

MÉTODOS DE EVALUACIÓN Y REACCIÓN DE CULTIVARES PARA RESISTENCIA AL AÑUBLO DE LA VAINA DEL ARROZ CAUSADO POR *Rhizoctonia solani* AG-1 IA

Alex González-Vera¹, Eduardo Graterol¹, Brígida Borges¹ y Francis Hernández¹

RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.) en Venezuela, es afectado por el añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* (Teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris*). No existe resistencia completa ante esta enfermedad. Por ello, los programas de mejoramiento genético deben evaluar un alto número de cultivares para seleccionar aquellos cuantitativamente mejores en resistencia. Los objetivos fueron comparar métodos de evaluación de resistencia y la reacción de cultivares para resistencia al añublo de la vaina del arroz causado por *R. solani* AG-1 IA. Los métodos de evaluación usados fueron microcámaras y bola de micelio en umbráculo, la prueba de cinetina en laboratorio y la infestación con arroz colonizado bajo condiciones de campo. Se evaluaron 23 genotipos de arroz, incluyendo variedades testigo. Tres haplotipos de *R. solani*, previamente caracterizados, fueron utilizados para las inoculaciones. Los ensayos fueron de bloques completos al azar con tres repeticiones. La efectividad de los ensayos se determinó con base a la discriminación de los testigos de reacción conocida y a la mejor correlación de los métodos de laboratorio y umbráculo con los resultados de campo. El método de microcámaras, combinado con el aislado de *R. solani* A5B4 (64), presentó la mejor correlación con los resultados de campo ($r = 0,50$ en promedio), seguido por el método de bola de micelio ($r = 0,49$, promedio). Los cultivares testigo 'Tetep' (resistente) y 'Lemont' (susceptible) fueron consistentes en los ensayos. El análisis de componentes principales identificó los genotipos CT15150-M-11-4-3-2-M (derivado de un cruce con *O. glaberrima*), 'SD20A' y 'D-Sativa' con los mejores niveles de resistencia. Estos resultados indican la existencia de métodos confiables para evaluar el añublo de la vaina y de cultivares adaptados con resistencia a la enfermedad.

Palabras clave adicionales: *Oryza sativa*, *Thanatephorus cucumeris*, inoculación, métodos.

ABSTRACT

Evaluation methods and cultivars reaction for resistance to the rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IA

The rice (*Oryza sativa* L.), in Venezuela, is affected by sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* (teleomorph = *Thanatephorus cucumeris*). No complete resistance has been found in the world. In consequence, breeding programs should evaluate many cultivars for selecting those with the best quantitative level of resistance. The objectives were to compare methods of evaluation and cultivars reaction for resistance to the sheath blight caused by *R. solani* AG-1 IA. The evaluation methods were microchamber and mycelium ball in greenhouse conditions, kinetin test in laboratory and colonized rice infestation under field conditions. The cultivars were 23 genotypes of rice, including control varieties. Three haplotypes of *R. solani*, previously characterized, were used for the inoculations. The experimental designs were randomized complete block with three replications. The effectiveness of the trials was determined based on the discrimination of controls with well-known reaction and the best correlation of the laboratory and greenhouse methods with the field results. The method of microchamber using the isolate A5B4 (64) had the best correlation with field results ($r = 0.50$ on average), followed by the method of ball mycelium ($r = 0.49$, on average). The control cultivars 'Tetep' (resistant) and 'Lemont' (susceptible) were consistent across the experiments. The principal component analysis identified the genotypes CT15150-M-11-4-3-2-M (derived from a cross with *O. glaberrima*), 'SD20A' and 'D-Sativa' with the best levels of resistance. These results indicate the existence of reliable methods to evaluate this disease and adapted cultivars with resistance to rice sheath blight.

Additional key words: *Oryza sativa*, *Thanatephorus cucumeris*, inoculation, methods

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los

cultivos más importantes en Venezuela. Es afectado por el añublo de la vaina, enfermedad identificada por primera vez a mediados del siglo

Recibido: Marzo 17, 2010

Aceptado: Septiembre 24, 2010

¹ Fundación para la Investigación Agrícola Danac. Apdo. 182. San Felipe, estado Yaracuy. Venezuela. e-mail: alex.gonzalez@danac.org.ve

veinte (Malaguti, 1951). Dicha enfermedad es causada por el hongo de suelo *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Anam: *Rhizoctonia solani* Kühn) (Ogoshi, 1987). Las cepas de *R. solani* que afectan el arroz en Venezuela han sido caracterizadas dentro del grupo AG-1 IA mediante anastomosis hifal (Cedeño et al., 1996) y microsatélites (González-Vera et al., 2010). Los síntomas del añublo de la vaina del arroz se presentan en las plantas en estado de macollamiento tardío y comienzos de la floración. En campo, los síntomas de la enfermedad se observan cerca de la línea del nivel del agua donde germinan los esclerocios, que constituyen la fuente de inóculo primaria (Rush y Lee, 1992). Las lesiones son inicialmente de color verde pálido, posteriormente presentan un color blanco grisáceo semejante a la paja seca, con borde marrón rojizo a púrpura (Cedeño et al., 1996). Las lesiones pueden coalescer, afectando la vaina, hojas y tallos y puede dispersarse por contacto a plantas adyacentes en el campo para formar grandes parches de tizón. En los últimos años se han presentado severos ataques en algunas plantaciones, especialmente en el estado Guárico, con una disminución del rendimiento que oscila entre el 5 y 50 % (Rodríguez et al., 1999).

