

Hongos patógenos en semilla de arroz asociados con la incidencia de plántulas anormales en la prueba de germinación

Ramiro Alizaga

Resumen

Se evaluó la presencia de hongos fitopatógenos transportados en la semilla de dieciocho lotes comerciales de arroz, de los cultivares CR-5272 y CR-1113. Los patógenos identificados en mayor proporción fueron: *Bipolaris oryzae*, *Alternaria padwickii* y *Microdochium oryzae*. En muy pocos casos y en bajo grado de contaminación apareció *Pyricularia oryzae*. Se realizaron pruebas de germinación en el laboratorio y de emergencia en el campo. Se encontró una estrecha asociación entre el grado de contaminación de las semillas con los hongos *B. oryzae* y *A. padwickii* y el porcentaje de plántulas enfermas. Casi sin excepción, el porcentaje de emergencia en el campo fue superior al de germinación en el laboratorio. En el cv. CR-1113 dichos hongos tuvieron un efecto detrimental menor sobre la calidad de las semillas, ya que a niveles similares de infección se obtuvo

un porcentaje menor de plántulas enfermas que en el cv CR-5272.

Introducción

El arroz es uno de los cereales más importantes en el mundo, por lo que se realizan grandes esfuerzos para obtener semillas de alta calidad genética, fisiológica, física y sanitaria, atributos que permitirán producir una adecuada y vigorosa población de plantas en el campo, siempre que las condiciones ambientales sean favorables.

El cultivo del arroz es atacado por una amplia gama de enfermedades de mayor y menor importancia. Entre los patógenos más conocidos y de amplia distribución se pueden citar: *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium moniliforme* y *Alternaria padwickii*, aunque existen otros de distribución más restringida como *Microdochium oryzae*, que ha adquirido mayor relevancia en los últimos años (Agarwal *et al.*, 1989).

* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Miembro del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

En las pruebas de germinación, se considera como plántula normal aquella que presenta todas las estructuras esenciales para producir una planta capaz de establecerse bajo condiciones de campo favorables. En contraposición, la presencia de plántulas anormales es muy común en dichas pruebas y se definen como aquellas teóricamente incapaces de producir una planta normal en el campo. Entre las principales causas de anomalías en las plántulas se pueden mencionar el daño mecánico de las semillas durante la cosecha, el trillado, el secado artificial y el beneficiamiento, así como daños causados por el calor, el efecto fitotóxico de algunos tratamientos químicos y la presencia de hongos patógenos en la semilla.

En Costa Rica se han usado productos químicos para contrarrestar el problema de hongos patógenos transportados en las semillas, especialmente cuando la germinación de los lotes se halla cerca del límite inferior para su aceptación por parte de la entidad certificadora. Sin embargo, en general no se han realizado pruebas preliminares para determinar cuáles son los microorganismos presentes, lo que compromete la efectividad de estos tratamientos sobre los diferentes genotipos de arroz utilizados comercialmente.

Las pruebas rutinarias de control de calidad en semillas están dirigidas al análisis físico y fisiológico (germinación) de los lotes, por lo que la sanidad no se evalúa; la escasa información que se obtiene al respecto es de tipo general y muchas veces inexacta. Las pruebas específicas de sanidad de semillas se hacen normalmente en los programas de control cuarentenario para estudiar la condición sanitaria, determinar la prevalencia de una enfermedad o decidir si es conveniente aplicar algún fungicida a la semilla.

Además, se usa para determinar si una baja germinación o emergencia en el campo se debe a organismos patógenos portados en la semilla.

