

Artículo original

Hongos asociados al manchado del grano en la variedad de arroz INCA LP-5 (*Oryza sativa* L.) en Cuba

Deyanira Rivero González^{a,*}, Ariel Cruz Triana^a, Aida Tania Rodríguez Pedroso^a, Anayza Echevarría Hernández^a, Benedicto Martínez Coca^b

^aInstituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Unidad Científico Tecnológica de Base “Los Palacios”, Los Palacios, Pinar del Río, Cuba.

^bCentro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Mayabeque, Cuba.

Recibido 9 de marzo de 2012; aceptado 22 de septiembre de 2012

Resumen: Se aislaron e identificaron los hongos presentes en granos de arroz manchados, de la variedad INCA LP-5, cosechados durante las épocas lluviosas de los años 2003 y 2005, en áreas de la Estación Experimental del Arroz “Los Palacios”, Pinar del Río, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Se determinó la incidencia y se realizaron las pruebas de patogenidad mediante los postulados de Koch. Se identificaron 35 especies, correspondientes a 19 géneros de hongos asociados a granos manchados de la variedad INCA LP-5, y entre ellas se señalaron, como nuevos registros asociados al manchado del grano de arroz para Cuba a: *Bipolaris maydis*, *Fusarium merismoides*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *Penicillium italicum*, *Phoma medicaginis* var. *pinodella* y *Syncephalastrum racemosum*. Los hongos de mayor incidencia fueron *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae* y especies de los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Curvularia* y *Phoma*. Se confirmó que los hongos *F. subglutinans*, *B. oryzae*, *A. padwickii*, *Alternaria* sp., *F. verticillioides*, *C. lunata*, *C. lunata* var. *aeria*, *C. pallescens*, *C. senegalensis*, *Curvularia* sp., *Phoma* sp. y *S. oryzae*, son agentes causales del manchado del grano de arroz.

Palabras clave: arroz, manchado del grano, hongos fitopatógenos, frecuencia, patogenidad.

Fungi associated to grain spotting in the INCA LP-5 (*Oryza sativa* L.) variety of rice in Cuba

Abstract: Isolation and identification of the fungi present in spotted rice grains of the INCA LP-5 variety, harvested during the rainy seasons of the years 2003 and 2005, was done at sites of the Experimental Rice Station “Los Palacios”, Pinar del Río, belonging to the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Incidence was determined, and pathogenicity tests were carried out according to Koch’s postulates. Thirty-five species corresponding to 19 fungi genus associated to spotted grains of the INCA-LP-5 variety were identified, and among them, the following strains were indicated as new registrations associated to spotting of rice grains in Cuba: *Bipolaris maydis*, *Fusarium merismoides*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *Penicillium italicum*, *Phoma medicaginis* var. *pinodella* and *Syncephalastrum racemosum*. The fungi with the highest incidence were *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae* and species of the genus *Alternaria*, *Fusarium*, *Curvularia* and *Phoma*. It was confirmed that the fungi *F. subglutinans*, *B. oryzae*, *A. padwickii*, *Alternaria* sp., *F. verticillioides*, *C. lunata*, *C. lunata* var. *aeria*, *C. pallescens*, *C. senegalensis*, *Curvularia* sp., and *S. oryzae*, are causative agents of the spotting of rice grains.

Keywords: rice, spotting of grains, phytopathogenic fungi, frequency, pathogenicity.

* Correspondencia:

E-mail: deyanira@inca.edu.cu

Introducción

Dada la situación de emergencia alimentaria mundial, es necesario conocer las causas fundamentales que afectan el rendimiento del cultivo del arroz en Cuba, el cual es inferior a la media mundial, aún cuando el potencial supera

las 6 t/ha con las variedades y tecnologías existentes; de esta manera se contribuirá a incrementar su producción, así como satisfacer la creciente demanda de este cereal, que es el de mayor extensión de superficie cultivada en el mundo, el segundo en superficie cosechada, proporciona la mayor cantidad de calorías por hectárea y es el segundo alimento

más utilizado, después del trigo [1].

Una de estas causas es la incidencia de numerosas enfermedades, favorecidas por las condiciones climáticas y las tecnologías de siembra del cultivo. En el caso particular de Cuba, con clima subtropical de elevada temperatura y humedad relativa, las enfermedades de origen fúngico han jugado un papel decisivo. Entre ellas se encuentra el manchado del grano, 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, causada por diversos géneros de hongos previamente reportados como *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Cladosporium* y *Curvularia* entre otros [1-4].

Esta enfermedad afecta componentes del rendimiento al causar vaneamiento y disminución de: a) la germinación entre un 26 y 41%; b) vigor y tamaño de las plántulas; c) número de granos por panícula; d) peso de los granos hasta un 40%; e) llenado de los granos en un 30% [5]. Por otra parte, desmerece la calidad de la semilla, pues reduce el número de granos enteros e incrementa tanto los granos quebradizos en el proceso de molino como los granos yesosos y de coloración anormal [6].