El hongo *R. solani* se puede diseminar principalmente a través de semillas, del agua de riego, restos de cosecha, hospedantes alternos y maquinarias. Por ser un hongo de suelo, con producción de estructuras de supervivencia o esclerocios (Ou, 1985; Ogoshi, 1987) y de reproducción mayormente mixta (Rosewich et al., 1999; Linde et al., 2005; Bernardes de Assis et al., 2008). *R. solani* ha sido clasificado como un patógeno de potencial evolutivo intermedio (McDonald y Linde, 2002). En un estudio reciente sobre diversidad y evolución del patosistema *R. solani*-arroz-maíz llevado a cabo en los municipios Turén, Santa Rosalía y Esteller del estado Portuguesa, se encontró una alta diversidad en las poblaciones de *R. solani* AG-1 IA con niveles de especificidad y sistema de reproducción mixto (González-Vera et al., 2010). Los estudios de diversidad/evolución son importantes para el entendimiento de la patología y ecología de *R. solani* y para diseñar una estrategia de mejoramiento de resistencia durable efectiva contra este patógeno (McDonald y Linde,

2002).

En Venezuela, se han propuesto medidas paliativas como el control químico (Rodríguez et al., 2001), manejo cultural (Nass y Rodríguez, 1994) y control biológico (Rodríguez et al., 1999). Si bien estas alternativas pueden disminuir los daños ocasionados por el hongo, una alternativa más duradera, económica y ambientalmente aceptable es la obtención de cultivares de arroz resistentes a la enfermedad (Delgado et al., 2004; Graterol et al., 1996). En otros países se han liberado cultivares comerciales de arroz con niveles aceptables de resistencia a *R. solani* (Kloesterboer, 1999; Pan et al., 1999) y se ha confirmado la presencia de loci que determinan características cuantitativas (siglas QTL) para resistencia en líneas endocriadas (Liu et al., 2009; Pinson et al., 2005). En vista que la resistencia completa (vertical) contra el añublo de la vaina en arroz no es una alternativa disponible, es esencial disponer de una metodología técnica que pueda detectar diferencias cuantitativas de resistencia entre cultivares.

En el ámbito mundial, se han usado diferentes fuentes de inóculo de *R. solani* y métodos para evaluar la reacción al añublo de la vaina, entre ellos mezcla de arroz paddy y afrecho colonizado colocados en la base de macollos en campo (Ou, 1985), la inoculación con palillos mondadientes colonizados en culmos de arroz en invernadero (Eizenga et al., 2002), esclerocios de diferente edad colocados en vértices de hojas (Singh et al., 2002), discos de agar colonizado colocado en la base de plántulas incubadas en microcámaras (Jia et al., 2007; Prasad y Eizenga, 2008), infiltración con toxinas en hojas de arroz incubadas en cámara de crecimiento (Brooks, 2007) y bolas de micelio colocadas en el tallo de plántulas en cámara húmeda (Park et al., 2008). Esta variedad de métodos indica que no existe consenso sobre el método más efectivo para caracterizar germoplasma para resistencia a *R. solani* en arroz.

En Venezuela, hasta ahora, no se ha evaluado la confiabilidad de métodos para evaluar la reacción de plantas de arroz ante la enfermedad, bajo condiciones controladas, así como tampoco se han identificado fuentes de resistencia cuantitativa al añublo de la vaina del arroz. Por consiguiente, los objetivos de esta investigación fueron comparar diferentes métodos para evaluar la

reacción al añublo de la vaina del arroz, bajo condiciones controladas y campo, y evaluar germoplasma de arroz contra aislados virulentos de *R. solani* AG-1 IA para determinar el nivel de resistencia a la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron ensayos en umbráculo, laboratorio y campo para evaluar el añublo de la vaina de arroz.

A. Ensayos de umbráculo

1. Se utilizó el método de inoculación de discos de papa-dextrosa-agar colonizados por cepa de *R. solani* colocada en la base de la plántula y posteriormente incubada en microcámaras de plástico transparentes (Jia et al., 2007). La inoculación de 23 genotipos de arroz se efectuó con la cepa A5B4 (64) de *R. solani* AG-1 IA, caracterizada molecularmente por microsátélites (González-Vera et al., 2010) y con un espectro de virulencia intermedio determinado por el método de microcámaras. El diseño fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y la unidad experimental constituida por tres plántulas por matero. A los ocho días después de la inoculación (ddi) se evaluó la enfermedad usando un índice calculado como longitud de la lesión dividida por la longitud del culmo en mm multiplicado por nueve (Jia et al., 2007).