En los últimos años, las pruebas de control de calidad realizadas en el Laboratorio Oficial de Análisis de Calidad del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica, muestran que una cantidad importante de lotes de semilla de arroz, especialmente del cultivar CR-5272, presenta altos porcentajes de plántulas anormales, debido fundamentalmente a una alta incidencia de plántulas enfermas. Por lo anterior, muchos de estos lotes no alcanzan el 80% de germinación, porcentaje mínimo aceptable para su comercialización, de acuerdo con las normas vigentes en el país. Cabe agregar que debido a las condiciones continuas de alta temperatura y humedad, los problemas de calidad asociados con microorganismos portados por la semilla pueden ser cada vez mayores, si no se les presta la debida atención.

El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar la presencia de hongos patógenos portados en diferentes lotes de semilla de arroz de los cultivares CR-1113 y CR-5272, así como determinar su efecto sobre la germinación y el porcentaje de plántulas enfermas principalmente.

Materiales y métodos

Se emplearon nueve lotes de semilla de arroz de los cultivares CR-1113 y CR-5272 respectivamente, con diferentes porcentajes de infección natural causada por los hongos patógenos *Pyricularia oryzae*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium moniliforme* y *Microdochium oryzae*.

Se realizaron pruebas de germinación en el laboratorio, en un cuarto para

Alizaga*

plántulas en
2.

s más im-
lo que se
para obte-
genética,
atributos
adecuada
ntas en el
ndiciones

o por una
de mayo
os patóge-
a distribu-
ia oryzae,
moniliforme
e existen
ngida, co-
e han ad-
os último

José, Costa
Nacional de

germinación graduado a temperatura constante de 30°C y a 95% de humedad relativa. Se usaron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, las que se colocaron sobre papel para germinación Anchor. Se evaluó el porcentaje de plántulas normales a los seis días (primer recuento) y a los 14 días (segundo recuento) de iniciada la prueba. Para la clasificación de dichas plántulas se siguió la metodología propuesta por la International Seed Testing Association (1976). En las mismas pruebas se evaluó el porcentaje de plántulas enfermas a los cinco y 14 días. Se consideraron enfermas aquellas plántulas que presentaron lesiones patogénicas que afectaban el desarrollo y la integridad de sus estructuras esenciales y que comprometían su supervivencia en condiciones de campo.

El estado sanitario de los lotes se determinó mediante el método de papel de filtro. Para esto, se usó una muestra de trabajo de 400 semillas en réplicas de 25 semillas por plato petri de 9 cm de diámetro. Antes de colocar las semillas, en cada plato se pusieron tres papeles de filtro bien humedecidos con agua

destilada. Seguidamente, las semillas se incubaron a 20-22°C con períodos alternos de 12 horas de luz y oscuridad. Como fuente de luz se usó fluorescentes de luz fría colocados a 40 cm de los platos petri. Al final del período de incubación (siete días), las semillas plántulas se evaluaron con el uso de un microscopio estereoscópico.

En la prueba de emergencia a campo se sembraron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una y el porcentaje de plántulas normales se evaluó a los 14 días.

En lo que respecta al análisis estadístico de los datos, la separación de medias se hizo por medio de la prueba de diferencia mínima significativa. Además, para cada cultivar se realizó un análisis de correlación simple.

Resultados

Los porcentajes de infección natural de los hongos patógenos presentes en las semillas, muestran que hay diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) en el grado de contaminación de los lotes de cada cultivar (Cuadros 1 y 2). En el

Cuadro 1
Porcentajes de infección de los principales hongos patógenos presentes en 9 lotes de semilla de arroz, cv. CR-5272

Hongos patógenos en semilla de arroz (%)

Lote	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Alternaria padwickii</i>	<i>Microdochium oryzae</i>
A	0,0*	4,5 ef**	3,5 c	2,0 e
B	0,0	9,0 de	4,5 c	4,5 de
C	1,0	3,0 f	5,5 c	16,5 abc
D	0,0	11,5 bcd	16,5 b	10,0 cd
E	1,5	16,5 b	23,5 a	19,5 ab
F	0,0	10,5 cd	21,5 ab	20,6 a
G	0,0	12,5 bcd	14,5 b	12,5 bc
H	2,0	22,5 a	17,0 ab	10,0 cd
I	0,0	15,0 bc	15,0 b	20,0 a

* Debido a la baja incidencia de este hongo, no fue necesario análisis estadístico.

** Valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$), según la prueba de diferencia significativa.

Cuadro 2
Porcentajes de infección de los principales hongos patógenos presentes en 9 lotes de semilla de arroz, cv. CR-1113

Hongos patógenos en semilla de arroz (%)

Lote	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Alternaria padwickii</i>	<i>Microdochium oryzae</i>
A	0,0*	2,0 f**	1,0 f	2,0 cd
B	0,0	1,0 f	2,0 ef	0,5 d
C	0,5	5,5 ef	3,5 def	10,0 b
D	0,0	7,5 de	7,0 d	6,5 bc
E	2,0	11,0 cd	6,0 de	9,5 b
F	1,5	13,0 bc	12,5 c	9,0 b
G	0,0	17,5 b	20,0 b	21,5 a
H	0,5	17,5 b	25,0 a	22,5 a
I	0,0	25,0 bc	16,0 bc	17,0 a

Debido a la baja incidencia de este hongo, no fue necesario análisis estadístico.

Valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$), según la prueba de diferencia mínima significativa.

CR-5272 los lotes A, B y C presentaron, en términos generales, los menores porcentajes de infección, consideración que en el caso del cv. CR-1113 corresponde a los lotes A, B, C y D. La mayor presencia de patógenos se observó en los lotes E y H del cv. CR-5272, mientras que en el cv. CR-1113 correspondió a los lotes G, H e I.

La presencia de *Pyricularia oryzae* en ambos cultivares apenas alcanzó el 2% y no se detectó en la mayoría de los lotes. *Bipolaris oryzae*, *Alternaria padwickii* y *Microdochium oryzae* estuvieron presentes en el 100% de los lotes. Además, en algunos casos y en baja proporción, se observó la presencia de *Curvularia spp*, *Fusarium semitectum*, *F. moniliforme* y *Poma sp*. Es importante mencionar que generalmente el grado de infección de los tres principales hongos fue concomitante, de manera que los lotes presentaron un bajo, intermedio o alto porcentaje de infección para los tres patógenos a la vez.

El porcentaje de germinación y de emergencia fue estadísticamente dife-

rente ($p \leq 0,05$) en los lotes de arroz estudiados, de manera que en el cv. CR-5772 los valores más altos fueron 92 y 92,5% (lote A), los valores más bajos correspondieron a 60 y 61% (lote I), respectivamente. En el cv. CR-1113 los valores mayores fueron 93 y 94% (lote A) y los menores 75 y 79,5% (lote H) para germinación y emergencia, respectivamente (Figuras 1 y 2). Además, en el primer cultivar sólo tres lotes (A, B y C) superaron un 80% de germinación, mientras que en el segundo, solamente los lotes H e I no lo superaron. Cabe destacar que casi en todos los casos el porcentaje de emergencia fue ligeramente superior que el correspondiente porcentaje de germinación.

En el porcentaje de plántulas enfermas también se observó un comportamiento diferencial entre los lotes de semillas de ambos cultivares ($p \leq 0,05$). En la Figura 3 se observa claramente como en el cv. CR-5272 hay un aumento gradual y generalizado en la proporción de plántulas enfermas conforme aumenta el porcentaje de infección de

