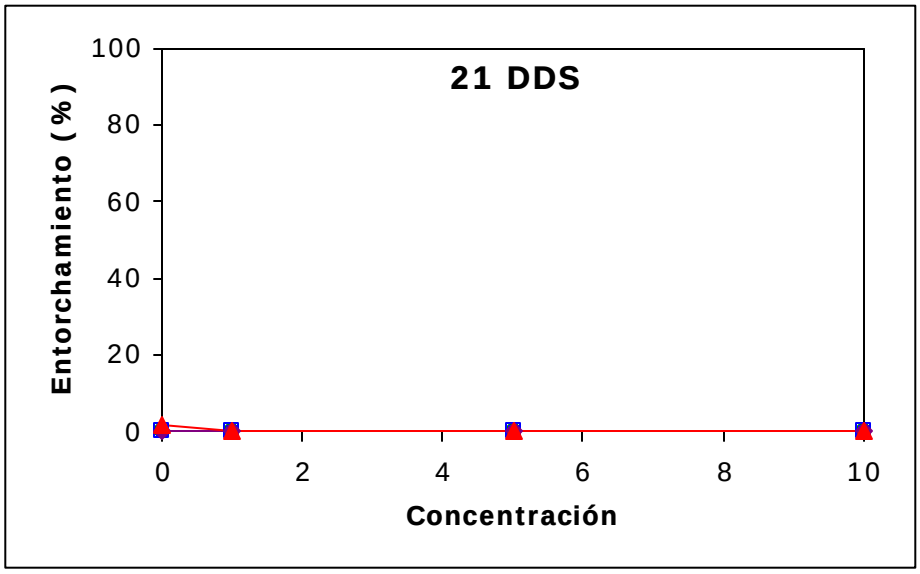
De este tratamiento se puede resaltar que la mejor época para evaluar el efecto del fungicida es la que se realiza a los 35 días ya que a los 21 días hay poca expresión de los síntomas y a los 48 días después de siembra no hay diferencias marcadas con los resultados que se obtienen a los 35 días.

No se observó ningún efecto del fungicida HIMEXAZOL en tratamiento a la semilla para el control del pseudo-hongo *Polymyxa graminis* vector del VNRA, sin embargo se encontró que con algunas concentraciones el porcentaje de los síntomas disminuía, por tal motivo para este tratamiento no se puede especificar cual es la mejor concentración para el control de los síntomas, ya que cada concentración actúa de manera diferente para cada una de las variedades y estas a su vez están cambiando con el tiempo.

3.5.2 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE HIMEXAZOL AL SUELO

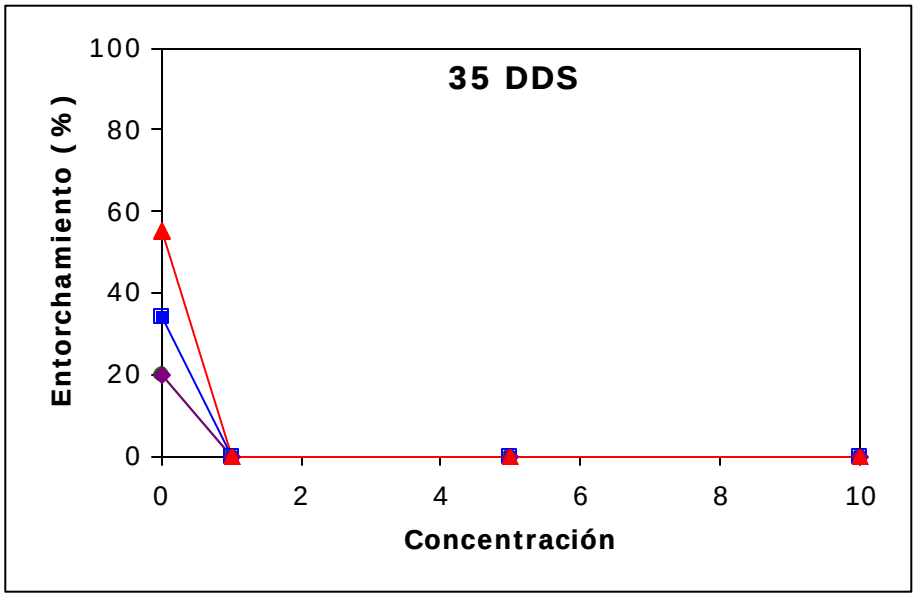
El análisis se realizó solo hasta concentraciones de 10X ya que a concentraciones de 50X las plantas no germinaron.

3.5.2.1 Entorchamiento: A los 21 días ninguna de las variedades evaluadas presentan el síntoma con ninguna de las dosis, a los 35 días todas las variedades tienen el mayor porcentaje de entorchamiento cuando no hay tratamiento y no se observa la presencia del síntoma con dosis de 1X, 5X y 10X y a los 48 días las variedades Oryzica 3, BG90-2 y Fedearroz 50 no presentan el síntoma con dosis de 1X, 5X y 10X.La Variedad Caiapó presenta el mayor porcentaje de entorchamiento cuando no hay tratamiento, con dosis de 1X y 5X no hay presencia del síntoma, sin embargo con dosis de 10X vuelve a manifestarse (Gráficas 71, 72, 73).