2. Se utilizó el método de bola de micelio crecido en medio líquido, colocado en el vértice de la tercera o cuarta hoja basal de plántulas de 10 semanas de edad, cubierta por papel de aluminio para evitar el desecamiento (Park et al., 2008). La inoculación de los 23 genotipos de arroz se hizo con la cepa A3D5 (70) de *R. solani* AG-1 IA que previamente había mostrado un alto índice de virulencia en microcámaras. El diseño fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y la unidad experimental de tres plántulas por matero. La evaluación se realizó a los ocho ddi. Se aplicó la fórmula de Park et al. (2008) compuesta por la medida de la longitud de la lesión en cm y el grado de severidad de la enfermedad en cada hoja de la vaina inoculada. La longitud total fue la suma de la longitud de la lesión en cada trozo o entrenudo del culmo. El grado de severidad fue 0= no hay lesión, 1= aparición de manchas húmedas, 2= aparición de manchas necróticas, 3= menos del 50% de necrosis en el trozo de culmo, 4= más del

50% necrosis en el trozo de culmo y 5= necrosis en el trozo de culmo, resultando en muerte de la hoja. La fórmula utilizada fue Índice (ID) = $(5n_5 + 4n_4 + 3n_3 + 2n_2 + 1n_1 + 0n_0)/5N \times 100$, donde n_0-5 es el número de hojas en cada grado.

B. Ensayos de laboratorio

Se evaluaron los 23 genotipos de arroz ante el añublo de la vaina bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones donde la unidad experimental fue de dos hojas por plato. Los trozos de hoja se inocularon con un grano colonizado con el aislado de *R. solani* A5F2 (115) con amplio espectro de virulencia determinado por el método de cinetina modificado (González et al., 2008), que consistió en la colocación de granos de arroz colonizados por micelio del hongo de ocho días colocados en el haz de un trozo de hoja de arroz flotando en medio de cinetina a $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ en platos Petri. La evaluación se realizó a las 48 horas ddi mediante la escala diagramática diseñada por Ahuja y Payak (1981).

C. Ensayos de campo

La investigación de campo se estableció en la Fundación Danac, ubicada en San Javier, estado Yaracuy, Venezuela, a $10^{\circ}21' \text{ N}$. El suelo es de textura franco arcillo limosa/franco arenosa, con alta disponibilidad de P, Ca, K y Mg, bajo contenido de materia orgánica y N, y sin problemas de salinidad. Se utilizó riego por aspersión o por gravedad cuando fue requerido.

Después de la preparación de suelo, se tomaron 10 muestras de suelo de 1 kg cada una, a una profundidad de 5 a 10 cm y fueron secadas a la sombra por 14 días. Posteriormente, se pulverizaron, se colocaron en vaso de precipitado de 1000 mL, se añadió agua hasta cubrir y se agitaron, para luego dejarlas en reposo durante la noche. Seguidamente, se vertió el sobrenadante en dos cribas de diferentes diámetros, para separar material grueso del pequeño. El material pequeño ($<1,7 \text{ mm}$) se colocó en papel absorbente para cuantificar los esclerocios al estereoscopio, por cada una de las muestras de suelo (Carling y Summer, 1992). Posteriormente, se realizaron los siguientes dos ensayos utilizando las cepas A3D5 y A5B4:

1. Se estableció para evaluar los 23 genotipos siguiendo la metodología de infestación con

granos de arroz colonizados en hileras centrales, esparcidos homogéneamente en el suelo, en la base de las plantas (Delgado et al., 2004). La infestación de los genotipos de arroz se hizo con la cepa A3D5 (70). El acondicionamiento de suelo fue mediante fangueo, se realizó el trasplante de plantas de 20 días de edad (dde) a una densidad de 0,2 x 0,3 m. Las parcelas se infestaron con inóculo de arroz pulido colonizado por el micelio del hongo, esparcido en hileras sobre suelo drenado a una dosis de 100 mL entre las dos hileras centrales cuando el cultivo se encontraba en etapa de prefloración, coincidiendo con los 65-70 dde. El diseño fue de bloques completos al azar con tres repeticiones, la unidad experimental fue de 40 plantas (10 plantas por hilera). Las evaluaciones de las dos hileras centrales de cada parcela se hicieron a los 30 ddi mediante dos metodologías: utilizando la escala del sistema estándar de evaluación del Instituto Internacional de Investigación del Arroz (IRRI, 2002), y midiendo el avance ($\text{Avance (\%)} = (\text{AM}/\text{AP}) \times 100$), donde AM= altura de la mancha y AP= altura de la planta hasta la inflorescencia.

2. Los genotipos de arroz fueron infestados con el haplotipo A5B4 (64). El diseño fue de bloques completos al azar con tres repeticiones, la unidad experimental fue de 40 plantas. La evaluación del daño se realizó mediante las mismas metodologías descritas en el ensayo anterior.

Para todos los ensayos, se consideraron como testigos al cultivar de arroz resistente 'Tetep' (Groth y Nowick, 1992) y al cultivar susceptible 'Lemont' (Bollich et al., 1985), comprobados por su reacción al añublo. La aleatorización de tratamientos para todos los ensayos fue realizada con la aplicación Fieldbook (CIMMYT, 2002). Se realizó análisis de la varianza, correlaciones, y análisis de componentes principales utilizando el programa Infostat versión 1.1. (FCA. Córdoba, Argentina).

Los ensayos bajo condiciones de campo con diferentes haplotipos de *R. solani* fueron conducidos simultáneamente y la evaluación con la escala del IRRI fue realizada por la misma persona al día siguiente a la evaluación del avance del añublo en porcentaje, siempre en las primeras horas de la mañana, para disminuir el efecto de subjetividad en las evaluaciones, así como el efecto de fatiga y la luminosidad sobre el evaluador.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Ensayos de umbráculo y laboratorio para evaluar el añublo de la vaina en arroz

Todos los datos cumplieron los supuestos del análisis de varianza. Se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para el modelo y los genotipos de arroz en los diferentes métodos usados para medir la severidad del añublo de la vaina en germoplasma de arroz.

