

Sintomatología y hongos asociados al manchado del grano de arroz en el cultivar Irga 409

Marina N Sisterna^{1*}, Gladys A Lori^{1*} y JJ Marassi²

¹ Departamento de Sanidad Vegetal, Fitopatología; ² Departamento de Producción Vegetal, Cerealicultura
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. CC 31, 1900 La Plata, Argentina

Recibido: 18 de Marzo de 1993. Aceptado: 19 de Abril de 1994

RESUMEN

El "manchado de los granos de arroz" puede ser causado por gran número de hongos. La presencia de los diversos tipos de manchas o coloración reduce la calidad del producto. Puede aparecer externamente en las glumelas o internamente en los granos, o ambas.

A partir de granos que presentaban esta patología se describieron los síntomas y se determinaron los agentes involucrados en la misma.

Se analizaron semillas del cultivar "Irga 409" provenientes de las provincias de Corrientes y Formosa, que serían luego destinadas a consumo bajo el proceso de "parbolizado".

Se empleó el método del papel de filtro ("blotter test") según las normas impartidas por ISTA (International Seed Testing Association).

Los síntomas observados fueron diversos: granos con puntuaciones negras, pigmentados, yesosos, manchados, etc.

Los hongos involucrados fueron: NN (especie aún no determinada), *Curvularia lunata*, *C. protuberata*, *Bipolaris oryzae*, *Epicoccum* spp., *Alternaria* sp., *Fusarium semitectum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* y *F. oxysporum*. No se encontró correlación entre los distintos síntomas observados y cada uno de los diferentes organismos aislados.

Aproximadamente un 70% de los granos presentaron como agente asociado a esta alteración a NN, resultando por lo tanto el hongo de mayor frecuencia de aparición e importancia en el manchado del arroz.

Palabras clave: arroz, manchado y calidad del grano, *Curvularia* spp, *Fusarium* spp, *Bipolaris oryzae*

* Miembros de la Carrera del Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (C.I.C.)

Rice grain spotting symptomatology and associated fungi in cultivar Irga 409

SUMMARY

Rice grain spotting may be caused by a large number of fungi. The presence of the different types of spots or discoloration decrease the product quality. It may appear externally on the lemma and palea or internally on the kernels, or both.

From kernels that showed this pathology, symptoms were described, the agents associated with it were determined.

Seeds from the cultivar "Irga 409" coming from Corrientes and Formosa provinces were analyzed. They were to be consumed under parboiling process.

Following the rules given by the International Seed Testing Association, the blotter test method was used.

The symptoms observed were diverse: kernels with black dots, discoloured, chalky, spotted, etc.

The fungi involved were: NN (species still undetermined),

Curvularia lunata, *C. protuberata*, *Bipolaris oryzae*, *Epicoccum* spp, *Alternaria* sp, *Fusarium semitectum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* y *F. oxysporum*.

Correlation between the several symptoms observed and each of the different isolated organisms were not found. Approximately 70% of the grains showed that NN was the agent concerned with this disorder. So, this fungus results the most frequent and important organism related with the rice grain spotting.

Key words: rice, spotting and quality grain, *Curvularia* spp, *Fusarium* spp, *Bipolaris oryzae*

INTRODUCCION

El grano de arroz puede ser afectado en su constitución y aspecto normal antes o después de la cosecha por una gama de microorganismos que causan fallas en la formación del grano o pigmentación del mismo. Esta alteración es comunmente llamada "manchado del grano de arroz" o "pecky rice". Puede aparecer externamente en las glumelas o internamente en los granos, o ambas (Ou, 1972).

El daño causado por los patógenos presentes en la semilla puede variar. Los principales efectos son:

a) **reducción de la viabilidad:** alta relación entre el desarrollo de hongos en la semilla y la germinación de la misma. Puede ocurrir tizón de la plántula y otras enfermedades

cuando se siembran granos marchados.

b) **reducción de la calidad:** puede manifestarse una leve pigmentación o granos severamente afectados y de bajo peso que se pierden en las operaciones de cosecha. Muchos de los granos dañados tienen textura yesosa y se quiebran en el proceso de molienda, por lo tanto la producción de la panoja se puede reducir apreciablemente.