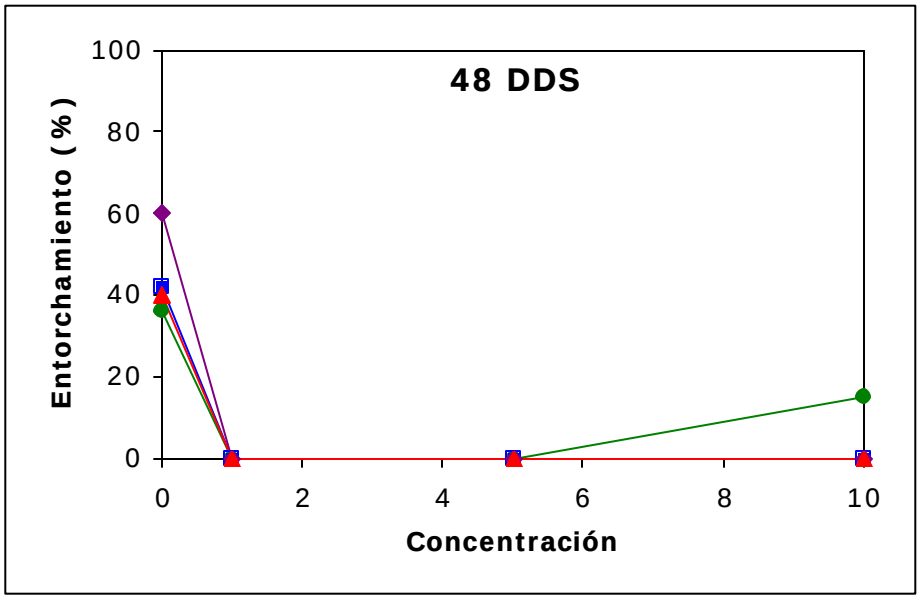


Gráfica 71. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Entorchamiento a los 21 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



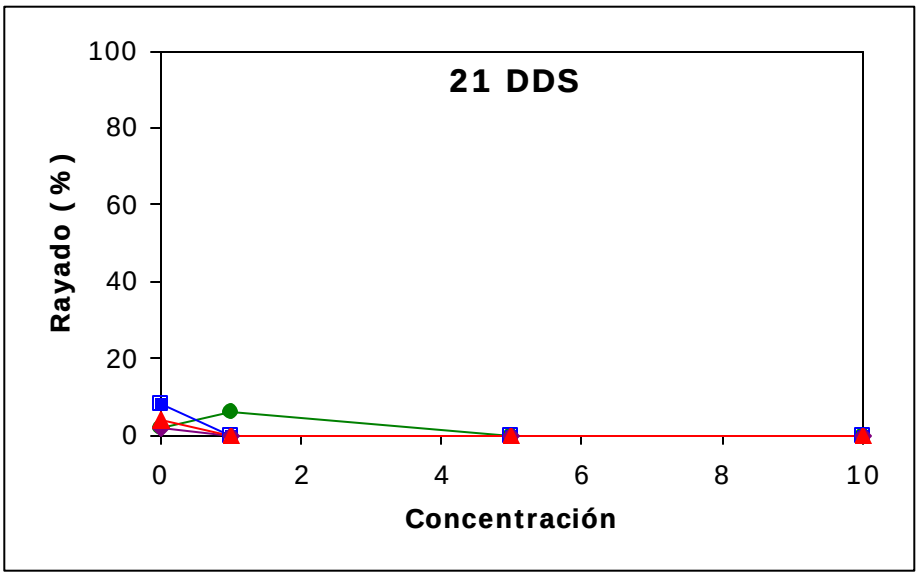
Gráfica 72. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Entorchamiento a los 35 D.D.S



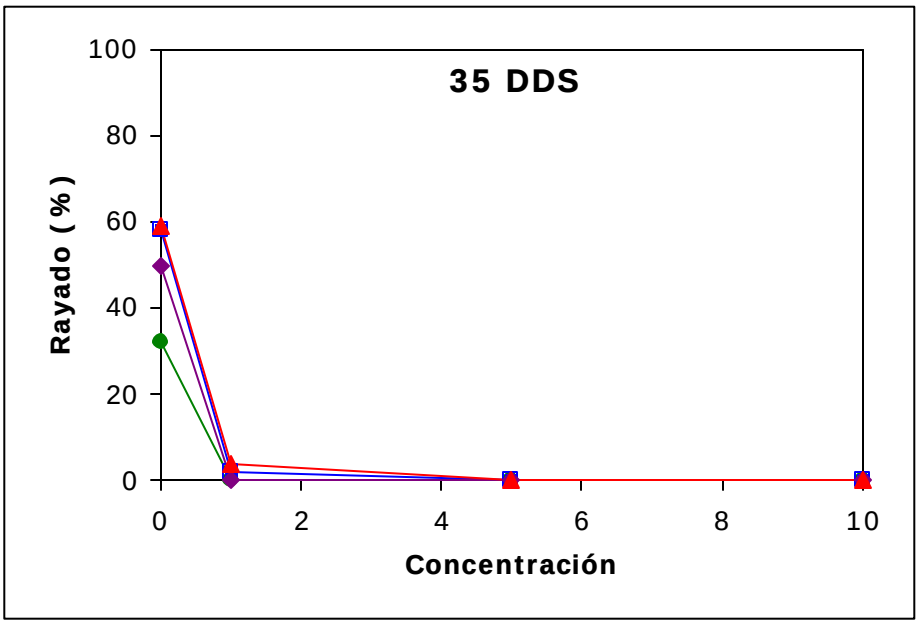
Gráfica 73. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Entorchamiento a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.2.2 Rayado: A los 21 días las variedades Oryzica 3, BG90-2 y Fedearroz 50 no presentan el síntoma con dosis de 1X, 5X y 10X, en la Variedad Caiapó no hay manifestación del síntoma cuando no hay tratamiento y con dosis de 5X y 10X, a los 35 y 48 días en todas las variedades disminuye la manifestación del síntoma con concentraciones de 1X y con dosis de 5X y 10X no presentan el síntoma, excepto la Variedad Caiapó que vuelve a manifestar el síntoma con dosis de 10X a los 48 días (Gráficas 74, 75, 76).