Con el método de microcámara se encontró que el genotipo de arroz más resistente al añublo de la vaina fue 'Tetep' (testigo resistente) con un valor de 5,1, mientras que el más susceptible fue 'Jasmine 85' con 8,7 seguido por 'Lemont' (testigo susceptible) con 8,3 (Cuadro 1). Por el método de bola de micelio se formaron cinco grupos homogéneos, el genotipo más resistente fue 'Tetep' (testigo resistente) con 48,0; mientras que el más susceptible fue 'Lemont' (testigo susceptible) con 78,3. A diferencia de los métodos anteriores, en el método de laboratorio, los genotipos más resistentes fueron 'SD20A' y 'Centauro', mientras que los más susceptibles fueron 'CT15675-7-1-4-2-3-M-1' y 'Remadja'. En esta última prueba, los testigos se ubicaron en el mismo grupo 'abc', inclusive 'Tetep' con un valor más alto de severidad que 'Lemont'.

Con base a los resultados obtenidos se observa mayor sensibilidad del método de microcámaras y bola de micelio en la comparación de medias, permitiendo una mejor ubicación de los testigos con respecto al ensayo de laboratorio. Este último, no discriminó los testigos como se esperaba, lo que significa que este método fue poco confiable para la evaluación de resistencia a *R. solani*. El cultivar 'Tetep' ha sido señalado entre las variedades de mayor resistencia al añublo de la vaina (Groth y Nowick, 1992; Li et al., 1995), mientras que 'Lemont' se considera un cultivar de arroz muy susceptible (Bollich et al., 1985; Groth y Nowick, 1992; Li et al., 1995).

El desarrollo de los cultivares resistentes al añublo de la vaina ha alcanzado éxitos limitados, debido principalmente a la carencia de germoplasma resistente adaptado, a la limitada eficiencia y efectividad de los métodos de evaluación utilizados en el pasado (Park et al., 2008) y a la naturaleza poligénica de la resistencia (Pinson et al., 2005). Como resultados de esta investigación se encontró que el método de

microcámara (Jia et al., 2007; Prasad y Eizenga, 2008) y bola de micelio (Park et al., 2008) fueron efectivos para evaluar la reacción del

añublo de la vaina, identificándose fuentes de resistencia cuantitativa en el germoplasma de arroz evaluado.

Cuadro 1. Severidad del añublo de la vaina del arroz en 23 genotipos de arroz inoculados con *R. solani* AG-1 haplotipos A5B4 (64), A3D5 (70) y A5F2 (115) bajo tres diferentes métodos

Genotipos de arroz	Métodos de inoculación		
	Microcámara	Bola de micelio	Laboratorio
Amistad 82 (Ami)	6,9 abcd	63,3 abc	3,4 abc
Centauro (Cen)	7,4 bcd	69,5 bc	2,1 a
CT15150-M-11-4-3-2-M (CT-1)	6,4 abc	65,5 abc	2,5 ab
CT15150-M-79-7-2-2-M (CT-2)	6,7 abc	77,0 c	3,1 abc
CT15150-M-79-9-1-2-M (CT-3)	7,5 bcd	78,0 c	2,3 a
CT15150-M-79-9-2-3-M (CT-4)	6,1 ab	75,5 c	3,6 bc
CT15150-M-79-9-5-1-M (CT-5)	7,4 bcd	64,8 abc	2,6 abc
CT15675-7-1-4-2-3-M-1(CT-6)	7,0 abcd	65,3 abc	3,9 c
CT15696-3-4-1-3-2-M-1(CT-7)	7,9 bcd	64,8 abc	3,6 bc
D-Oryza (Dor)	7,2 bcd	72,0 c	3,6 bc
D-Sativa (Dsa)	6,6 abc	58,8 abc	2,6 abc
FD0226-M-14-2-4-2-M (FD-1)	7,1 bcd	70,3 bc	3,1abc
FD0248-M-14-3-1-2-M-1(FD-2)	8,0 bcd	58,5 abc	3,3 abc
FD0248-M-14-5-1-1-1-1(FD-3)	6,8 abcd	60,0 abc	2,4 ab
FD0248-M-6-6-1-1-1-1(FD-4)	7,7 bcd	69,3 bc	3,3 abc
SD20A (SD20)	6,4 abc	50,5 ab	2,1 a
Fedearroz 50 (Fe50)	8,0 cd	74,3 c	2,8 abc
Jasmine 85 (Ja85)	8,7 d	69,5 bc	2,6 abc
Jefferson (Jef)	6,6 abc	69,5 bc	2,6 abc
Lemont (Lem)	8,3 cd	78,3 c	2,6 abc
Remadja (Rem)	7,3 bcd	75,0 c	3,9 c
Tetep (Tet)	5,1 a	48,0 a	2,8 abc
Venezuela 21 (Ve21)	7,6 bcd	73,0 c	3,3 abc

Separación de medias entre genotipos según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). En paréntesis las siglas de los cultivares

B. Ensayos para la evaluación del añublo de la vaina de arroz bajo condiciones de campo

En la evaluación del añublo de la vaina del arroz bajo condiciones de campo se agruparon los resultados de los dos ensayos infectados con los dos haplotipos de *R. solani* AG-1 IA y testigos ya señalados. Se detectó que hubo diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para el modelo y los genotipos de arroz infectados con los respectivos aislados de *R. solani*, lo que indica que el método usado fue confiable para evaluar la reacción del añublo de la vaina bajo las condiciones de campo.