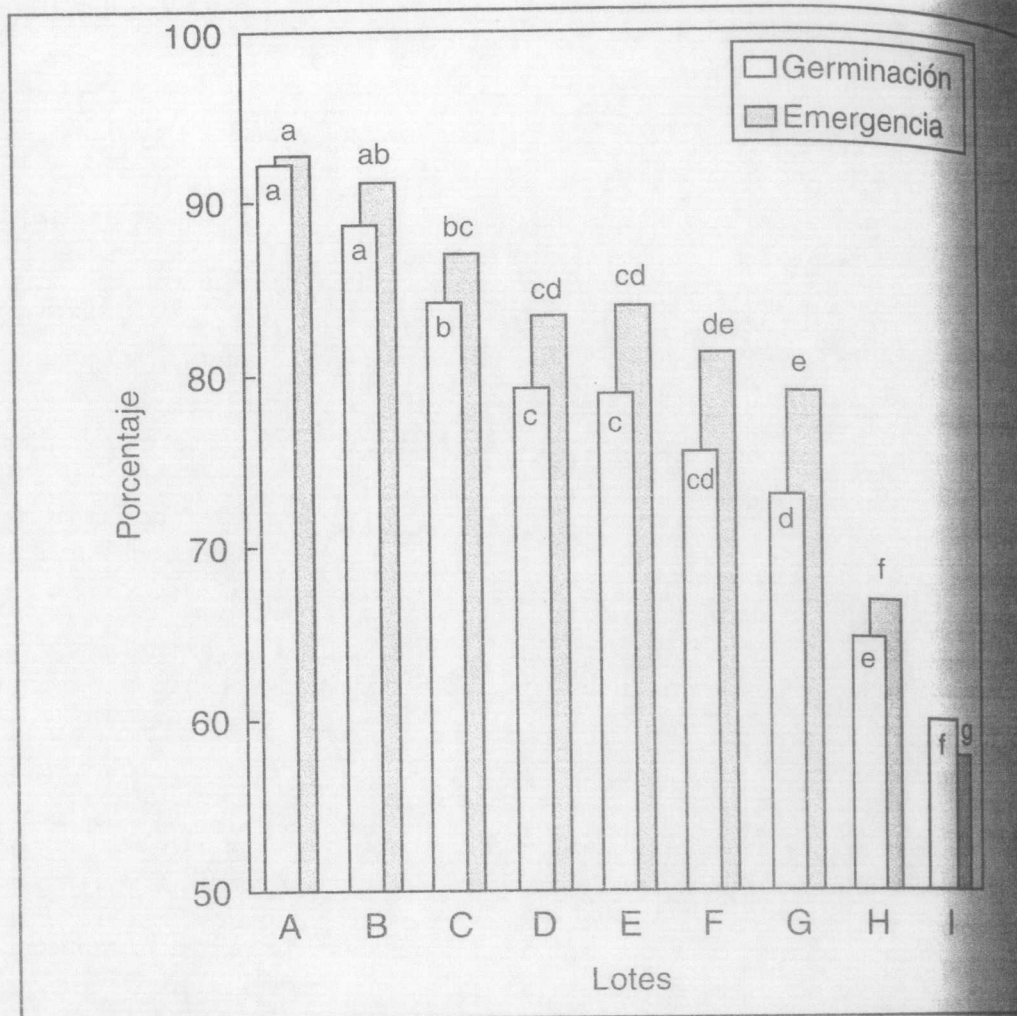


Figura 1
 Porcentajes de germinación y de emergencia en semilla de 9 lotes de arroz cultivar CR-5272 con diferentes grados de infección por hongos patógenos

las semillas, tanto por *B. oryzae* como por *A. padwickii*. En el cv. CR-1113 la situación es prácticamente la misma, aunque la asociación entre plántulas enfermas y porcentaje de infección en

las semillas parece ser aún más estrecha, especialmente con *B. oryzae* (Figura 4).