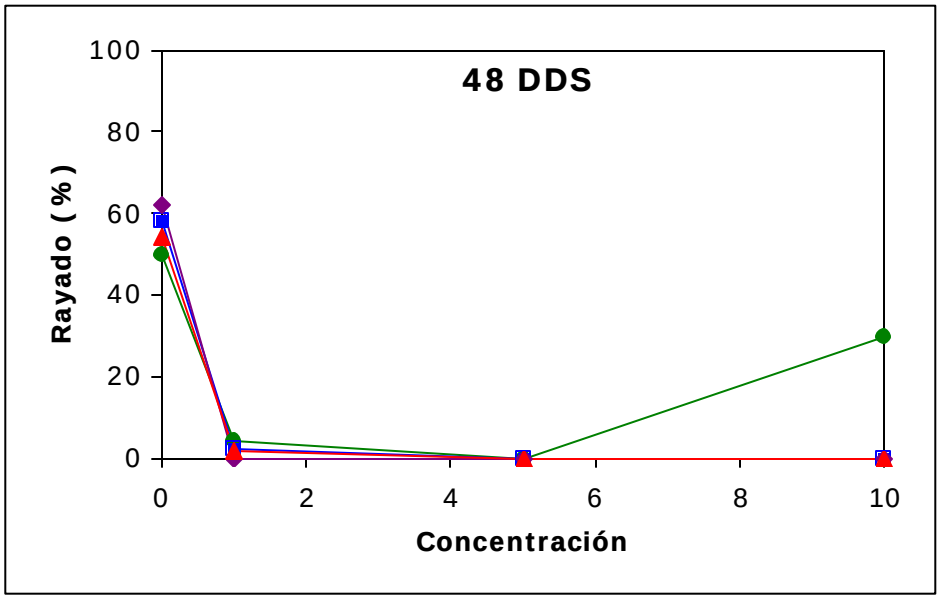


Gráfica 74. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Rayado a los 21 D.D.S



Gráfica 75. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Rayado a los 35 D.D.S

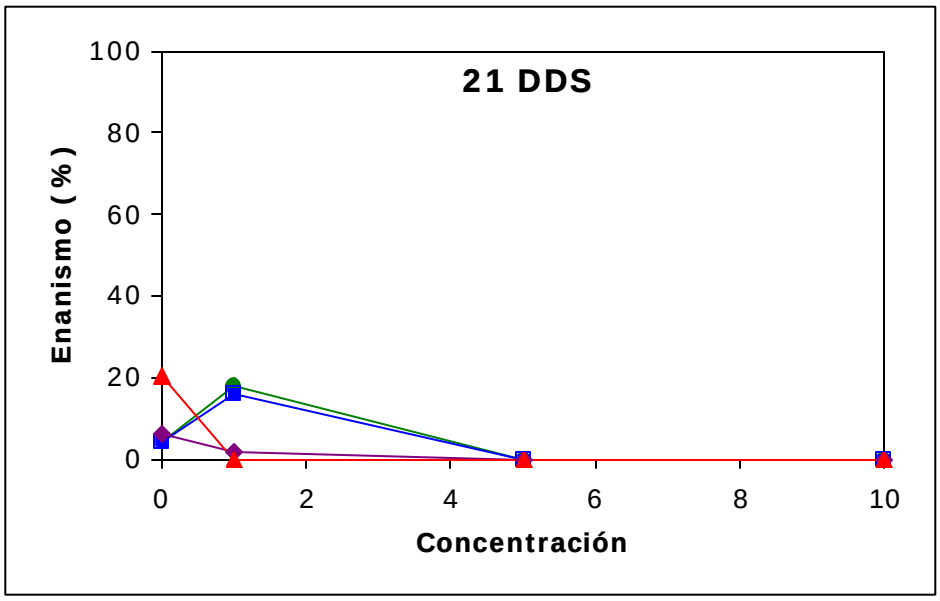
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



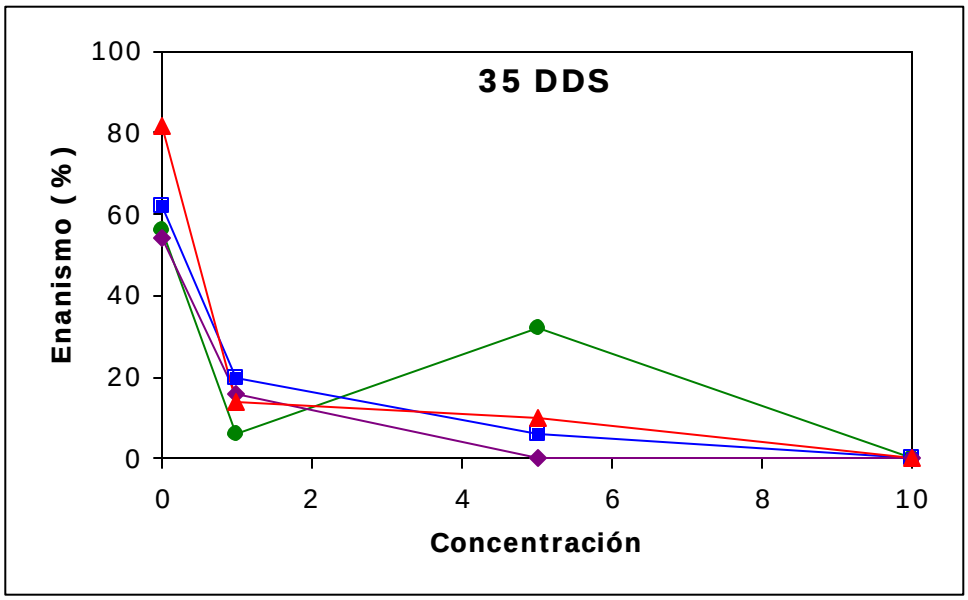
Gráfica 76. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Rayado a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.2.3 Enanismo: A los 21 días en la variedad Oryzica 3 no hay manifestación del síntoma con dosis de 1X, 5X y 10X, en las variedades BG90-2 y Caiapó con dosis de 5X y 10X no hay manifestación del síntoma, en la variedad Fedearroz 50 hay control a partir de concentraciones de 1X, a los 35 días en todas las variedades disminuye el porcentaje de enanismo con dosis de 1X y con dosis de 10X ninguna presenta el síntoma, a los 48 días con dosis de 1X hay control del síntoma en todas las variedades, para dosis de 5X Oryzica 3 Fedearroz 50 y Caiapó no manifiestan el síntoma (Gráficas 77,78,79).