Las estrategias fitosanitarias establecidas incluyen aplicaciones foliares preventivas en distintas fases del ciclo del cultivo, tratamiento químico a la semilla, uso de semilla certificada, y, aunque no se hace referencia al uso de variedades resistentes, existen algunos cultivares como el INCA LP-5, que presenta baja susceptibilidad al manchado del grano. Esta variedad es una de las de mayor porcentaje de área sembrada en Cuba y presenta excelentes cualidades agronómicas, entre las que se destacan su rendimiento potencial, elevada producción de hijos fértiles, alto número de granos llenos por panícula y peso de mil granos [7,8]. Sin embargo, es necesario establecer su susceptibilidad a las enfermedades causadas por hongos inherentes a este cultivo, para proponer estrategias de control específicas a esta variedad.

El objetivo del trabajo consistió en identificar los hongos asociados al manchado del grano en la variedad de arroz INCA LP-5 durante dos ciclos de cultivo, conocer su incidencia y evaluar la patogenicidad de los hongos aislados.

Materiales y métodos

Aislamiento e identificación de los hongos: Se utilizaron granos recién cosechados de la variedad INCA LP-5, procedentes de la Estación Experimental de Arroz “Los Palacios”, Pinar del Río, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), durante el ciclo de primavera de los años 2003 y 2005, en un suelo Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Petroférrico [9]. Se tomaron 400 granos por cada muestra (4 réplicas de 100 granos cada una) con síntomas típicos de manchado del grano, los que se sometieron a secado natural durante 12 h hasta reducir el contenido de humedad al 12%.

Las muestras se trasladaron al Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) en sobres de papel kraft previamente esterilizados. Los granos se lavaron con agua corriente durante 30 min y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 10 min y etanol al 70% por 1 min. Posteriormente, se lavaron tres veces con agua destilada estéril (ADE) y se secaron sobre papel de filtro estéril (PFE) en condiciones asépticas.

Los granos se examinaron según el método de “blotter test” [10-12]. Para ello se colocaron en cajas Petri de 9 cm de diámetro contentivas de tres capas de PFE humedecido con 5 mL de ADE. En cada caja se colocaron 25 granos, los cuales se ubicaron a una separación de 15 cm entre ellos y bajo tres lámparas fluorescentes de 40 W, ubicadas a 40 cm de altura. Las muestras se incubaron bajo condiciones de alternancia de 12 h de luz fluorescente / 12 h de oscuridad a una temperatura de 22-24 °C, hasta la observación de estructuras fúngicas.

Las estructuras vegetativas y/o reproductivas de los hongos se observaron mediante un estereomicroscopio Zeiss SV-6 (con aumento de hasta 100X). Para su aislamiento, los propágulos se sembraron en cajas Petri con medio de agar agua, agar papa dextrosa, agar papa sacarosa y agar extracto de malta según el género y se incubaron a 26±2 °C en oscuridad durante 10 días. Se realizaron cultivos monospóricos a partir de las esporas producidas por los hongos sobre el material vegetal.

La identificación de los agentes fúngicos presentes se realizó mediante la observación y descripción en cuanto a tamaño, forma, coloración, distribución y agrupación de las estructuras vegetativas y/o reproductivas con el empleo de microscopios óptico y estereoscópico (Carl Zeiss Standard 25). Las características culturales y demás criterios taxonómicos, se compararon con los previamente informados por los siguientes autores: Onions [13,14], Rifai [15], Booth [16,17], Ellis [18-20], CMI [21], Sutton [22], Mercado [23], Ou [24], Agarwal *et al.* [25], Webster y Gunnell [26], Mew y Misra [27], Barnett y Hunter [28], López [29], Summerell *et al.* [30] y Estrada y Sandoval [31].

En muchos casos se realizaron microcultivos de algunas especies en los medios recomendados para las mismas.

Determinación de la patogenicidad de los hongos asociados con el manchado del grano de arroz: A partir de cultivos puros de 7 días en agar papa dextrosa de los aislamientos obtenidos previamente, se obtuvieron suspensiones de esporas y/o micelio, mediante la adición de 10 mL de ADE por placa. Se emplearon 3 placas por aislamiento. Las suspensiones se ajustaron a una concentración de 10⁵ UFC mL⁻¹.

Posteriormente se procedió a la inoculación de panículas sanas de arroz en la fase de floración y de granos sanos de la variedad INCA LP-5. Para la inoculación de las panículas se sembraron previamente semillas sanas y desinfectadas por el mismo método de desinfección empleado para el aislamiento; se eliminaron las plántulas que mostraran

alguna afectación o síntomas de enfermedad durante el ciclo vegetativo del cultivo. En la fase de floración, se inocularon las panículas mediante aspersión de 10 mL de las suspensiones fúngicas y se garantizaron condiciones de humedad. Se utilizó un tratamiento testigo inoculado con 10 mL de ADE.

En la etapa de maduración se evaluó la afectación por manchado (observación de síntomas) y se reislaron e identificaron los hongos responsables de dichos síntomas. Los granos (15 por réplica) se colocaron durante 10 min en 10 mL de las suspensiones correspondientes a los organismos aislados, y se dejaron secar por 1 h en láminas de PFE. El testigo se trató con ADE. Seguidamente, se colocaron en cámara húmeda, con alternancia de 12 h luz fluorescente/12 h oscuridad a una temperatura de 22-24 °C durante 15 días. Se evaluó la acción patógena de los aislamientos mediante la aparición de manchas. Los hongos aislados que cumplieron los postulados de Koch se catalogaron como agentes causales del manchado del grano en arroz.

Estudio estadístico: Se evaluó la incidencia de las especies de hongos aislados, mediante la relación del número de granos infectados por cada especie, respecto al total de granos evaluados. Se determinó además el porcentaje de granos infectados por hongos de las muestras de granos manchados.

