

## Resumen

Se determinaron las características visuales y la incidencia de hongos asociados a granos manchados de arroz en muestras colectadas en el ciclo del cultivo 2015/2016 mediante pruebas de sanidad de semilla utilizando el método del papel secante. Por cada muestra, las semillas fueron colocadas en platos de petri con tres filtros humedecidos e incubadas por 8 días a 22-25°C en un régimen de 12 horas luz/12 horas oscuridad. En total se utilizaron 400 semillas por muestra. Se recurrió a claves taxonómicas y manuales de identificación para la determinación de géneros y especies. Se identificaron 10 especies de hongos en granos manchados de arroz: *Alternaria padwickii*; *Bipolaris oryzae*; *Curvularia lunata*; *Curvularia* spp; *Fusarium* spp; *Phoma* spp; *Exserohilum* spp; *Alternaria* spp; *Nigrospora* spp; *Pyricularia grisea*. *Alternaria padwickii* fue la especie de mayor incidencia en granos manchados

**Palabras claves:** *Oryza sativa*, grano manchado de arroz, hongos, sanidad.

## Abstract

Visual characteristics and incidence of fungi associated with rice spotted grains were determined by seed health testing using the blotter method. For each sample, 400 seeds were placed in petri dishes with three moistened filters and incubated for 8 days with 12 hours light/darkness at 22-25 ° C. Taxonomic and manual identification codes were used for the determination of genera and species. Identification and incidence of ten fungal genera present in rice-spotted grains were determined: *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*; *Curvularia lunata*; *Curvularia* spp; *Fusarium* spp; *Phoma* spp; *Exserohilum* spp; *Nigrospora* spp, *Alternaria* spp and *Pyricularia grisea*. *Alternaria padwickii* was the specie with the highest incidence of rice spotted fungi.

**Key words:** *Oryza sativa*, spotted grain fungi

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, las enfermedades de origen fúngico han jugado un papel decisivo. Entre ellas se encuentra el manchado del grano del arroz, enfermedad ampliamente distribuida en las regiones de producción de arroz en el mundo y de gran importancia en muchos países de Asia, África y América, entre los que se han reportado diversos géneros como *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Chaetomium*, *Curvularia* entre otros (Castaño y Klap 1990). Se han identificado alrededor de 99 especies pertenecientes a 59 géneros fúngicos (Neninger 2003) que son responsables de diferentes patologías y que deterioran interna o externamente el aspecto y la calidad del mismo, además de producir micotoxinas, sustancias altamente riesgosas para la salud humana (Ou 1985, Sisterna 1998).

El manchado del grano se presenta desde la floración hasta la maduración del arroz y se caracteriza por manchas en las glumas que varían desde pequeños puntos oscuros a extensas áreas que pueden alcanzar el 100% de su superficie. El endospermo y a veces el embrión pueden ser afectados cuando la decoloración es muy profunda. Muchas veces es motivo de descarte de lotes en campos de producción de semilla (Mew and Mitra 1994). Se han reportado pérdidas de rendimiento de 20 a 50% debido a granos chuzos y falta de llenado de granos (Ou 1972).

En nordeste de Argentina (NEA), se comprobó que una de las enfermedades principales por su importancia económica y frecuencia es el manchado del grano de arroz, la cual es causada por un complejo de hongos. Produce asimismo, disminución del poder germinativo, disminución del número de granos por panoja y peso de granos manchados, afectando la calidad del grano (Gutiérrez 2002, Gutiérrez et al. 2002). Muchos de los granos dañados tienen textura yesoso se quiebran en el proceso de molienda, especialmente en el proceso de parbolización se acentúa el daño a los granos y aumenta la intensidad del manchado (Sisterna et al. 1994).

En el Paraguay, se han reportado 14 especies fúngicas en semilla de arroz, algunas de ellas asociadas al manchado del grano del arroz (Viedma 2010). Sin embargo, es escasa la literatura sobre hongos asociados a esta enfermedad, por lo que el objetivo de este estudio fue la determinación e incidencia de especies fúngicas de granos manchados de arroz en muestras de semilla provenientes del ciclo 2015/2016.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### COLECCIÓN DE MUESTRAS

Veinte muestras de semilla arroz, correspondientes a la cosecha 2015 fueron colectadas del Distrito de Coronel Bogado, Departamento de Itapúa. Las muestras fueron etiquetadas, acondicionadas y se llevaron al Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Itapúa en el periodo comprendido entre octubre-noviembre 2015 para realizar la caracterización visual de los síntomas presentes en las glumelas, la incidencia de las especies fúngicas y el análisis sanitario de las mismas.