Para el ensayo infestado por A3D5 (70), se observó que con el método “Avance” se formaron 11 grupos homogéneos, en los extremos el genotipo ‘CT 15150-M-11-4-3-2-M’ (36,2 %) fue el más resistente, mientras que ‘Lemont’ fue el más susceptible con 66,2 % (Cuadro 2). Asimismo, para la evaluación mediante el método

de “Escala” se observó la formación de cinco grupos, quedando el genotipo ‘CT 15150-M-11-4-3-2-M’ (4,3 promedio) como el más resistente; dentro de este grupo también se encontraron ‘Tetep’ y ‘Remadja’ entre los más resistentes. El cultivar ‘Jasmine 85’ fue el más susceptible con 9,0 y ‘Lemont’ le siguió con 8,3.

Para el ensayo de campo infestado con el haplotipo A5B4 (64) la evaluación mediante el método “Avance” distinguió cinco grupos homogéneos, siendo el genotipo ‘D-Sativa’ el más resistente (41,6 %), el más susceptible fue ‘FD0248-M-14-5-1-1-1-1’ (63,9 %), mientras que ‘Lemont’ estuvo dentro de los más susceptibles (60,1 %). Por su parte, por el método “Escala” se formaron ocho grupos homogéneos, el genotipo ‘Tetep’ fue el más resistente con 3,0 mientras que el más susceptible fue ‘Lemont’ con 9,0 promedio.

El potencial de inóculo de *R. solani* del suelo, efectuado antes de realizar el ensayo de campo para verificar la ausencia de interferencia de otras fuentes de inóculo posiblemente presentes en el suelo, evidenció que no había esclerocios de *R. solani* detectables, lo cual garantiza que el aislado del patógeno usado mantuvo su identidad genética durante el desarrollo de los ensayos de campo bajo las condiciones de San Javier (Yaracuy). Se estima que un esclerocio por kilogramo de suelo es suficiente para considerarlo como un suelo con alto potencial de inóculo.

En campo, se evaluaron dos ensayos con 23 genotipos de arroz ante el añublo de la vaina usando el método recomendado por Delgado et al. (2004), el cual resultó ser confiable para medir la reacción al añublo de la vaina, detectándose diferencias altamente significativas y una buena

discriminación entre los testigos ‘Tetep’ y ‘Lemont’. Con respecto al comportamiento de los cultivares de arroz, ‘Lemont’ fue el más susceptible coincidiendo con los resultados de Jia et al. (2007). A diferencia de los resultados señalados, en esta investigación se encontró que ‘Jasmine 85’, considerado resistente por los citados autores, presentó resultados atípicos, con una reacción similar a ‘Lemont’ (susceptible), lo cual debe ser investigado para conocer las causas de las diferencias en su reacción. En general, en los ensayos de campo infestados con los aislados de *R. solani* AG-1 IA, el testigo ‘Tetep’ fue el genotipo de arroz con mayor resistencia al añublo de la vaina, coincidiendo con lo señalado por Groth y Nowick (1992) y ‘Lemont’ fue el más susceptible, tal como lo encontró Bollich et al. (1985).

Cuadro 2. Severidad del añublo de la vaina del arroz evaluado por dos metodologías (Avance y Escala) en 23 genotipos de arroz infectados con los haplotipos de *R. solani* AG-1 A3D5 (70) y A5B4 (64) bajo condiciones de campo

Genotipos de arroz	A3D5 (70)		A5B4 (64)	
	Avance (%)	Escala (1-9)	Avance (%)	Escala (1-9)
Amistad 82	65,6 f	7,0 abc	63,5 c	7,0 bcde
Centauro	50,9 abcdef	5,0 a	51,8 abc	6,3 bcde
CT 15150-M-11-4-3-2-M	36,2 a	4,3 a	45,7 abc	4,3 ab
CT 15150-M-79-7-2-2-M	60,5 def	7,0 abc	60,2 bc	7,0 bcde
CT 15150-M-79-9-1-2-M	52,6 bcdef	5,7 ab	59,4 abc	7,0 bcde
CT 15150-M-79-9-2-3-M	58,5 cdef	6,3 abc	63,6 c	7,7 cde
CT 15150-M-79-9-5-1-M	56,6 bcdef	6,3 bc	55,7 abc	7,0 bcde
CT15675-7-1-4-2-3-M-1	55,8 bcdef	5,7 ab	58,7 abc	7,0 bcde
CT15696-3-4-1-3-2-M-1	47,9 abcde	6,3 abc	47,2 abc	6,3 bcde
D-Oryza	60,4 def	7,0 abc	61,2 c	7,7 cde
D-Sativa	52,1 bcdef	5,0 a	41,6 a	5,0 abc
FD0226-M-14-2-4-2-M	63,8 ef	7,0 abc	51,2 abc	5,7 abcd
FD0248-M-14-3-1-2-M-1	48,6 abcde	5,0 a	61,9 c	5,0 abc
FD0248-M-14-5-1-1-1-1	53,2 bcdef	5,7 ab	63,9 c	7,0 bcde
FD0248-M-6-6-1-1-1-1	54,9 bcdef	5,0 a	56,2 abc	7,0 bcde
SD20A	42,9 abc	5,0 a	47,3 abc	5,7 abcd
Fedearroz 50	63,1 ef	7,0 abc	47,5 abc	5,7 abcd
Jasmine 85	61,6 def	9,0 c	57,4 abc	8,3 de
Jefferson	55,4 bcdef	5,7 ab	46,8 abc	5,7 abcd
Lemont	66,2 f	8,3 bc	60,1 bc	9,0 e
Remadja	46,0 abcd	4,3 a	47,3 abc	5,0 abc
Tetep	41,8 ab	4,3 a	42,8 ab	3,0 a
Venezuela 21	53,6 bcdef	6,3 abc	55,5 abc	7,0 bcde