Para el estudio de la variabilidad de la frecuencia de los hongos aislados en los dos ciclos de cultivo, se utilizó un ANOVA simple (Statgraphic versión 5.1), para lo cual los datos se transformaron mediante la expresión $2\text{Arcsen}\sqrt{\%}$. Se realizó una comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Para el análisis de los valores de porcentaje de granos infectados por hongos en los dos años, se empleó una comparación de medias con muestras independientes mediante el estadígrafo *t* de Student del programa Mexicano, versión 2.5 [32].

Resultados y discusión

Aislamiento, identificación e incidencia de los hongos asociados al manchado del arroz: En los dos ciclos muestreados, los hongos detectados en granos manchados de la variedad INCA LP-5 se agruparon en 35 especies, correspondientes a 19 géneros (Tabla 1). Durante el ciclo de primavera de 2003, se aislaron 19 especies agrupadas en 11 géneros, mientras que en la de 2005 se obtuvieron aislamientos correspondientes a 29 especies ubicadas en 18 géneros. Esta distribución desigual entre ambos años pudo estar determinada por una interacción diferenciada hospedero-patógeno-ambiente, como plantean Cárdenas *et al.* [33].

De forma general, a pesar de que en la primavera del 2005 se determinaron mayor cantidad de especies fúngicas, en la del año 2003 el porcentaje de incidencia fue superior (Tabla 2). Es posible que la causa de esto se relacione con las condiciones climáticas, las cuales no pudieron verificarse.

Muchos de las variedades son susceptibles al manchado

Tabla 1. Hongos presentes en granos manchados de arroz de la variedad INCA LP-5 durante las campañas de primavera de los años 2003 y 2005 en Cuba.

Agente fúngico	Campaña	
	2003	2005
<i>Alternaria padwickii</i>	x	x
<i>Alternaria</i> sp.	x	x
<i>A. flavus</i>	-	x
<i>Aspergillus niger</i>	-	x
<i>Aspergillus</i> sp.	x	x
<i>Bipolaris maydis</i>	x	x
<i>Bipolaris oryzae</i>	x	x
<i>Chaetomium</i> sp.	-	x
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	x
<i>C. oxysporum</i>	-	x
<i>Curvularia lunata</i>	x	x
<i>C. lunata</i> var. <i>aeria</i>	x	-
<i>C. pallescens</i>	-	x
<i>C. senegalensis</i>	-	x
<i>Curvularia</i> sp.	x	-
<i>Exserohilum rostratum</i>	-	x
<i>Fusarium merismoides</i>	x	-
<i>Fusarium solani</i>	x	x
<i>Fusarium</i> sp.	x	x
<i>Fusarium subglutinans</i>	x	-
<i>Fusarium verticillioides</i>	x	x
<i>Melanospora</i> sp.	-	x
<i>Mucor</i> sp.	-	x
<i>Nigrospora</i> sp.	x	-
<i>Penicillium italicum</i>	-	x
<i>Penicillium</i> sp.	x	-
<i>Phoma jolyana</i>	-	x
<i>Phoma medicaginis</i> var. <i>pinodella</i>	-	x
<i>Phoma</i> sp.	x	x
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	x
<i>Rhizopus stolonifer</i>	x	x
<i>Sarocladium oryzae</i>	x	x
<i>Sclerotium hydrophilum</i>	x	x
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	x
<i>Trichoderma</i> sp.	-	x

x: presencia de la especie fúngica. -: ausencia de la especie fúngica.

Tabla 2. Incidencia de especies fúngicas presentes en granos manchados durante las campañas de primavera de 2003 y 2005 en Cuba.

Especies de hongos	Incidencia por campañas (%)	
	Año 2003	Año 2005
<i>Alternaria padwickii</i>	6,5 b	3,5 bcd
<i>Alternaria</i> sp.	7,5 b	1,3 efg
<i>Aspergillus niger</i>	-	1,0 fg
<i>A. flavus</i>	-	0,5g
<i>Aspergillus</i> sp.	1,5 cd	0,8 g
<i>Bipolaris maydis</i>	1,0 d	1,0 fg
<i>B. oryzae</i>	19,0 a	11,0 a
<i>Chaetomium</i> sp.	-	0,5 g
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	1,3 efg
<i>C. oxysporum</i>	-	0,5 g
<i>Curvularia lunata</i>	3,5 bc	3,3 bcde
<i>C. lunata</i> var. <i>aeria</i>	1,5 cd	-
<i>C. pallescens</i>	-	0,5 g
<i>C. senegalensis</i>	-	0,5 g
<i>Curvularia</i> sp.	5,0 b	-
<i>Exserohilum rostratum</i>	-	1,0 fg
<i>Fusarium merismoides</i>	0,5 d	-
<i>F. solani</i>	2,0 cd	1,0 fg
<i>Fusarium</i> sp.	6,0 b	3,3 bcde
<i>Fusarium subglutinans</i>	1,5 cd	-
<i>F. verticillioides</i>	3,5 bc	2,5 bcdef
<i>Melanospora</i> sp.	-	0,5g
<i>Mucor</i> sp.	-	0,3 g
<i>Nigrospora</i> sp.	1,0 d	-
<i>Penicillium italicum</i>	-	1,5fg
<i>Penicillium</i> sp.	1,5 cd	-
<i>Phoma jolyana</i>	-	0,5 g
<i>P. medicaginis</i> var. <i>pinodella</i>	-	1,8 cdefg
<i>Phoma</i> sp.	5,5 b	5,5b
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	1,0 fg
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1,5 cd	1,5 defg
<i>Sarocladium oryzae</i>	6,0 b	3,7 bc
<i>Sclerotium hydrophilum</i>	1,5 cd	0,8 fg
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	0,3 g
<i>Trichoderma</i> sp.	-	1,0 fg
Error estándar de la media	0,1	0,1
% de granos infectados**	76,5	52,3