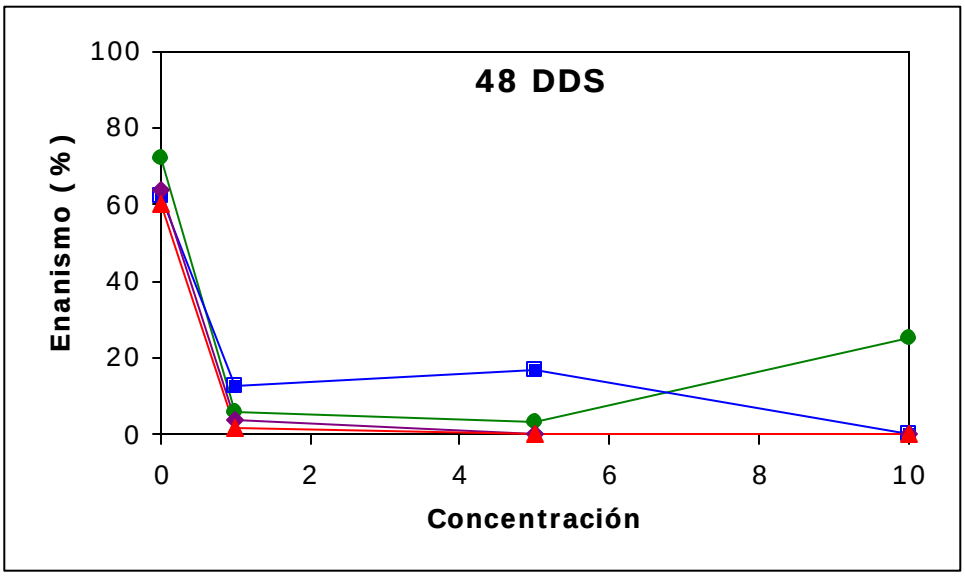


Gráfica 77. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Enanismo a los 21 D.D.S



Gráfica 78. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Enanismo a los 35 D.D.S

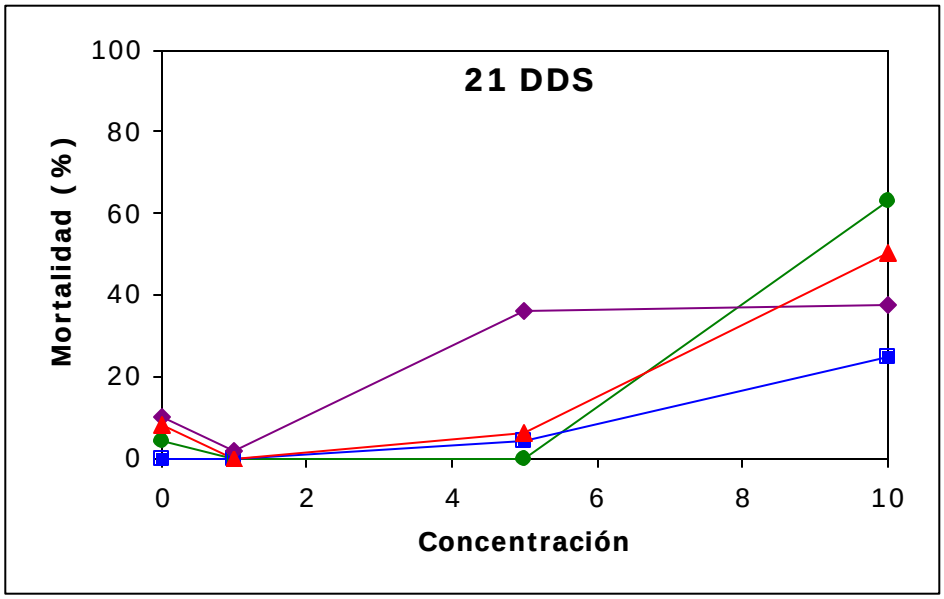
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