Separación de medias entre genotipos según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)

Los resultados del análisis de correlación y componentes principales de los ensayos todos contra todos se muestran en el Cuadro 3. Se

observa que el método más robusto fue el de microcámara (MC-A5B4), el cual fue estadísticamente significativo ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) al

correlacionarse con el método de bola de micelio (BM-A5D3), Avance en campo (CA-A3D5) y Escala en campo (CE-A3D5, CE-A5B4), alcanzando un coeficiente promedio de 0,50; independientemente del aislado de *R. solani* usado para medir la reacción del genotipo ante añublo de la vaina del arroz.

El método que le siguió en cuanto a confiabilidad fue el de bola de micelio (BM-A3D5), detectándose diferencias significativas

($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) al correlacionarse con Avance en campo (CA-A3D5, CA-A5B4) y Escala en campo (CE-A3D5 y CE-A5B4), ya que obtuvieron un coeficiente promedio de 0,49 independientemente del aislado usado. A diferencia de los métodos anteriores, el de laboratorio modificado (Lab-A5F2) no fue significativo en el análisis de correlaciones, sugiriendo que este método sería poco confiable para evaluar la reacción del añublo de la vaina.

Cuadro 3. Coeficientes de correlación (r) y probabilidad (P) entre los diferentes métodos usados en la evaluación del añublo de la vaina en genotipos de arroz inoculados con diferentes aislados de *R. solani* AG-1 IA

Método-Cepa	MC-A5B4	BM-A3D5	Lab-A5F2	CA-A3D5	CA-A5B4	CE-A3D5	CE-A5B4
MC-A5B4	1	0,02	0,795	0,042	0,172	0,007	0,007
BM-A3D5	0,480	1	0,302	0,007	0,093	0,021	0,003
Lab-A5F2	0,057	0,225	1	0,409	0,261	0,829	0,674
CA-A3D5	0,427	0,544	0,181	1	0,007	0,000	0,000
CA-A5B4	0,295	0,358	0,245	0,548	1	0,468	0,000
CE-A3D5	0,550	0,477	0,048	0,835	0,024	1	0,000
CE-A5B4	0,549	0,585	0,093	0,713	0,735	0,756	1

Las cifras debajo de la diagonal indican el coeficiente r, y sobre la diagonal indican la probabilidad (P). MC: microcámaras; BM: bola de micelio; Lab: laboratorio

Los resultados de la serie de ensayos de laboratorio y umbráculo fueron correlacionados con los resultados de los ensayos de campo. Las diferencias entre el método de bola de micelio diseñado por Park et al. (2008) y el de microcámaras (Jia et al., 2007), no fueron muy marcadas entre sí; sin embargo, en la práctica se observó que el primero es más laborioso y demanda más tiempo, espacio y recursos. Los resultados de esta investigación coinciden con lo señalado por Jia et al. (2007), cuyos resultados en microcámaras fueron consistentes con los resultados de campo, alcanzando una alta correlación entre ellos. Cabe destacar que el aislado de *R. solani* seleccionado A5B4(64) para la prueba de microcámara presentó un espectro de virulencia intermedio, mientras que el haplotipo A3D5 (70) presentó un espectro de virulencia alto en ensayos previos de virulencia; lo que hace suponer que este método tendría mayor confiabilidad inoculando con este último aislado.

El análisis de componentes principales (ACP) realizado para verificar los resultados muestra que los autovalores fueron altos (Cuadro 4) lo que permite explicar el modelo en 70 % con sólo dos

componentes. A partir de estos valores se construyó la Figura 1, por medio de la cual se realizó un análisis cualitativo en conjunto de todos los métodos usados para evaluar la severidad del añublo de la vaina del arroz bajo condiciones controladas y de campo. La figura muestra que los métodos de bola de micelio, microcámara y campo fueron capaces de discriminar los genotipos de arroz; el tamaño o longitud del vector indica la robustez del método dependiendo del ángulo. No obstante, se destaca la orientación del vector de MC-A5B4 que siempre apuntó hacia los testigos más susceptibles junto con los métodos de campos ubicados en el mismo cuadrante. En consecuencia, también se discriminó los genotipos más susceptibles que se encuentran en la derecha de la diagonal de 90° en el cuadrante superior derecho, lo cual genera confiabilidad en el método de evaluación.

El método de laboratorio no presentó buena capacidad de discriminación y estuvo ubicado muy cercano a cero en la diagonal de 90°, indicando discriminación nula. Esto indica que el método no es confiable para la evaluación del añublo de la vaina. En general, el genotipo más resistente al añublo de la vaina fue 'Tetep' (Tet)

muy cerca del eje de la 'y' de la figura, mientras que 'Lemont' (Lem) fue el más susceptible, ubicado en el cuadrante superior derecho de la Figura 1.