**t = 4,9. Los valores seguidos de las mismas letras no difieren significativamente entre sí ($p \leq 0,05$); las letras diferentes indican valores estadísticamente significativos.

del grano, como la variedad Reforma. Sin embargo, la variedad INCA LP-5 muestra resistencia a las enfermedades más importantes del cereal, según notifican Pérez y Castro [34] y Pérez y col. [7]. Sin embargo, Morejón *et al.* [8], notificaron que obtuvieron baja susceptibilidad al manchado

del grano y que esta tendencia se mantuvo inclusive durante la época de primavera, cuando las condiciones climáticas favorecen el desarrollo de enfermedades [35].

En los aislamientos obtenidos, los hongos *Alternaria padwickii*, *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Bipolaris oryzae*, *Chaetomium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *C. oxysporum*, *Curvularia lunata*, *C. lunata* var. *aeria*, *C. pallescens*, *C. senegalensis*, *Curvularia* sp., *Exserohilum rostratum*, *Fusarium* sp., *F. verticillioides*, *Melanospora* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Phoma jolyana*, *Phoma* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Sarocladium oryzae*, *Sclerotium hydrophilum* y *Trichoderma* sp., se encontraron asociados a los granos de arroz manchados, coincidiendo con lo informado por Castaño-Zapata [3], Gutiérrez *et al.* [4], Barrios y Pérez [36], Bonilla *et al* [37], Cardona y González [38], Neninger *et al* [39], Pineda *et al* [40].

En este estudio, se señalaron como nuevas especies asociadas a los granos de arroz en Cuba a las siguientes: *B. maydis*, *F. merismoides*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *P. italicum*, *P. medicaginis* var. *pinodella* y *Syncephalastrum racemosum*, que a su vez también tienen como hospederos el maíz, sorgo, pastos, pimiento y arvenses, según lo informado por Malaguti [41].

Los hongos *F. merismoides* y *F. solani* también se pueden encontrar en los suelos asociados con diferentes tipos de cultivos, como los ornamentales y hortícolas. El primero también ha sido encontrado frecuentemente en la rizosfera de plantas de trigo [42], mientras que *F. solani*, se haya tanto en cultivos de regiones tropicales como áridas y mediterráneas [43]. *F. subglutinans* es un hongo fitopatogénico presente en Cuba, que afecta varios tipos de cultivos a escala mundial, entre ellos caña de azúcar, piña, mango, banano, frijol, pino, grosella, vid, sorgo, trigo y maíz [44].

P. medicaginis var. *pinodella* tiene un amplio rango de hospederos, incluidas fabáceas y otras familias, pero fundamentalmente se conoce como un patógeno débil del guisante y el trébol; se ha aislado frecuentemente del suelo y puede encontrarse además en el heno y la paja [44]. *S. racemosum* se puede encontrar en alimentos y forrajes.

Al analizar la incidencia (Tabla 2), los mayores porcentajes se encontraron para los hongos *Bipolaris oryzae* (19% y 11% en 2003 y 2005, respectivamente), *Sarocladium oryzae* (6 y 3,7%), y especies de los géneros *Alternaria* (14 y 4,7%), *Fusarium* (13,5 y 6,7%), *Phoma* (5,5 y 7,7%) y *Curvularia* (10 y 4,2%). El patógeno *B. oryzae* tuvo la mayor incidencia en ambos ciclos, con diferencia significativa respecto a los restantes. Neninger *et al.* [39], obtuvieron esta misma tendencia, con predominio de las especies correspondientes a los géneros *Bipolaris-Drechslera*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Phoma* y *Sarocladium*. Resultados similares han sido informados por Cárdenas *et al.* [32] para la variedad J-104, donde la incidencia de *B. oryzae* correspondió a un 90% en igual época de siembra (primavera). Los resultados obtenidos difieren en cuanto al número de hongos aislados, ya que estos autores determinaron otros 4 grupos genéricos, entre ellos *Alternaria* y *Curvularia*, en menos de un 5%.

Bonilla *et al.* [37], encontraron alta incidencia de *S. oryzae* en muestras de granos manchados de las variedades Amistad 82, Bolito, J-104, IAC-14 y Perla, colectadas en La Habana y Pinar del Río (Cuba).