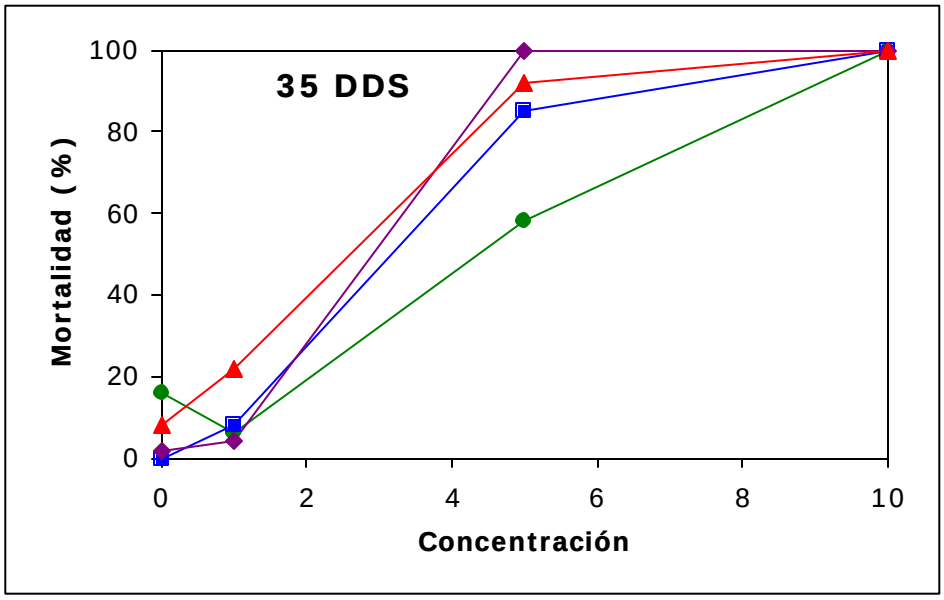
Gráfica 79. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Enanismo a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.2.4 Mortalidad: A los 21 días todas las variedades presentan porcentajes bajos de mortalidad cuando no hay aplicación del tratamiento, con dosis de 1X y 5X ninguna variedad presenta porcentajes de mortalidad excepto Fedearroz 50, para dosis de 10X todas las variedades presentan altos porcentajes de mortalidad. A los 35 días todas las variedades presentan bajos porcentajes de mortalidad cuando no hay tratamiento y con concentraciones de 1X; para dosis de 5X y 10X se presenta el mayor porcentaje de mortalidad. A los 48 días para todas las variedades el menor porcentaje de mortalidad se observa con dosis de 1X, pero con concentraciones de 5X y 10X este porcentaje aumenta significativamente debido a un efecto de toxicidad (Gráficas 80, 81, 82).

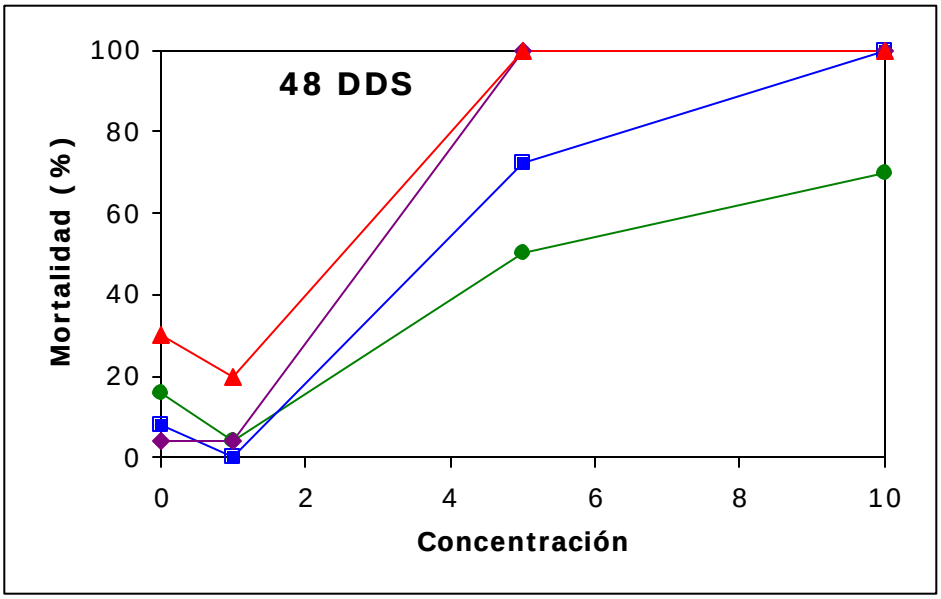


Gráfica 80. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 21 D.D.S



Gráfica 81. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 35 D.D.S

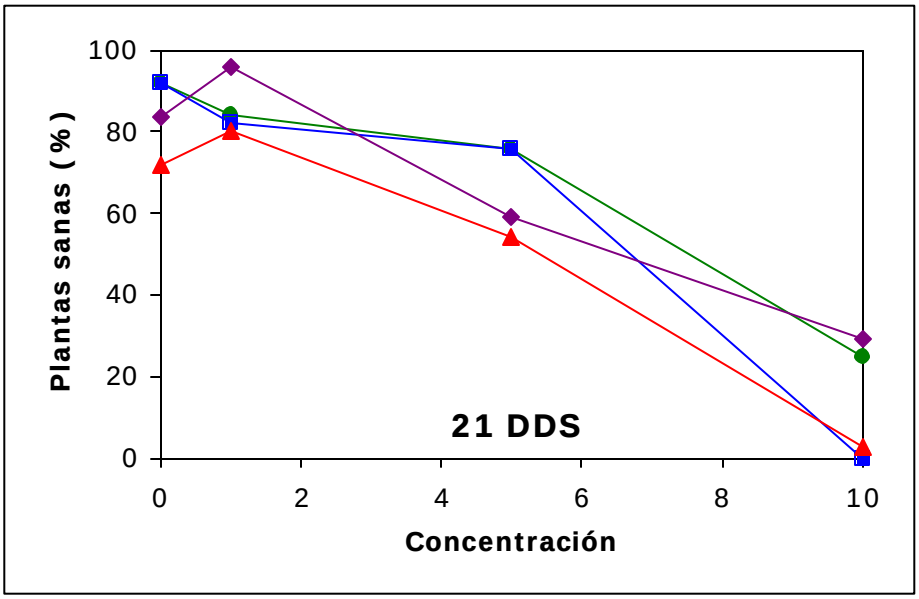
Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