### EXAMEN VISUAL DE LA SEMILLA

Para el examen de las semillas a ojo desnudo se tomaron 100 gramos de semilla con decoloración de las diferentes muestras colectadas para clasificar y describir el tipo de mancha en cada uno de los grupos

### ANÁLISIS DE LA SANIDAD DE SEMILLA

Para evaluar la sanidad de semilla se seleccionaron las muestras con síntomas de manchado y se utilizó el método del Papel de filtro metodología recomendada por la Asociación Internacional de Evaluación de Semillas, con siglas en inglés ISTA (2011) (International Seed Testing Association).

Por cada muestra se utilizaron 400 semillas sin desinfectar, las cuales fueron colocadas en platos de Petri conteniendo 3 unidades de papel de filtro estéril, de 9 cm de diámetro, humedecidas con agua destilada estéril. Se utilizaron 8 repeticiones de 25 semillas cada una. Los platos fueron colocados en

bandejas e incubados a temperatura de 25-30°C con luz fluorescente bajo régimen de 12 horas luz/oscuridad.

El reconocimiento de los hongos se realizó a los ocho días en base a estructuras reproductivas (conidios, conidióforos y picnidios) observadas al microscopio estereoscópico (20 x) y al microscopio compuesto (40 x) montando el material en agua estéril y se utilizó asimismo cinta adhesiva transparente colocando suavemente sobre las estructuras del hongo, y luego sobre un portaobjeto para su observación microscópica.

El criterio de identificación fue a nivel de género/especie, utilizando criterios taxonómicos descritos en claves y manuales de identificación (Mew y González 2002, Mathur and Kongsal 2003).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EXAMEN VISUAL:

Los síntomas observados con la inspección de semilla seca variaron desde manchas que aparecen como puntuaciones hasta manchas cubriendo gran parte de las glumas. La coloración varió de castaño claro a oscuro, afectando externamente a las glumas o internamente a los granos o ambas.

La observación de los síntomas de la enfermedad permitió caracterizar 3 tipos de manchas provenientes de panojas con grano manchado Figs.1, 2 y 3 a) manchas grandes, oblongas, oscuras con centro claro localizados en las puntas b) manchas grisáceas cubriendo gran parte de la semilla c) semilla con manchas escasas



Fig.1. Manchas con centro claro Fig.2. Manchas de mayor tamaño Fig.3. Semillas con pocas manchas

### Determinación de la incidencia de especies fúngicas

La incidencia de microorganismos presentes en cada muestra se determinó mediante la fórmula:  $I = \frac{\text{No. de semillas sembradas}}{\text{número de semillas infectadas}} \times 100$ . Los resultados se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Incidencia de hongos presentes en muestras de arroz con síntomas de manchado de grano, Coronel Bogado, Paraguay. 2015.

Especies fúngicas	Incidencia (%)	Tukey5%
<i>Alternaria padwickii</i>	34,8	A
<i>Curvularia lunata</i>	21,5	B
<i>Alternaria sp</i>	20,3	B
<i>Bipolaris oryzae</i>	13,9	BC
<i>Fusarium sp</i>	13,2	BC
<i>Exserohilum sp</i>	5,2	CD
<i>Phoma sp</i>	5,0	CD
<i>Curvularia sp</i>	4,9	CD
<i>Nigrospora sp</i>	1,5	D
<i>Pyricularia grisea</i>	1,2	D
FC	13,7**	
CV	25%	

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,01$ ).

Se identificaron 10 géneros de hongos asociados al manchado del grano del arroz.

Los hongos encontrados mediante el análisis de sanidad de semillas, según su frecuencia de aparición y en orden decreciente, fueron los siguientes: *Alternaria padwickii* (Fr.) Keissler; *Alternaria spp*, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn; *Bipolaris oryzae* (B. de Haan) Shoem.; *Fusarium spp*; *Schwabe*; *Phoma spp*, *Exserohilum spp*, *Curvularia spp*; *Nigrospora spp* y *Pyricularia grisea* Saac (Tabla 1).

La mayoría de estos hongos identificados están citados como agentes causales del manchado del grano del arroz (Ou1972, Gutiérrez 2002, Mew y González 2002).

La especie de mayor frecuencia determinada en este estudio fue *Apadwickii* (34.8 %)). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el nordeste de Argentina por Gutiérrez et al. (2002) y Lovato et al. (2013)

quienes reportaron que *A. padwickii* es una de las especies de mayor frecuencia en el manchado del grano de arroz.

En el año 2010, también se reportó que *Apadwickii* fue la especie de mayor incidencia en pruebas de sanidad de semilla de arroz realizada con muestras procedentes de diferentes regiones productoras de arroz en el Paraguay (Viedma, 2010).