En el Cuadro 3 se presentan los resultados del análisis de correlación de

Cuadro 3
 Coeficientes de correlación simple (r) entre tres hongos patógenos portados en las semillas de dos cultivares de arroz y el porcentaje de plántulas normales, de plántulas enfermas y la emergencia

Patógeno	CR-5272			CR-1113		
	Germinación	Enfermas	Emergencia	Germinación	Enfermas	Emergencia
<i>B. oryzae</i>	-0,68	0,57	-0,58	-0,76	0,71	-0,63
<i>A. padwickii</i>	-0,46	0,43	-0,42	-0,86	0,85	-0,53
<i>M. oryzae</i>	-0,46	0,43	-0,39	-0,71	0,67	-0,71

Todos los índices de correlación son significativos ($p \leq 0,05$)

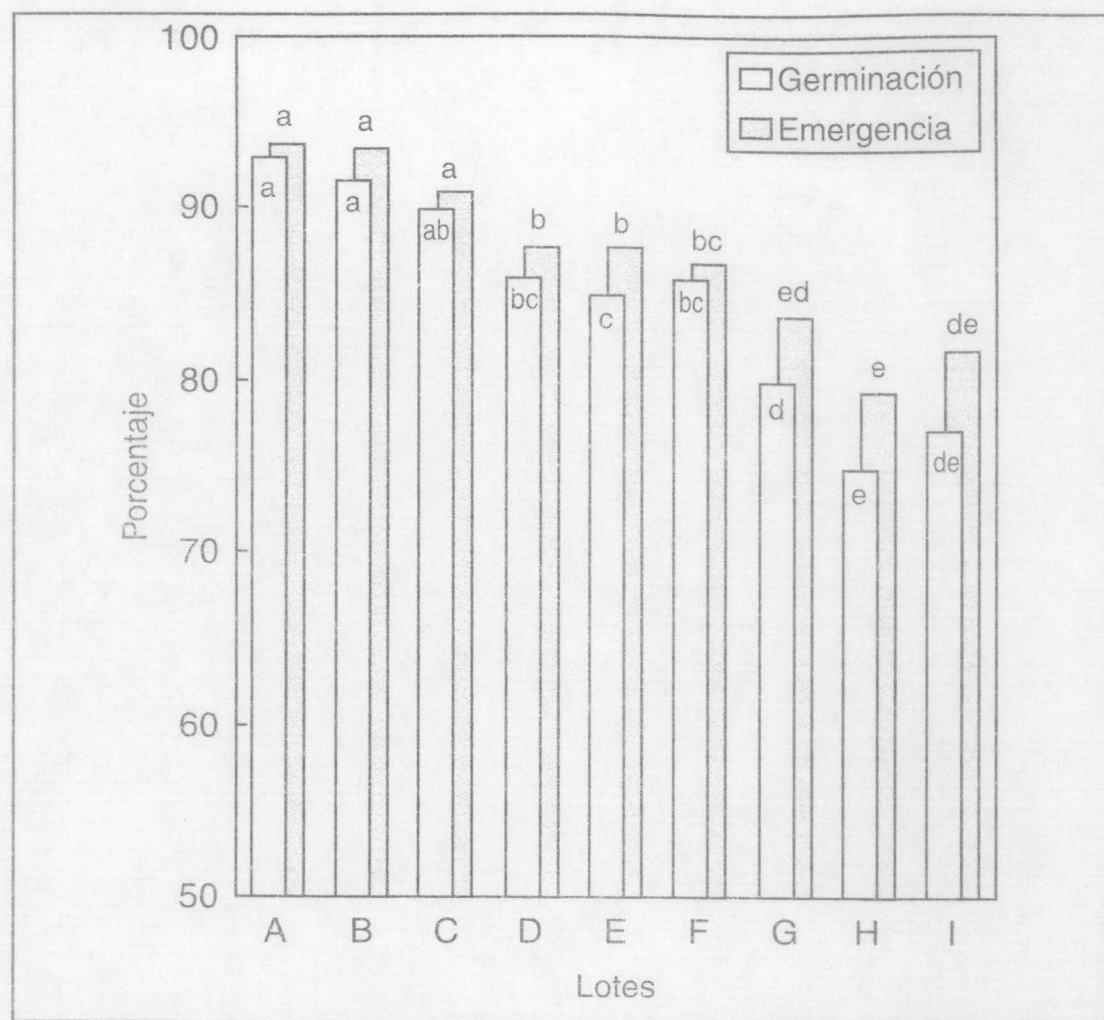


Figura 2
 Porcentajes de germinación y de emergencia en semilla de 9 lotes de arroz cultivar CR-1113 con diferentes grados de infección por hongos patógenos