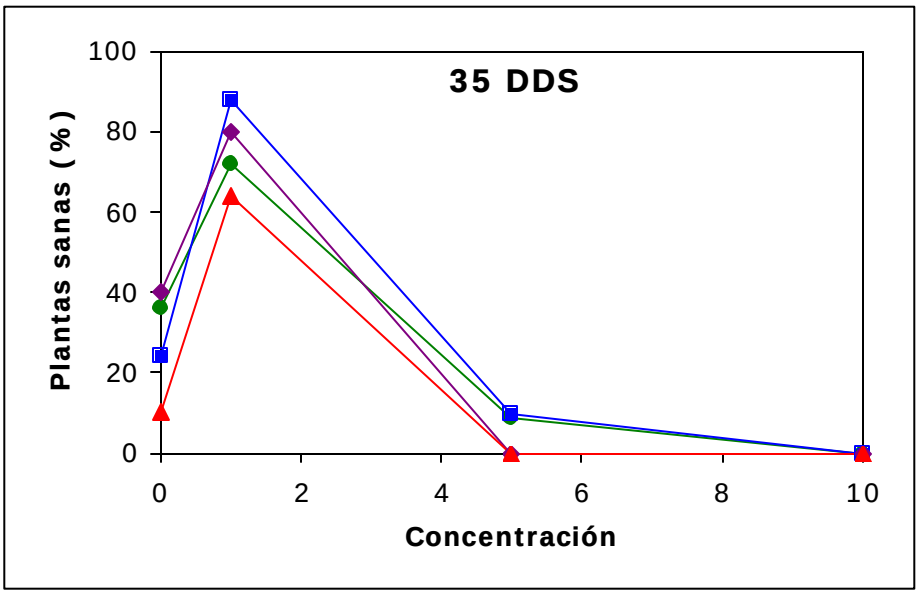
Gráfica 82. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para la Manifestación del síntoma Mortalidad a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

3.5.2.5. Plantas sanas: A los 21 días para las variedades Caiapó y BG90-2 el mayor porcentaje de plantas sanas se obtiene cuando no hay aplicación del tratamiento, a partir de concentraciones de 5X este porcentaje empieza a disminuir y en concentraciones de 10X se presenta el menor porcentaje de plantas sanas en todas las variedades, a los 35 días y 48 día todas las variedades alcanzan su mayor porcentaje con dosis de 1X, para la dosis de 5X disminuye dicho porcentaje y en concentraciones de 10X todas tienen el 0% de plantas sanas (Gráficas 83, 84, 85).

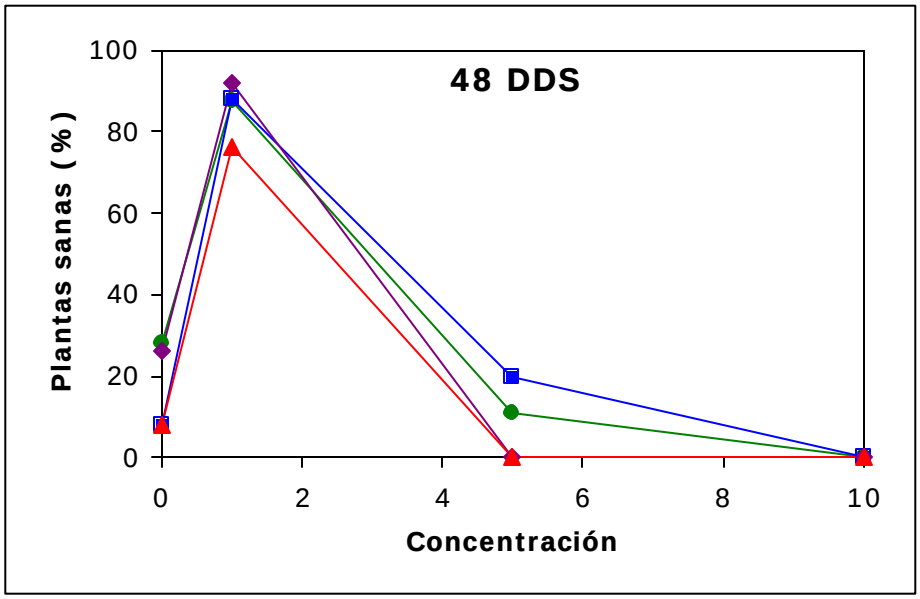


Gráfica 83. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para plantas sanas a los 21 D.D.S



Gráfica 84. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para plantas sanas a los 35 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3



Gráfica 85. Efecto de la Aplicación del HIMEXAZOL al Suelo para plantas sanas a los 48 D.D.S

Caiapo Bg90-2 Fedearroz 50 Oryzica 3

En las figuras 8, 9, 10 y 11 se muestra el comportamiento de las variedades frente a las diferentes concentraciones de fungicida HIMEXAZOL