El género *Alternaria* presenta varias especies parasitando la semilla del arroz (Ou 1972). Gutiérrez (2002) registra *A. padwickii* y *A. longissima* y *Alternaria* sp para las zonas de cultivo con temperaturas más elevadas.

*C.lunata* es la especie de este género más comúnmente aislada, sin embargo hay otras especies que también están asociadas con el manchado del grano.

En la Argentina se han citado además *C. pallescens* (Gutiérrez 2002) y *A. protuberata* (Sisterna y Dall Bello 1998).

Según los resultados obtenidos en este estudio *C. lunata* fue la especie más frecuente (21.5%) similar a otros autores que la consideran la principal causa de la punta negra del grano (Sisterna et al. 1994).

*B.oryzae* es el causante de la mancha parda del arroz y también del complejo de grano manchado. Esta especie fue encontrada con una frecuencia de 14%. Otros autores reportan también moderada a alta

frecuencia de este especie en semillas de arroz (Farias et al. 2011).

Esta especie puede constituirse en fuente de inóculo que disminuye la emergencia de plántulas y transmite la enfermedad en el cultivo.

El género *Fusarium* presentó una frecuencia moderada en esta investigación (13.2%) sin embargo otros autores lo reportan con presencia importante a *F. graminearum* y demás especies de este género relacionado a granos manchados (Pincioli et al. 2003).

Otros géneros como *Exserohilum*, *Phoma*, *Curvularia*, *Nigrospora* y *Pyricularia* tuvieron una baja frecuencia en este estudio.

## CONCLUSIONES

Se identificaron 10 especies de hongos en el análisis de sanidad de semilla: *Alternaria padwickii* (Ganguly); *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Schoem; *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn; *Curvularia* spp; *Fusarium* spp; *Phoma* spp ; *Exserohilum* spp; *Nigrospora* spp, *Alternaria* spp, *Pyricularia grisea* Sacc

Todas las especies encontradas están asociadas al manchado del grano de arroz. La especie predominante en este estudio fue *Apadwickii*,

El examen visual determinó categorizar los síntomas en tres grupos se acuerdo al manchado.

## REFERENCIAS

- Castaño J., and Klap, J. 1990. Etiology of grain discoloration in upland rice at west Sumatra, Indonesia, Padang, Sukarami Agricultural Research Institute for Food Crops. 11 p.
- Farias, C.R.J., Afonso, A.P., Pierbom, C.R., & Del Ponte, E.M. 2005. Regional survey and identification of *Bipolaris* spp associated with rice seeds in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Ciencia Rural*, 41, 369-372.
- Gutiérrez SA, Mazzanti de Castañón MA, Cúndom MA. 2002. Hongos presentes en semillas de arroz del noreste de Argentina. *Fitopatología*. 2002; 37:156-63.
- Gutiérrez, S. 2002. Microflora asociada a granos manchados de arroz. XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Rio Cuarto Córdoba, Argentina, pp. 29
- ISTA (International Seed Testing Association), SW. 2011. International rules for seed testing. Zurich, Switzerland. p: 159.
- Lovato Echeverria, A.D.; Gutierrez, S.; 2013. Incidencia de *Alternaria padwickii* (Ganguly) en semillas de arroz. - XVIII Reunión de comunicaciones científicas y tecnológicas. 27
- Mathur, S.B., Kongsdal, O. 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. Copenhagen, Denmark, 427p.
- Mew T.W., Gonzales P. A handbook of rice seed-borne fungi. Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute (IRRI) and Enfield, N.H., USA: Science Publishers, Inc; 2002. p. 83p.
- Mew, T.W., and Misra, J.K. eds. 1994. A Manual of Rice Seed Health Testing. Manila, Philippines, International Rice Research Institute. 113 p.
- Neninger, L. H., Hidalgo, E. I., Barrios, L. M., Pueyo, M. 2003. Hongos presentes en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) en Cuba. *Fitosanidad*, 7 (3): 7-11.
- Pinciroli, M. N., Sisterna, R. Bezus & A.A. Vidal. 2003. Manchado del grano de arroz: efecto de la fertilización nitrogenada. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 105 (2), 2003.
- Sisterna, M.N., Lori, G.A., y Marassi, J.J. 1994. Sintomatología y hongos asociados al manchado del grano de arroz en el cultivar Irga 409. *Rev. Fac. Agron. La Plata* 70 :13-21.
- Sisterna, M.N., y G.M. Del Bello. 1998. *Curvularia protuberata*, a new seed borne pathogen of rice. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 33 11-114.
- Ou, S.H. 1972. Rice Diseases. CAB International Mycological Institute, KEW.
- Viedma, L. 2010. Evaluación de la sanidad de semilla de arroz (*Oryza sativa* L.) en Paraguay. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*. No 4:17-20.