Cuadro 4. Análisis de los componentes principales (ACP): autovalores y correlaciones entre métodos y aislados de *R. solani* AG-1 IA usados para evaluar la reacción del añublo de la vaina en 23 genotipos de arroz

Método-Cepa	Autovalores		Correlaciones con variables originales	
	Valor	Proporción acumulada	CP1	CP2
MC-A5B4	3,86	0,55	-0,67	0,238
BM-A3D5	1,05	0,70	-0,716	-0,106
Lab-A5F2	0,77	0,81	-0,23	-0,929
CA-A3D5	0,55	0,89	-0,867	0,025
CE-A3D5	0,50	0,96	-0,864	0,232
CA-A5B4	0,18	0,99	-0,72	-0,234
CE-A5B4	0,10	1,00	-0,912	0,084

Corr. Cofenética: 0,941

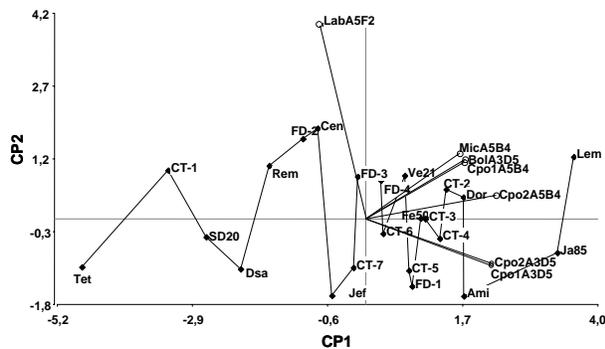


Figura 1. Componentes principales de los métodos y aislados de *R. solani* AG-1 IA usados para medir la reacción del añublo en genotipos de arroz (siglas según el Cuadro 1)

Graterol et al. (1996) lograron detectar herencia transgresiva en el cruce de los cultivares de arroz 'Fonaiap 1 x Palmar' a pesar de la influencia del ambiente sobre el grado de severidad de los síntomas (GSS). Los resultados obtenidos en el cruce permitieron detectar variabilidad genética para la reacción a *Rhizoctonia* spp., coincidiendo con los resultados encontrados en este trabajo en cuanto a que es

posible identificar fuentes de resistencia cuantitativa en el germoplasma de arroz adaptado a las condiciones de Venezuela.

Con base a estos resultados se comprueba que existen métodos confiables para evaluar germoplasma de arroz al añublo de la vaina, debido a que se identificaron los métodos de microcámaras y bola de micelio como confiables para la evaluación del añublo de la vaina del arroz bajo condiciones de umbráculo, y además, con buena correlación con las evaluaciones de campo. De igual modo, se comprobó que existen fuentes de resistencia al añublo del arroz evaluadas bajo condiciones locales, ya que se identificaron a la línea 'CT15150-M-11-4-3-2-M' y los cultivares 'SD20A' y a 'D-Sativa' con buen nivel de resistencia al añublo de la vaina del arroz.

CONCLUSIONES

El método de microcámaras y el de bola de micelio mostraron una correlación media con los resultados de campo, permitiendo identificar tres genotipos de arroz con buen nivel de resistencia al añublo de la vaina del arroz; mientras que los testigos fueron consistentes para ambas pruebas. Estos resultados revisten gran importancia, porque los cultivares y líneas avanzadas de arroz ya están disponibles para los agricultores en Venezuela, así como para su uso como progenitores en los programas de mejoramiento, por lo que puede servir de fuente de resistencia para el añublo de la vaina del arroz.

AGRADECIMIENTO

A Alimentos Polar Comercial por el financiamiento, según el proyecto "Mejoramiento genético de arroz para la obtención de cultivares adaptados a las condiciones de Venezuela", en concordancia con la ley LOCTI del país.

LITERATURA CITADA

1. Ahuja, S. y M. Payak. 1981. A laboratory method for evaluating maize germplasm to banded leaf and sheath blight. *Indian Phytopathology* 34: 34-37.
2. Bernardes de Assis, J., P. Peyer, M.C. Rush, M. Zala, B.A. McDonald y P.C. Ceresini.