los principales hongos encontrados en las semillas y los porcentajes de germinación de plántulas normales y de emergencia. En el cv. CR-5272, *B. oryzae* es el que muestra la mayor correlación negativa con la germinación y la emergencia, y positiva con el porcentaje de plántulas enfermas. En contraposición, en el cv. CR-1113 esta particularidad le corresponde a *A. padwickii*. En los dos cultivares, *M. oryzae* presentó los coeficientes de correlación más bajos con respecto a las variables antes mencionadas.

Finalmente, las principales anomalías presentes en las plántulas enfermas fueron las siguientes: coleoptilo

necrosado emergió de la semilla, coleoptilo y primera hoja débiles con decoloración en el punto de unión con la semilla o completa decoloración necrótica de ambas estructuras, decoloración marrón de la raíz primaria con escasas o ausentes raíces secundarias, raíz primaria corta, necrosada y atrofiada, manchas necróticas en el coleoptilo y raíz primaria ahilada con decoloración marrón.

Discusión

Los hongos patógenos presentes en las semillas de las diferentes especies cultivadas constituyen uno de los proble-

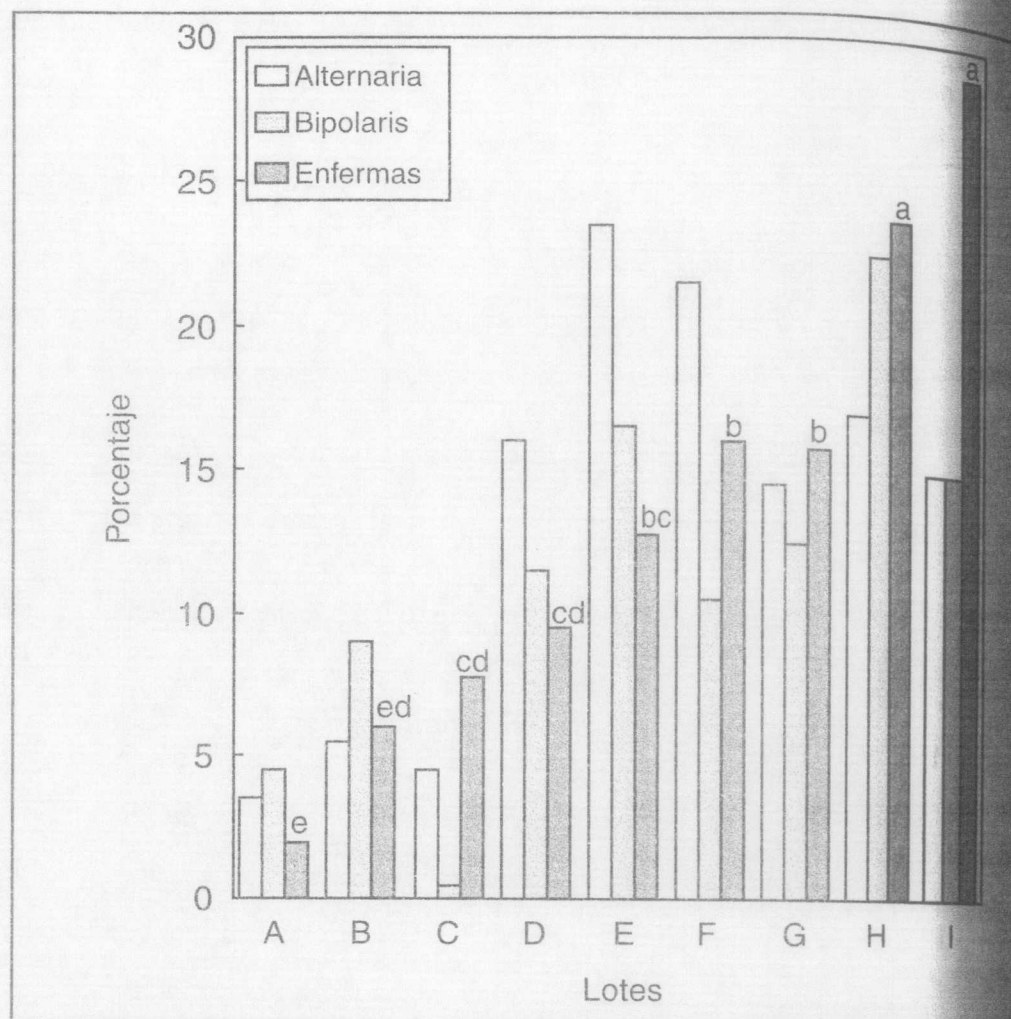


Figura 3
 Porcentaje de infección con *Bipolaris oryzae* y *Alternaria padwickii* en 9 lotes de semilla de arroz del cultivar CR-5272 y su relación con el porcentaje de plántulas enfermas.

mas limitantes en la producción vegetal y es uno de los factores más difíciles de asociar con el rendimiento, debido a que intervienen muchas otras variables. De hecho, en muchos casos la única manifestación tangible del patógeno es una disminución en el número de plántulas emergidas, efecto que en Costa Rica es difícilmente apreciable en el cultivo del arroz, puesto que se usan densidades de siembra muy altas.

P. oryzae causa la enfermedad más importante en el cultivo del arroz debido a su efecto devastador sobre las cosechas, a su amplia distribución mundial