La diferencia en la frecuencia de estos hongos se encontró no sólo entre géneros, sino entre especies de un mismo género. Estrada y Sandoval [45], notificaron diferentes valores que varían desde 5 hasta 25% en especies de *Curvularia* aisladas a partir de distintas regiones, variedades y épocas de siembra. En este sentido, se han encontrado diferencias en la frecuencia de aparición de las especies del género *Phoma* que contribuyen al manchado del grano de arroz; para las variedades de arroz mencionadas en el párrafo anterior, la frecuencia de *Phoma* osciló entre 1,3 y 18,6% en el ciclo de primavera de 1999 en la provincia Pinar del Río, mientras que en La Habana alcanzó entre 5 y 24,5% para la variedad Perla durante la campaña de frío de 1998 [46]. Esto demuestra que las diferencias encontradas en la aparición de hongos en distintos años están influenciadas por el comportamiento del clima y la calidad de las medidas de control, sin obviar las variedades de arroz que, aunque no se conoce la resistencia de las mismas a este síndrome, juegan un papel importante en la manifestación de los síntomas.

El porcentaje de granos infectados (Tabla 2) también mostró diferencias significativas entre los años 2003 y 2005, siendo mayor en el primero, pero con mayor número de hongos aislados en el segundo. Esto pudiera atribuirse a una mayor competencia interespecífica entre los hongos presentes en el 2005, o a la ineficacia de las medidas preventivas para el manejo de la enfermedad en campo, unido a condiciones favorables para el desarrollo de la mayoría de los hongos, al menos por períodos de tiempo cortos.

Determinación de la patogenicidad de los hongos asociados con el manchado del grano de arroz: Los hongos *B. oryzae*, *Alternaria* sp., *A. padwickii*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *C. lunata*, *C. lunata* var. *aeria*, *C. pallenscens*, *C. senegalensis*, *Curvularia* sp., *S. oryzae* y *Phoma* sp., mostraron patogenicidad, tanto al ser inoculados en granos como en plantas, al reproducir nuevamente los síntomas de la enfermedad y ser reaislados a partir de las manchas causadas por éstos. De esta manera se constituyen agentes causales del manchado del grano de arroz.

Los síntomas ocasionados por estos agentes fitopatógenos variaron en cuanto al grado de manchado, desde manchas pequeñas (especies de *Curvularia* y *Phoma*), manchado total del grano (*B. oryzae* y en algunos casos *S. oryzae*), y coloración; aunque esta última fue generalmente pardo oscura, su intensidad dependió del patógeno en cuestión, con combinaciones grisáceas, rojizas (*S. oryzae*) o negruzcas (*Curvularia* sp. y *Phoma* sp.).

Bipolaris oryzae fue el hongo que causó los daños más intensos. Se caracterizó por mostrar manchas pardas oscuras a negras muy extendidas sobre la cubierta seminal y el endospermo; en la mayoría de los granos éstas cubrieron las glumas totalmente (Figura 1A). A simple vista, se observó

crecimiento micelial profuso, abundantes conidióforos y conidios sobre las manchas. Este patógeno ocasiona grandes pérdidas, ya que puede manifestarse de forma sistémica en la planta y causar daños como disminución de la germinación, pudrición de las semillas, marchitez de la panícula, tizones, marchitez y amarillamiento en semilleros, disminución del número de hijos y de la altura de las plántulas, manchas en hojas y lesiones sobre la raíz, reducción del número de granos por panícula y del peso de los mismos, senescencia temprana y reducción del rendimiento [39,44].

Las especies de *Alternaria* patógenas de arroz se asocian con el oscurecimiento y manchado del grano. *A. padwickii* produjo manchas de color pardo oscuro a negro en las glumas, localizadas fundamentalmente hacia los extremos del grano. Con el crecimiento de micelio abundante y la producción de conidióforos y conidios, estas manchas se tornaron posteriormente grisáceas o blanquecinas (Figura 1B), pero estuvieron en muchos casos delimitadas por un borde pardo oscuro. Al invadir el grano, el patógeno penetró al endospermo y produjo manchado negruzco en los bordes. Se plantea que el síntoma puede extenderse hasta la mitad de la longitud del grano, reseándolo y haciéndolo quebradizo. Gutiérrez *et al.* [4] señalaron que una infección severa por este hongo en las semillas, y la pudrición ocasionada por éste, pueden causar serios impactos en el cultivo, tanto en semillero como en campo, y que ha sido asociado con el tizón de plántulas y manchas foliares.

Las especies de *Curvularia* y más específicamente *C. lunata*, produjeron manchas desde muy oscuras a negras en los extremos o a lo largo de toda la superficie del grano, distribuidas de forma no homogénea, localizadas en numerosos puntos necróticos que convergieron indistintamente. Se observó deformación del grano, con ruptura de la cubierta seminal y desarrollo de abundante micelio, conidióforos y conidios, emergiendo del endospermo en dichas lesiones y de manchas en las glumas (Figuras 1C y 1D). Estos resultados concuerdan con los informados por el Compendio CABI [44], donde se asevera que la infección de los granos de arroz por *C. lunata* se caracteriza por un cambio de coloración de la aleurona y de la capa de almidón que torna la cáscara parda, y que en infecciones severas, el hongo produce manchas de color negro en los granos. Estrada y Sandoval [47], evaluaron la patogenicidad de especies de *Curvularia* sobre toda la planta de arroz, observando la aparición de manchas en hojas inoculadas, así como marchitez de la panícula, tizón de plántulas en semillero, manchado del grano y reducción de la germinación.

En el presente estudio se observó una decoloración de los granos de arroz por la acción de algunas especies de *Fusarium*, dando al grano una apariencia reseca y de color pajizo. Sin embargo, una parte de los granos inoculados con *F. verticillioides* mostró manchas que variaron de pardo claro a oscuras, con abundante esporulación y micelio blanquecino rosáceo, mientras que en la otra parte se observaron algunos granos decolorados parcial o totalmente (Figura 1E).