Figura 8. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Caiapó

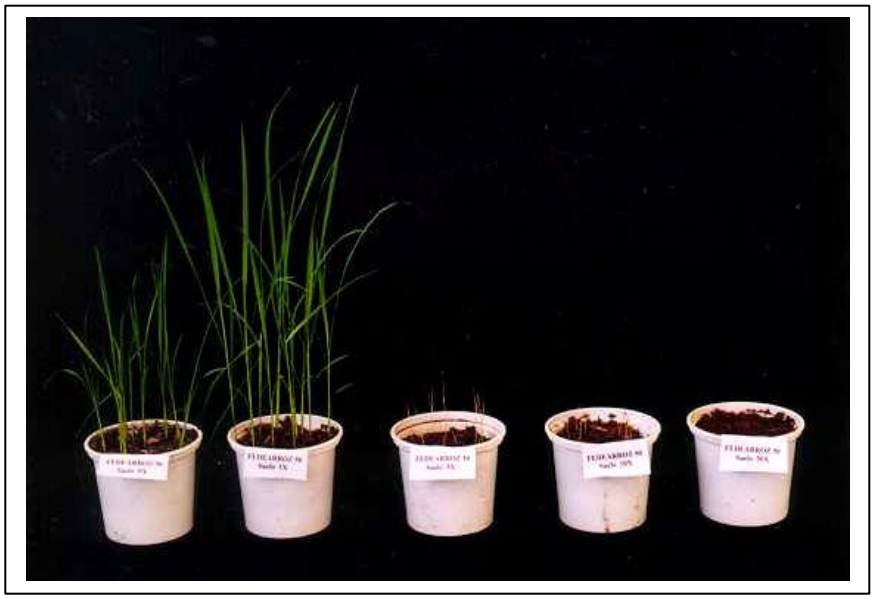


Figura 9. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Fedearroz

Figura 10. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad Oryzica 3

Figura 11. Aplicación del Fungicida HIMEXAZOL al suelo en dosis de 0X, 1X, ,5X , 10X y 50X en la Variedad BG90-2.

Al igual que en el tratamiento anterior la mejor época para evaluar el efecto del fungicida es la que se realiza a los 35 días.

Como se puede observar en las figuras anteriores del ensayo de aplicación del fungicida al suelo se presentó un grado de toxicidad y mortalidad de plantas a partir de concentraciones de 5X, el mayo control se observa con dosis de 1Xen todas las variables evaluadas, sin embargo, se recomienda realizar ensayos a nivel de campo, para corroborar dicha información.

CONCLUSIONES

- En la siembra directa (método 1) de inoculación del VNRA hubo una mayor manifestación de los síntomas de la enfermedad (entorchamiento, rayado, enanismo), mientras que en el método de transplante (método 3), el mayor índice fue para el síntoma de mortalidad, debido probablemente al estrés al que fueron sometidas las plantas al momento del transplante. Además en el método de siembra directa el manejo de la siembra es mas sencilla que en transplante. Con base en estas observaciones se concluyó que el método de siembra directa es el mejor para hacer evaluaciones de la resistencia al virus.

- El momento óptimo para la evaluación de síntomas se determinó a los 34 días después de la siembra (tercera evaluación), ya que en esta fecha los porcentajes de los síntomas fueron altos y suficientes para discriminar el efecto del método. Evaluaciones posteriores no incidieron en la determinación de cada síntoma.

- Utilizando el método de siembra directa se pudo seleccionar líneas resistentes al virus. En 1230 líneas evaluadas sólo 16 resultaron resistentes, que representan el 1.3% de la población, en la comprobación de la resistencia o susceptibilidad, solamente 9 líneas quedaron al final resistentes las cuales representan el 0.73%. Estas líneas fueron 299, 303, 395, 405, 489, 513, 514, 810, 1004. El uso de una sola repetición puede permitir sin embargo escapar a la infección y a una mala selección.

- *O. glaberrima* mostró su alta resistencia al Virus de la Necrosis Rayada del Arroz en todas las evaluaciones durante todos los ensayos, mientras que la variedad BG90-2 usada también como progenitor tuvo un comportamiento intermedio frente a la enfermedad. La identificación de líneas altamente resistentes demuestra que la resistencia de *O. glaberrima* al VNRA se transfirió a la especie *O. sativa.*

- Se detectaron líneas resistentes al VNRA provenientes del segundo retrocruzamiento (RC_2F_5), pero no en líneas del tercer retrocruzamiento. Esto sugiere que al realizar el tercer retrocruzamiento se debe seleccionar por resistencia al VNRA antes de realizar selección por otros caracteres.

- Con la Variedad Oryzica 3 utilizada como testigo susceptible se pudo demostrar que el suelo, la metodología y los días en que se evaluó la enfermedad eran apropiados, ya que esta siempre manifestó altos índices de la enfermedad.

- Para el ensayo de resistencia al vector la variedad Oryzica 3 usada como testigo susceptible fue la que presentó un mayor número de cistosoros y desarrollo de síntomas, lo que indica que esta variedad es altamente susceptible tanto al pseudo-hongo vector como al virus.

- Las líneas seleccionadas por su resistencia al VNRA y usadas para el ensayo de resistencia al vector, mostraron un porcentaje muy bajo de cistosoros comparado con el testigo susceptible Oryzica 3. Esto sugiere que la resistencia al VNRA pueda ser debida

a una resistencia al vector y no necesariamente al virus. Igualmente la especie silvestre *O. glaberrima* mostró un porcentaje bajo de cistosoros.

- No se observó ningún efecto del funguicida HIMEXAZOL en tratamiento a la semilla para el control del pseudo-hongo *Polymyxa graminis* vector del VNRA.