y a la existencia de numerosas razas del organismo causal. En algunas regiones de Filipinas ha causado pérdidas superiores a un 50% en el rendimiento (Ou, 1985) y en Brasil constituye el mayor problema en la producción de arroz en secano (Prabhu y Amaral, 1986). En este trabajo, la presencia de *P. oryzae* en los lotes de semillas evaluados fue muy escasa y los porcentajes de infección muy bajos, lo que concuerda con los resultados de Alizaga *et al.* (1983), de Ribeiro y Amaral (1980) y de Sevilla y Guzmán (1983), quienes lo detectaron únicamente en dos muestras de las 44 evaluadas. Lo anterior, aunque usual

infección se obtuvo un porcentaje menor de plántulas enfermas que en el cv. CR-5272 (Figuras 3 y 4).

En las pruebas de germinación normalmente no se asocia a *M. oryzae* con la incidencia de plántulas anormales, aunque en este trabajo se incluyó dicho patógeno debido a su alta presencia en los lotes de semilla de arroz evaluados. Singh y Sen Gupta (1981) determinaron que *M. oryzae* se encontraba presente en el exterior de las semillas y no lograron identificar plantas enfermas a partir de semillas natural o artificialmente inoculadas. Sin embargo, Mia, Saffeulla y Shetty (1986), citados por Agarwal *et al.* (1989), demostraron que el hongo se encuentra en la cubierta, en el endosperma y en el embrión, y hallaron que el 50% de las semillas infectadas transmiten la enfermedad a las plántulas, aunque éstas normalmente no manifiestan síntomas.

Es evidente que la utilidad de los ensayos sanitarios es limitada, especialmente porque es difícil correlacionar el efecto de los patógenos transmitidos por semilla sobre el desarrollo y la producción de los cultivos, pues además de la gran influencia de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de las enfermedades, el principal foco de transmisión del parásito puede no ser la semilla. Por lo anterior, un análisis ligero puede llevar al error de asociar pérdidas en las cosechas con la acción directa de un patógeno transmitido por la semilla, cuando en realidad la verdadera fuente de contaminación sea otra.