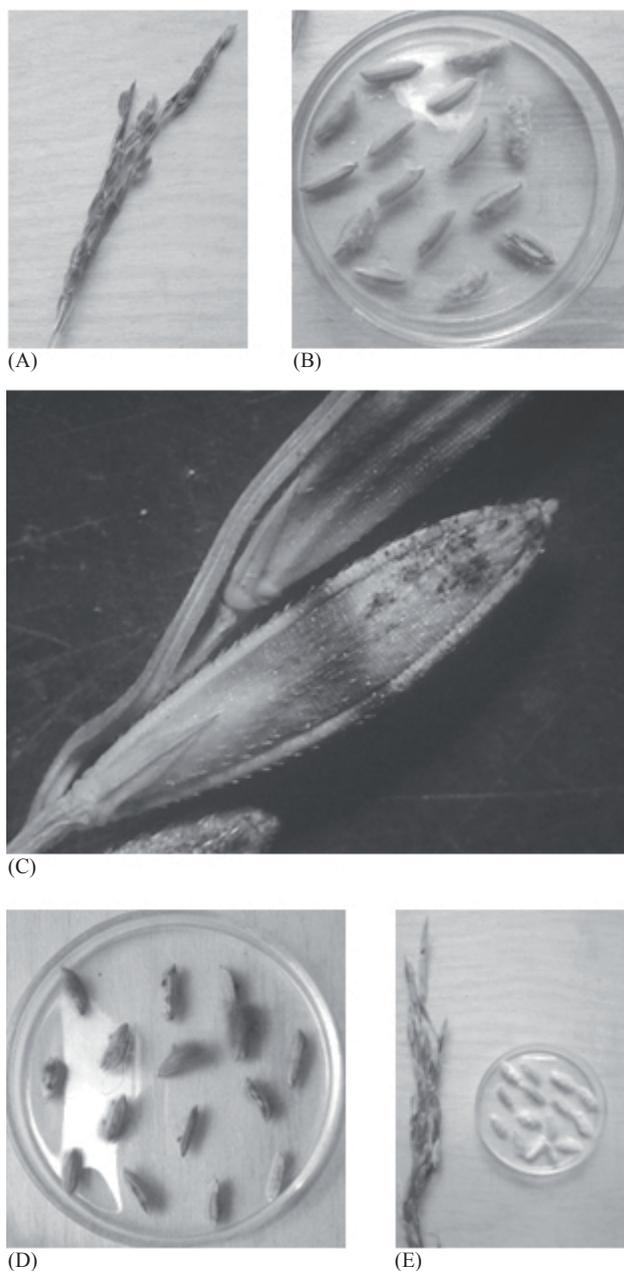


Figura 1. Síntomas causados por los hongos *Bipolaris oryzae* (A), *Alternaria padwickii* (B), *Curvularia lunata* (C y D) y *Fusarium verticillioides* (E) en pruebas de patogenicidad sobre granos y panículas de arroz inoculados.

F. verticillioides, antiguamente *F. moniliforme* [48], aunque aparece notificado como patógeno del grano, también causa una enfermedad asociada al crecimiento excesivo de plantas afectadas (“Bakanae”), afectaciones en semillero y esterilidad de las panículas. Las plantas infectadas, que ocasionalmente sobreviven hasta la madurez, originan panículas vanas, generalmente tienen muy bajo número de hijos y sus hojas se van secando una tras otra y mueren. Este patógeno también se asocia a la pudrición de los granos de arroz [24,39]. En otros estudios se ha comprobado que varias de las especies del género *Fusarium* causan marchitez y amarillamiento en semilleros de arroz, pudrición negra de los nudos y marchitez de la panícula. *F. subglutinans* produjo decoloración parcial o total en la mayoría de los

granos, y en algunos manchas pardas claras y abundante esporulación. Esta especie se informa por primera vez en Cuba como patógena del grano de arroz, aunque también afecta otros cultivos, como fue abordado anteriormente.

Phoma sp. causó manchas pardas claras de tamaño pequeño con presencia característica de abundantes picnidios que dieron apariencia de numerosos puntos negros al observarlos a simple vista, pero estos fueron pardo oscuros, de forma casi esférica. La presencia de micelio sobre el grano fue escasa y éste fue de color blanquecino o grisáceo. Estas observaciones son similares a las realizadas por Wong y Sandoval [46], quienes plantearon que las especies de *Phoma* están frecuentemente asociadas a los granos, en los cuales pueden causar manchas que crecen sobre los mismos con escaso micelio blanco o cenizo y pueden producir abundantes picnidios. También afirman que bajo condiciones de alta humedad pueden ocasionar necrosis foliares y se han encontrado en diferentes categorías de granos de arroz que abarcan desde aparentemente sanos hasta manchados vanos.

S. oryzae es el agente causal de la pudrición de la vaina, enfermedad que cobra importancia desde su aparición en Cuba a partir de 1997. Se puede encontrar en la cubierta seminal, endospermo y embrión. En las inoculaciones realizadas, se observó que este hongo causó manchas de diversos tipos, tamaño y coloración; algunos granos resultaron decolorados, otros mostraron manchas puntuales pardo rojizas, y en otros casos de color pardo oscuro que llegaron a converger causando necrosis total de los granos. Este patógeno provocó, además, amarillamiento y marchitez de las plántulas en semillero, pudrición de las semillas, esterilidad, no emergencia de la panícula, reducción del porcentaje de germinación y del número de espiguillas por panículas, del peso y contenido de azúcares totales, así como de almidón proteínas de los granos [39,44,49].

