

INTRODUCCIÓN

El uso de imágenes en la caracterización fenotípica del germoplasma es una herramienta útil en el fitomejoramiento, por ser de alta precisión, de ahorro de tiempo, costo y esfuerzo. Debido a la falta de una metodología para evaluar la variable fenotípica 'severidad del daño causado por la enfermedad de la hoja blanca del arroz (VHB)' y con el fin de poder identificar, con mayor precisión, regiones del genoma que se asociaran a la resistencia de VHB, se desarrolló un método para cuantificar el área foliar afectada, usando imágenes digitales y el programa gratuito ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

METODOLOGÍA

ImageJ usa imágenes tomadas con una escala de referencia (regla), un fondo de contraste y una exposición homogénea de luz. La imagen original con áreas verdes (sanas) y líneas amarillentas paralelas a la nervadura central (síntoma clásico de VHB) es procesada en dos fases: 1. Se disminuye el brillo para eliminar las áreas afectadas y se binariza la imagen, es decir, se convierte a blanco y negro para que el programa interprete el número de píxeles negros como área sana, según la escala de referencia previamente calibrada. 2. Con solo una binarización se determina el área total. Con estos dos valores se calcula el porcentaje de área afectada (Figura 1). Para validar los datos obtenidos con ImageJ se midió el área afectada, en forma manual y se obtuvo una correlación de 0,997. Durante la creación de la metodología se tomaron alrededor de 2200 imágenes y en la implementación se han procesado un poco más de 5000.

La metodología se adaptó para evaluar otras características de gran importancia económica en el arroz como la apariencia del grano y el conteo de los mismos (Figura 2) (Cuadro 1).