Con la finalidad de valorar la calidad de los lotes de semillas en los programas de certificación, los ensayos de germinación y de sanidad deben ser complementarios, pues el objetivo del primero es brindar información acerca de la calidad fisiológica de la semilla y en alguna medida sobre el posible por-

centaje de emergencia y de establecimiento de plantas, bajo condiciones relativamente favorables en el campo. Mientras que el del segundo, es determinar el grado de contaminación de las semillas por hongos patógenos de importancia, así como decidir si la semilla debe ser tratada y cuál fungicida es conveniente utilizar. Finalmente, son de invaluable beneficio para la implementación de medidas cuarentenarias.

Bibliografía

- Agarwal, P.; Nieves Mortensen, C.; Mathur, S. 1989. Seed-born diseases and seed health testing of rice. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries (Copenhagen). Technical Bulletin N° 3. 106 p. (CAB International Mycological Institute. Phytopathological Papers N° 30).
- Alizaga, R.; Flores, G.; Cavaría, C. 1983. Efecto de la temperatura y del sustrato sobre la manifestación de hongos patógenos durante el ensayo de germinación en semilla de arroz. *Agronomía Costarricense* 7 (1/2):63-67.
- Aluko, M.O. 1975. Crop Losses caused by the brown leaf spot disease of rice in Nigeria. *Plant disease reporter* 59:609-613.
- Chung, H.S.; Lee, C.U. 1983. Detection and transmission of *Pyricularia oryzae* in germinating rice seed. *Seed Science and Technology* 11(3):625-637.
- Guerrero, F.; Mathur, S.; Neergaard, P. 1972. *Proceedings of the International Seed Testing Association* 37(3):985-997.
- International Seed Testing Association. 1976. *International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology* 4(1):1-77.
- Lamey, H.A. 1970. *Pyricularia oryzae* on rice seed in the United States. *Plant Disease Reporter* 54:931-935.
- OU, S.H. 1985. *Rice Diseases. CAB International Mycological Institute, Kew. Surrey, U.K.*
- Prabhu, A.S.; Morais, O.P. 1986. Blast disease management in upland rice in Brasil. In *Progress in upland Rice Re-*

sas raza
gunas re-
ado me-
el rendi-
il consti-
a produc-
hu y Mo-
a preser-
de sem-
asa y en
bajos, lo
tados de
Gibeiro y
Guerra
on única
445 eva-
usual. 80

- search. Proceedings of the 1985 Jakarta Conference:383-392.
- Prabhu, A.S.; Vieira, N.R. de A. 1989. Sementes de arroz infectadas por *Drechslera oryzae*: Germinação, Transmissão e Controle. Boletim de Pesquisa, Goiânia, EMBRAPA-CNPAP 7:1-36.
- Prabhu, A.S.; Lopes, A.S.; Zimmermann, F.J. 1980. Infecção da folha e do grão de arroz por *Helminthosporium oryzae* e seus efeitos sobre os componentes da produção. Pesquisa Agropecuária Brasileira 15(2):183-189.
- Ribeiro, A.; Amaral, A. 1980. Efeitos da sanidade sobre a qualidade e o desempenho das sementes de arroz. Tecnologia de Sementes 3(1):37-47.
- Sevilla, E.P.; Guerrero, F.C. 1980. Production of quality seed in the presence of *Drechslera oryzae*. Seed Science and Technology 11(3a):1139-1143.
- Sing, S.A.; Sen Gupta, C.K. 1980. Transmission of *Rhynchosporium oryzae* seed. International Rice Newsletter 6:11.
- Singh, R.P.; Sing, P.N.; Shukla, P.K. 1980. Study on assessment of losses in rice due to brown leaf spot disease. Indian Journal of Agricultural Research 13(1):1-4.
- Tempe, J.; Binnerts, J. 1979. The effect of seed health on the germination of rice. Seed Science and Technology 7(4):601-636.