- El funguicida HIMEXAZOL solo mostró efecto en el control del pseudo-hongo vector del VNRA al suelo sin presentar mortalidad significativa de plantas a concentraciones de 1X (1ml HIMEXAZOL + 199 ml H20). Con concentraciones de 5X o mayores se presentó una alta toxicidad y mortalidad de plantas.

5. RECOMENDACIONES

- Para la evaluación y selección de líneas resistentes al VNRA se recomienda utilizar el método 1 de siembra directa de semilla seca sobre suelo altamente infestado con el vector *Polymyxa graminis*. La evaluación y selección de líneas resistentes para los diferentes síntomas de la enfermedad debe hacerse a los 50 días después de la siembra.

- Debido a que la resistencia al VNRA se ha transmitido eficientemente de la especie silvestre *O. glaberrima* a la especie cultivada *O. sativa* se recomienda hacer una evaluación de las líneas seleccionadas en este estudio bajo condiciones de campo para corroborar dicha resistencia antes de ser utilizadas como progenitores.

- Debido a la alta resistencia al pseudo-hongo vector *Polymyxa graminis* observada tanto en las líneas resistentes al desarrollo del síntoma del VNRA como de la especie *O. glaberrima*, se recomienda realizar estudios adicionales para determinar si la resistencia es al vector solamente o al virus también.

- Aunque el tratamiento más efectivo para el control de todos los síntomas de VNRA fue aplicación al suelo en dosis 1X, se recomienda que la evaluación del producto se realice bajo condiciones de campo con diferentes concentraciones, ya que a nivel de invernadero se observó una alta toxicidad y mortalidad de plantas en concentraciones de 5X – 50X.

6. BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA N.; et al. Algo mas sobre el Entorchamiento del Arroz. ASCOLFI Informa. 1997. 23(3): 19-23

ADAMS. M. J.; SWABY. A. G y MACFARLANE I. The susceptibility of barley cultivars to barley yellow mosaic virus (BaYMV) and its fungal vector, *Polymyxa graminis.* Annals of Applied Biology. Gran Bretaña. 1986. p: 561-572.

AGRIOS, G. Plant pathology. San Diego, California. 1997. p: 248-249.

AGUDELO, N; ACOSTA , N Y ACOSTA N. Evaluación de *Pratylenchus* sp y *Rhopalosiphum rufiabdominalis* como factores predisponentes al entorchamiento del arroz. Ascolfi Informa 27 (4). Colombia 2001. p: 26-28

BASTIDAS, H y MONTEALEGRE, F.,A. Aspectos generales de la nueva enfermedad del arroz llamada entorchamiento. Revista Arroz 43. 1994. p: 30-35.

BARR, D. J. S. Morphology and host range of *Polymyxa graminis, Polymyxa betae* and *Ligniera pilorum* from Ontario and some other areas. Canadian Journal of Planth Pathology. 1979. p: 85-94.

CARRILLO, D.; CORREA. F. Confirmación de la transmisión del entorchamiento del arroz por el pseudo-hongo *Polymyxa* graminis en Colombia. XVIII Congreso Fitopatología Biodiversidad y Micorrizas. Memorias. Palmira.1997 p. 45.

_____.Manual metodológico para la evaluación de resistencia al entorchamiento bajo condiciones de invernadero. 1998. p:18.

CHEN, J.; SWABY. A. G. Y ADAMS, M.J. Barley mild mosaic virus incide its fungal vector, *Polymyxa graminis*. Annals of Applied Biology. Gran Bretaña. 1991. p: 615-621.

CIAT. Annual Report, Project IP – 4: Improved rice germplasm for Latin America and the caribbean. Rice Stripe Necrosis Virus (VNRA). 1998. p: 122.

CIAT. Informe Anual, Proyecto IP – 4: Mejoramiento del Germoplasma de Arroz para América Latina y el Caribe. 2000. p: 150.

FONDO NACIONAL DEL ARROZ. Arroz en Colombia. Santa fe de Bogotá. 2001.

MORALES, F. J.; ARROYAVE, J. A.; VELASCO, A. C.;CASTAÑO, M. Caracterización Parcial de “Entorchamiento” o “Necrosis Rayada” del Arroz en Colombia. Fitopatología Colombiana. V 19. 1995. p: 48-54.

MORALES, F. J.; ARROYAVE, J. A.; VARON, F.; ACOSTA, N. “Entorchamiento” una Nueva Enfermedad Viral del Arroz en Colombia. ASCOLFI. V: 21. 1995. p: 52-54.

MORALES, F. El Entorchamiento del Arroz: Un Modelo para el Manejo Integrado de Enfermedades Virales. Foro Arrocero Latinoamericano. V:7. 2001. p:12-14..

PARDO G. F.; MUÑOZ, D. Agente causal del entorchamiento en el cultivo del arroz en los Llanos Orientales. Revista Arroz.. 43 (392). 1994. p: 16-22.

PRADO G. Estudio sobre la reproducción del pseudo-hongo *Pyricularia grisea* (Sacc) en cultivos de arroz en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 1994.

RATNA, A. S. et al. Studies on transmission of Indian peanut clump virus disease by *Polymyxa graminis*. Annals of Applied Biology. 1990. p: 71-78

RESTREPO, A. Nueva Enfermedad del Arroz. Revista Arroz V: 18. 1969. p: 19-20.

REYES, L.A.; HOLGUIN, J.E. Diagnóstico del Entorchamiento (*Polymyxa graminis*) en el Cultivo de Arroz en el Valle del Cauca. Correo Fedearroz. V:109. 2000. p: 4-5.

http:// www.agrocadenas.gov.co/arroz/arroz_descripcion.htm. Cadena Arroz. Santa Fe de Bogotá. Mayo. 2002.