Determinación del área afectada por VHB

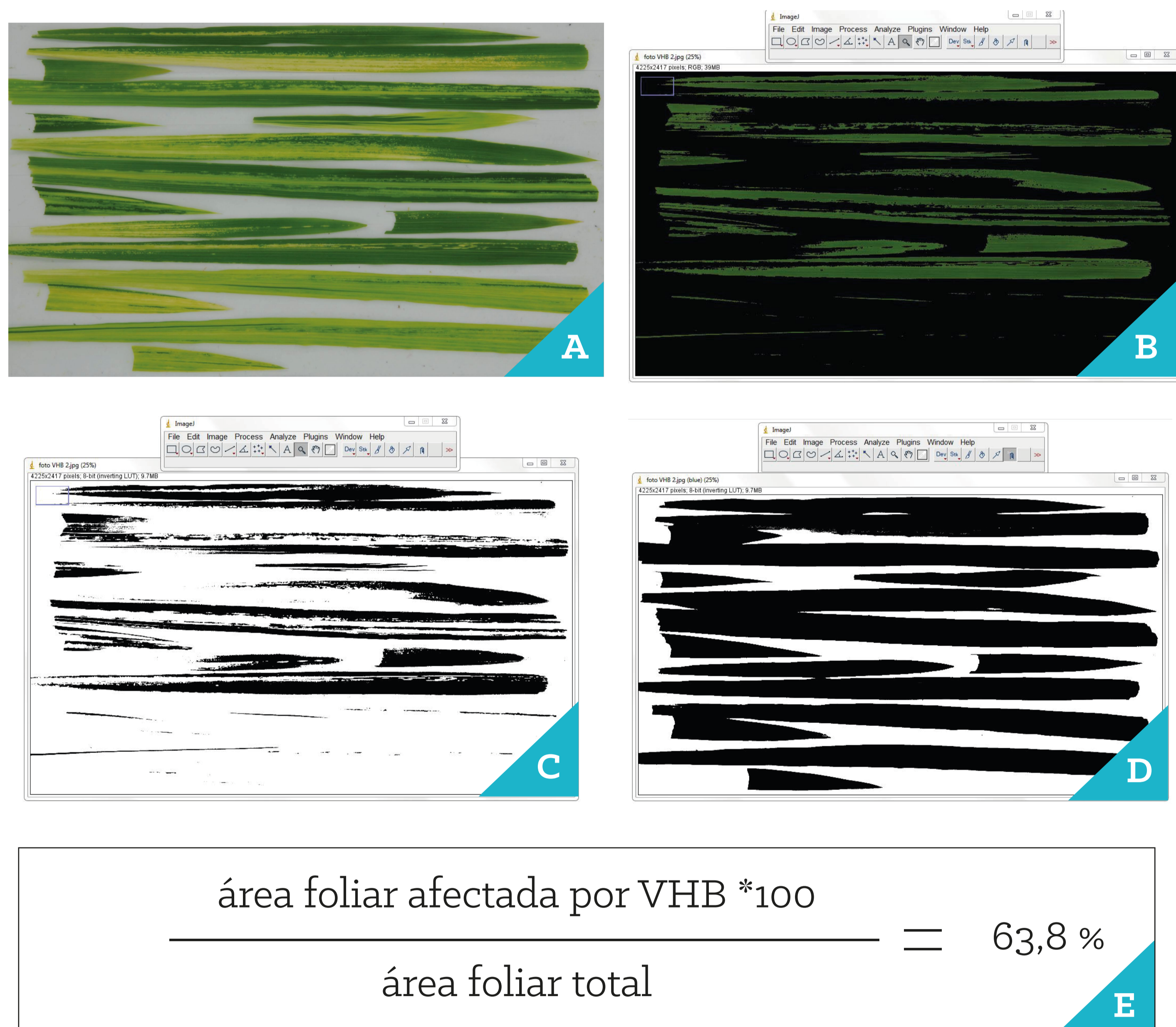


Figura 1. Pasos para determinar el área afectada por VHB usando ImageJ. A: foto original, B: degradación del brillo para segmentar el área sana, C: imagen de hojas binarizadas sin área afectada por VHB, D: imagen binarizada del área total de las hojas, E: Valor del área foliar afectada por VHB.