El estudio de los hongos fitopatógenos presentes en los granos de arroz manchados, constituye la base para poder realizar un programa o una estrategia de manejo adecuados.

Las especies de hongos que no fueron patogénicas, son generalmente saprófitas, y no causan afectaciones importantes al cultivo. No obstante, algunas pudieran estar relacionadas con la producción de micotoxinas (*Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp.), que tienen una repercusión importante en la salud humana y animal, como refieren Lima *et al* [50] en su trabajo sobre micoflora y especies aflatoxigénicas en derivados de arroz molido. Por otra parte, la especie *Sclerotium hydrophilum*, causante de podredumbre de tallo, que ha sido aislada de arroz y comprobada su patogenicidad por otros autores, como Cedeño *et al* [51] en nuestras condiciones experimentales no reprodujo los síntomas al ser inoculada, por lo que no se consideró como patógena en nuestro trabajo.

Conclusiones

Se determinaron 35 especies, correspondientes a 19

géneros de hongos, asociadas al manchado del grano en la variedad INCA LP-5; entre ellas, se señalan como nuevos informes para Cuba: *B. maydis*, *F. merismoides*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *P. italicum*, *P. medicaginis* var. *pinodella* y *S. racemosum*.

Los hongos de mayor incidencia fueron *B. oryzae*, *S. oryzae* y especies de los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Curvularia* y *Phoma*.

Se confirmó que los hongos *F. subglutinans* (nuevo informe), *B. oryzae*, *A. padwickii*, *Alternaria* sp., *F. verticillioides*, *C. lunata*, *C. lunata* var. *aeria*, *C. pallescens*, *C. senegalensis*, *Curvularia* sp., *Phoma* sp. y *S. oryzae*, son agentes causales del manchado del grano de arroz.

Referencias

- Instructivo técnico del cultivo de arroz. Instituto de Investigaciones del Arroz. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Ministerio de la Agricultura. La Habana: Ediciones Ministerio de la Agricultura; 2006.
- Castaño J, Klap K, Zaini Z. Etiology of grain discoloration in upland rice at West Sumatra. *Int Rice Res New*. 1991; 16:21-2.
- Castaño J. Etiología del manchado del grano en arroz de secano en Colombia e Indonesia. *Arroz*. 1998; 413:24-32
- Gutiérrez SA, Mazzanti de Castañón MA, Cúndom MA. Hongos presentes en semillas de arroz del noreste de Argentina. *Fitopatología*. 2002; 37:156-63.
- Pincioli M, Sisterna M, Bezus R, Vidal AA. Manchado del grano de arroz: efecto de la fertilización nitrogenada. *Rev Fac Agron Univ Nac La Plata*. 2003; 105:88-96.
- Sisterna M, Lori GA, Marassi JJ. Sintomatología y hongos asociados al manchado del grano de arroz en el genotipo Irga 409. *Rev Fac Agron Univ Nac La Plata* 1994; 70:13-21.
- Pérez N, González MC, Castro RI. Validación de nuevas variedades cubanas de arroz (*Oryza sativa* L.) para la provincia de Pinar del Río. *Cultivos Tropicales*. 2002; 23:51-4.
- Morejón R, Hernández JJ, Díaz SH. Comportamiento de variedades comerciales de arroz (*Oryza sativa* L.) en cuatro granjas del Complejo Agroindustrial Arrocero "Los Palacios". *Cultivos Tropicales* 2005; 26:77-81.
- Hernández A, Ascanio MO, Morales M, León A. La historia de la clasificación de los suelos en Cuba. La Habana: Editorial Félix Varela; 2006.
- International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA). *Seed Sci Technol*. 1999; 27:333.
- International Rules for Seed Testing. 7-010: Detection of *Drechslera oryzae* on *Oryza sativa* (Rice). Annexe to chapter 7: Seed Health Testing Methods. Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association (ISTA); 2008.
- International Rules for Seed Testing. 7-012: Detection of *Alternaria padwickii* on *Oryza sativa* (Rice). Annexe to chapter 7: Seed Health Testing Methods. Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association (ISTA); 2002.
- Onions AH. *Aspergillus flavus*. In: Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. England: Commonwealth Mycological Institute (CAB); 1966.
- Onions AH. *Aspergillus niger*. In: Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. England: Commonwealth Mycological Institute (CAB); 1966.
- Rifai MA. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* N° 116. England: Commonwealth Mycological Institute (CAB); 1969.
- Booth C. The genus *Fusarium*. England: Commonwealth Mycological Institute; 1971.
- Booth C. *Fusarium: laboratory guide to the identification of the major species*. England: Commonwealth Mycological Institute; 1977.
- Ellis MB. Dematiaceous Hyphomycetes. England: Commonwealth Mycological Institute; 1971.
- Ellis MB. Dematiaceous Hyphomycetes. England: Commonwealth Mycological Institute; 1993.
- Ellis MB. More Dematiaceous Hyphomycetes. England: Commonwealth Mycological Institute; 1993.
- Sarocladium oryzae*. In: Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. England: Commonwealth Mycological Institute; 1980.
- Sutton BC. The Coelomycetes: fungi imperfecti with picnidia, acervuli and stromata. England: Commonwealth Mycological Institute; 1980.
- Mercado A. Hifomicetes dematiáceos de Sierra del Rosario, Cuba. La Habana: Editorial Academia; 1984.
- Ou SH. Rice Diseases. 2nd Edition. England: Commonwealth Mycological Institute; 1985.
- Agarwal PC, Mortensen CN, Mathur SB. Seed-borne diseases and seed health testing of rice. *Phytopathological Papers* N° 30. Technical Bulletin N° 3. Copenhagen, Denmark: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries; 1989
- Webster RK, Gunnell PS Editors. Compendium of rice diseases. St. Paul: American Phytopathological Society; 1992.
- Mew TW, Misra JK. A manual of rice seed health testing. Laguna: International Rice Research Institute; 1994.
- Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Edition. Minnesota: Burgess Publishing Company; 1999.
- López D. Contribución al diagnóstico de las especies del género *Fusarium* Link. Tesis en opción al título académico de Maestro en Ciencias en Sanidad Vegetal. Mención Fitopatología. La Habana: Instituto Nacional de Sanidad Vegetal (INISAV); 2003.
- Summerell BA, Salleh B, Leslie JFA. Utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Dis*. 2003; 87:117-28.
- Estrada G, Sandoval I. Manual para la identificación de especies de *Curvularia* aisladas de la semilla de arroz. La Habana: Ediciones Ministerio de la Agricultura; 2005.
- Programa Mexicano, versión 2.5. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León; 1994.
- Cardenas RM, Cristo E, Pérez N, González M, Rivero D, Cruz A. Comportamiento del manchado del grano en variedades de arroz (*Oryza sativa* Lin.) de ciclo medio. *Fitosanidad*. 2004; 8:39-44.
- Perez N, Castro RI. Report of new varieties: a new short cycle rice variety: INCA LP-5. *Cultivos Tropicales*. 2000; 21:55.
- Díaz SH, Morejón R, Castro R, Pérez N, González MC. Evaluación de variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) para la época de primavera en Pinar del Río. *Cultivos Tropicales*. 2004; 25:77-81.
- Barrios LM, Pérez IO. Nuevos registros de hongos en semillas de *Oryza sativa* en Cuba. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (Costa Rica). 2005; 75:64-7.