2008. Divergence between sympatric rice-and soybean-infecting populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-11A. *Phytopathology* 98:1326-1333.
3. Bollich, C.N., B.D. Webb, M.A. Marchetti y J. E. Scout. 1985. Registration of Lemont rice. *Crop Science* 25: 883-885.
 4. Brooks, S. A. 2007. Sensitivity to a phytotoxin from *Rhizoctonia solani* correlates with sheath blight susceptibility in rice. *Phytopathology* 97:1207-1212.
 5. Carling, D. y D. Summer. 1992. *Rhizoctonia*. In: Singleton, Mihail y Rush (eds.). *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. pp. 155-165.
 6. Cedeño, L., H. Nass, C. Carrero, R. Cardona, H. Rodríguez y L. Alemán. 1996. *Rhizoctonia solani* AG-1-IA, causa principal del añublo de la vaina del arroz en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 9: 6-9.
 7. CIMMYT. 2002. El Programa de Maíz. Manual de usuario de Fieldbook 5.1/7.1 y Alfa. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México D.F.
 8. Delgado, N., H. Rodríguez y M. Ramón. 2004. Evaluación de métodos de inoculación de *Rhizoctonia solani* sobre germoplasma de arroz en campo. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 21: 374-384.
 9. Eizenga, G., F. Lee y J. Rutger. 2002. Screening *Oryza* species plants for rice sheath blight resistance. *Plant Diseases* 86: 808-812.
 10. González, A., E. Graterol, B. Borges y F. Hernández. 2008. *In vitro* kinetin test of the virulence of *Rhizoctonia solani* AG1-IA isolates on rice varieties. *Internacional Symposium on Rhizoctonia*. Berlin. Abstracts p. 86.
 11. González-Vera, A.D., J. Bernardes-de-Assis, M. Zala, B.A. McDonald, F. Correa-Victoria, E.J. Graterol-Matute y P.C. Ceresini. 2010. Divergence between sympatric rice and maize-infecting populations of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from Latin America. *Phytopathology* 100: 172-182.
 12. Graterol, E., O. Borges, H. Nass y A. Sali. 1996. Herencia transgresiva para la resistencia a *Rhizoctonia* spp. En poblaciones segregantes de arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de Investigación Agrícola-DANAC* 1: 1-9.
 13. Groth, D.E. y E.M. Nowick. 1992. Selection for resistance to rice sheath blight through number of infection cushions and lesion type. *Plant Diseases* 76: 721-723.
 14. IRRI. 2002. Reference Guide-Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute. Disponible en: <http://www.knowledgebank.irri.org/ses/> Consulta del 2/05/2008.
 15. Jia, Y., F. Correa-Victoria, A. McClung, L. Zhu, G. Liu, Y. Wamishe, J. Xie, M.A. Marchetti, S. R. M. Pinson, J. N. Rutger y J. C. Correll. 2007. Rapid determination of rice cultivar responses to the sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* using a micro-chamber screening method. *Plant Diseases* 91: 485-489.
 16. Kloesterboer, A. 1999. Jefferson high resistance to sheath blight, recently release rice variety also resistance to many races of blast. *Southwest Farm Press*. 26(8): 1
 17. Li, Z., S. Pinson, M. Marchetti, J. Stansel y W. Park. 1995. Characterization of quantitative trait loci (QTLs) in cultivated rice contributing to field resistance to sheath blight (*Rhizoctonia solani*). *Theoretical Applied Genetic* 91: 382-388.
 18. Linde, C., M. Zala, D. Paulraj, B. McDonald y S. Gnanamanickam. 2005. Population structure of the rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* AG1-IA from India. *European Journal of Plant Pathology* 112: 113-121.
 19. Liu, G., Y. Jia, F.J. Correa-Victoria, G.A. Prado, K.M. Yeater, A. McClung y J.C.

- Correll. 2009. Mapping quantitative trait loci responsible for resistance to sheath blight in rice. *Phytopathology* 99: 1078-1084.
20. Malaguti, G. 1951. Mancha de la hoja envainadora del arroz causada por *Rhizoctonia solani*. *Agronomía Tropical* 1(1): 71-75.
21. McDonald, B. y C. Linde. 2002. Pathogen populations genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 40: 349-379.
22. Nass, H. y H. Rodríguez. 1994. Efecto de la lámina de agua y la densidad de siembra sobre el desarrollo de *Rhizoctonia solani* en arroz. *Bioagro* 6: 31-34.
23. Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annual Review of Phytopathology* 25(1): 125-143.
24. Ou, S.H. 1985. *Rice Diseases*. C.A.B. International. UK.
25. Pan, X., M. Rush, X. Sha, Q. Xie, S. Linscombe, S. Stetina y J. Oard. 1999. Major gene nonallelic sheath blight resistance from the rice cultivars Jasmine 85 and Teqing. *Crop Science* 89: 338-346.
26. Park, D., R. Sayler, Y. Hong, M. Nam y Y. Yang. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Diseases* 92: 25-29.
27. Pinson, S., F. Capdevielle y J. Oard. 2005. Confirming QTLs and finding additional loci conditioning sheath blight resistance in rice using recombinant inbred lines. *Crop Science* 45: 503-510.
28. Prasad, B. y G. Eizenga. C. 2008. Rice sheath blight disease resistance identified in *Oryza* spp. accessions. *Plant Diseases* 92: 1503-1509.
29. Rodríguez, H., R. Cardona, L. Arteaga y L. Alemán. 2001. Control químico del añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* Kühn en arroz. *Bioagro* 13: 32-35.
30. Rodríguez, H., H. Nass, R. Cardona y L. Alemán. 1999. Alternativas para controlar el añublo de la vaina foliar *Rhizoctonia solani* en arroz. *Fitopatología Venezolana* 12: 18-21.
31. Rosewich, U., R. Pettway, B. McDonald y H. Kistler. 1999. High levels of gene flow and heterozygote excess characterize AG1-IA (*Thanatephorus cucumeris*) from Texas. *Fungal Genetics and Biology* 28: 148-159.
32. Rush, M.C. y F.N. Lee. 1992. Sheath blight. *In: Webster y Gunnell (eds.). Compendium of Rice Diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp. 22-23.
33. Singh, A., R. Rohilla, U.S. Singh, S. Savary, L. Willocquet y E. Duveiller. 2002. An improved inoculation technique for sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24: 65-68.