Medición del área afectada por centro blanco en granos de arroz

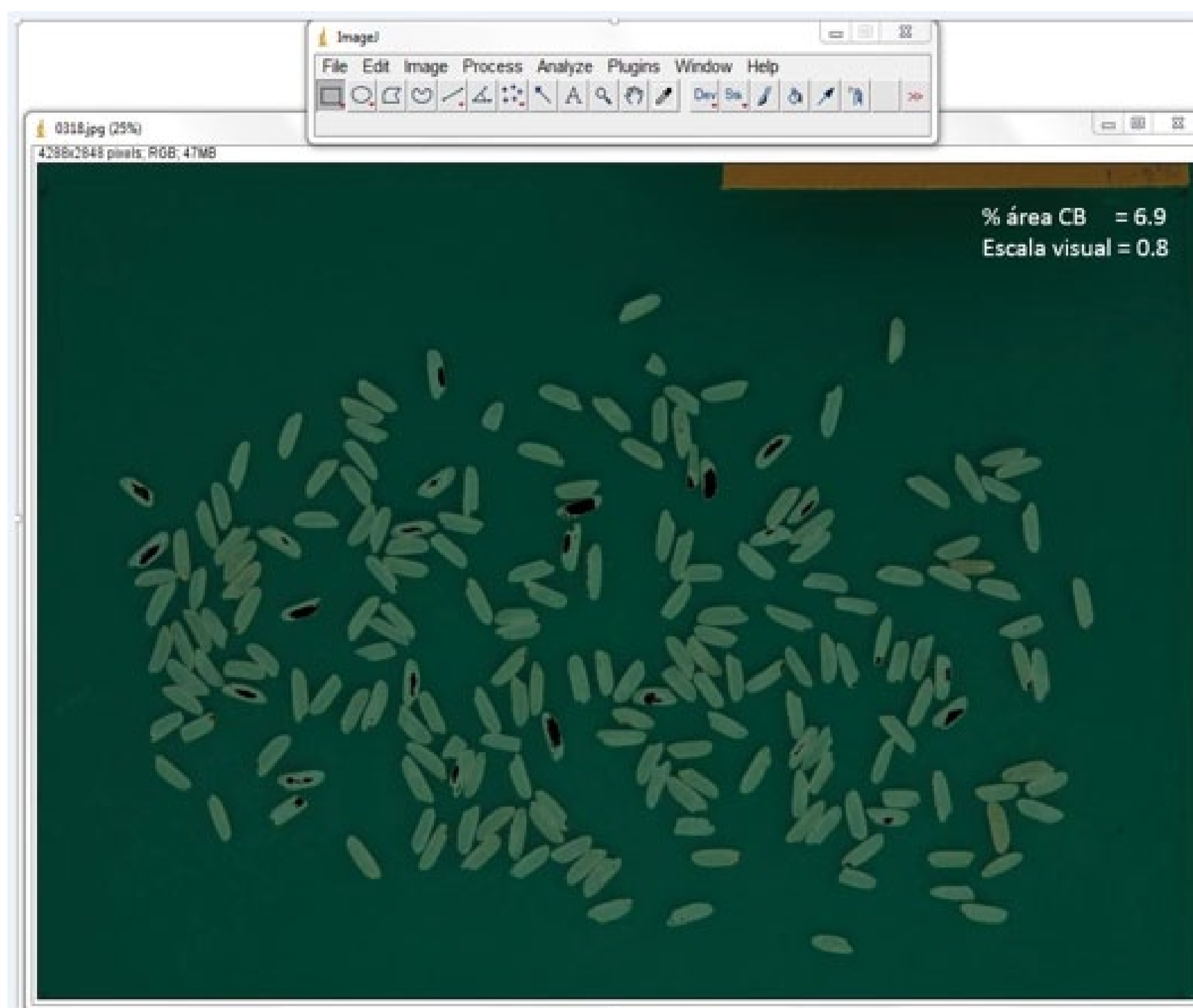


Figura 2. Segmentación del centro blanco en granos de arroz usando el software ImageJ.

Cuadro 1. Equivalencia entre el valor (visual) y el porcentaje del área afectada (imágenes digitales) por centro blanco en granos de arroz.

| Centro Blanco (Escala visual) | Porcentaje del área con Centro Blanco (Medida con imágenes) | | |
|-------------------------------|---|--------|--------|
| | Promedio | Mínimo | Máximo |
| 0,2 | 0,97 | 0,8 | 1,1 |
| 0,4 | 2,41 | 2,0 | 2,7 |
| 0,6 | 3,28 | 3,0 | 3,7 |
| 0,8 | 7,07 | 5,9 | 8,0 |
| 1,0 | 9,87 | 9,3 | 10,8 |
| 2,0 | 12,69 | 12,1 | 13,4 |
| 3,0 | 29,72 | 22,1 | 33,8 |
| 4,0 | 47,81 | 43,4 | 52,2 |

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se diseñó una metodología para estimar el área afectada por virus de la hoja blanca del arroz basada en el análisis de imágenes digitales. Las determinaciones a partir de imágenes son variables continuas y permiten operatividad estadística total. La metodología fue fundamental para encontrar nuevas regiones genéticas asociadas con la resistencia a la enfermedad de la hoja blanca del arroz (Póster No. 0021).

El diseño de esta metodología sirvió para la creación de otras que evalúan características como: número de granos, área afectada por centro blanco y dimensiones del grano. Las dos últimas con correlaciones de 0,97 y 0,93, respectivamente.

El Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego (FLAR) incorporó esta metodología de fácil implementación en las evaluaciones estándar de cuatro variables de importancia económica y lo puso a disposición de los países miembros del FLAR.

¹ Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT.
Contacto: m.montoya@cgiar.org
² Pensionada del CIAT.
³ Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego, FLAR.