37. Bonilla T, López MO, Sandoval I, Tomás Y. Micobiota de las plantas de arroz afectadas por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks., en diferentes localidades de La Habana y Pinar del Río. Fitosanidad. 2002; 6:39-42.
38. Cardona R, González MS. Caracterización y patogenicidad de hongos del complejo *Helminthosporium* asociados al cultivo del arroz en Venezuela. Bioagro. 2008; 20:141-5.
39. Neninger LH, Hidalgo E, Barrios LM, Pueyo M. Hongos presentes en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) en Cuba. Fitosanidad. 2003; 7:7-11.
40. Pineda JB, Colmenares O, Mendez N, Gutiérrez L. Niveles de hongos fitopatógenos asociados a la semilla de arroz (*Oryza sativa*). Rev Fac Agron (LUZ). 2007; 24:481-500.
41. Malaguti G. Capítulo 6: "Protección y Sanidad Vegetal". En: 'El maíz en Venezuela'. Caracas: Fundación Polar; 2000.
42. Gherbawy YA, Maghraby TA, Shebany YM. Seasonal variations of *Fusarium* species in wheat fields in Upper Egypt. Arch Phytopathol Plant Protect. 2006; 39: 365-77.
43. Sangalang AE, Gurgess LW, Backhouse D, Duff J, Wurst M. Mycogeography of *Fusarium* species in soils from tropical, arid and Mediterranean regions of Australia. Mycol Res. 1995; 99:523-8.
44. Crop Protection Compendium London: CABI; 2004. Disponible en: www.cabicompendium.org/cpc . Acceso 12 de diciembre 2011.
45. Estrada G, Sandoval I. Incidencia de *Curvularia* spp. en el manchado del grano de arroz de algunas variedades de las provincias de Pinar del Río y La Habana. Fitosanidad. 2001; 5:3-5.
46. Wong W, Sandoval I. Incidencias de *Phoma* spp. en el manchado del grano del arroz de algunas variedades de las provincias de La Habana y Pinar del Río. Fitosanidad. 2001; 5:21-3.
47. Estrada G, Sandoval I. Patogenicidad de especies de *Curvularia* en arroz. Fitosanidad. 2004; 8:23-6.
48. Keith A, Past-Chair S, Aoki T, Baayen RP, Brayford D, Burgess LW, et al. The name *Fusarium moniliforme* should no longer be used. Mycol Res. 2003; 107:643-4.
49. Pueyo M, Neyra M, Pupo AD, Rodríguez G, Alarcón L. Influencia de *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks en la germinación de semillas de arroz. Fitosanidad. 2002; 6:31-4.
50. Lima CAP, Orsi RB, Dilkin P, Correa B. Mycoflora and aflatoxigenic species in derivatives of milled rice. Ciênc Tecnol Aliment. 2000; 20:37-9.
51. Cedeño L, Nass H, Carrero C, Cardona R, Rodríguez H, Alemán L. *Sclerotium hydrophilum* en arroz en Venezuela. Fitopatol Venez. 1997; 10:9-12.