Cuando el arroz es parbolizado, es decir remojado, sometido a una elevación acentuada de temperatura y posteriormente secado para conseguir de ese modo la difusión de minerales, vitaminas y aminoácidos hacia el endosperma, ocurren pérdidas adicionales. Este proceso de parbolizado acentúa el daño

de los granos e incrementa la intensidad del manchado. La presencia de cualquiera de los diversos tipos de manchas en el grano o coloración reduce la calidad del producto y por lo tanto su precio (Atkins, 1974). Este problema está asociado a diversos factores pre-disponentes: climáticos (baja temperatura ambiente y altas temperaturas en el período vegetativo; alta humedad en la etapa de premaduración del grano), edáficos (suelos arenosos con bajo contenido en materia orgánica y nutrientes) y bióticos (presencia de insectos chupadores) (Ou, 1972; Salive y Vargas, 1988).

Según diversas investigaciones (Bedi y Gil, 1960; Duraiswamy y Mariappan, 1983; Fazli y Schroeder, 1966 a; 1966 b; Martin y Altstait, 1940; Roy, 1983) el manchado de los granos de arroz puede ser causado por gran número de hongos que conforme con la sintomatología, recibe un nombre específico. Hasta ahora no ha sido determinada la presencia de un único hongo causando este desorden.

Sobre esta enfermedad también se ha trabajado ampliamente en América Latina (Battista y Gayo, 1950; Ferrer *et al.*, 1980; Ribeiro y Mariot, 1974). A partir de 1980 se ha visto en algunos de estos países un incremento en el problema del "manchado del grano", el cual ha estado causando grandes pérdidas a los agricultores, no sólo mediante la disminución en los rendimientos sino en la calidad del grano (Albormoz, 1983; Salive y Vargas, 1985; Soave *et al.*, 1985; Urben y Wetzol, 1980; Rodríguez *et al.*, 1988).

En los últimos años, en nuestro país y según comunicaciones personales, el manchado de los granos en la panoja ha comenzado a cobrar importancia ya que va aumentando en proporciones cada vez más alarmantes. No sólo se ha observado en material de origen nacional sino también en el introducido de Brasil y Uruguay.

En la Argentina el manchado de los granos de arroz aún no ha sido investigado, encontrándose en la revisión bibliográfica trabajos sobre patógenos que afectan la viabilidad de la semilla (Marchionatto, 1949; Winter *et al.*, 1974).

Debido a esto, el objetivo del trabajo fue describir los síntomas del manchado del arroz, aislar y determinar la frecuencia de aparición de los microorganismos involucrados en el mismo.

MATERIALES Y METODOS

Se recibieron 8 muestras de semillas del cultivar "Irga 409" con problemas de manchado provenientes de las provincias de Corrientes (Itabaité y Virasoro, 2 y 3 muestras respectivamente) y Formosa (3 muestras) de la campaña 88/89. La producción del cv. Irga 409 se destina para el consumo bajo el proceso de parbolizado que acentúa más la mala calidad y el quebrado por el manchado.

Análisis de las muestras

El análisis se realizó a los 30 días de cosechadas. Las mismas se agruparon formando una muestra compuesta. Inicialmente se examinaron, para su evaluación cualitativa, divididas en dos categorías: a) sin diferenciar los síntomas y b) separando los granos por síntomas, para comprobar si había relación entre cada uno de ellos y algún organismo en particular.

El aislamiento de los patógenos se realizó de dos maneras:

A) Método del papel de filtro

Para el método del papel de filtro ("blotter test") se siguieron las normas impartidas por ISTA (International Seed Testing Association) (Neergard, 1974).

En este caso se analizaron granos con

cáscara y sin cáscara. A su vez se siguieron dos procedimientos: sin desinfección y con desinfección. Esto último mediante pasajes sucesivos en alcohol 70%, bicloruro de mercurio al 1% y agua estéril. De cada tratamiento se analizaron 200 semillas.

B) En distintos medios de cultivo

Se realizaron siembras de granos sin cáscara en agar papa glucosado (APG), agar malta (AM), agar arroz (AA), y agar de Martin (A Martin). Se analizaron 100 semillas sin desinfección y 100 con desinfección.

Identificación de los hongos aislados

A partir de los métodos anteriormente mencionados (A y B) se practicaron aislamientos directos de las estructuras fúngicas (micelio, estromas, pionnotes y/o conidios) a APG. Se incubaron en cámara de cría ($21 \pm 1^\circ \text{C}$; 75% de humedad relativa y alternancia de 12 horas de luz con luz cercana al ultravioleta (NUV) y 12 horas de oscuridad).

Para la identificación de las distintas especies se estudiaron los caracteres morfo-biométricos y culturales de cada uno de ellos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Descripción de los síntomas

* Granos con cáscara

- Manchas alargadas de bordes indefinidos, de color castaño claro a castaño oscuro que podían abarcar desde un 25% de las glumelas hasta la totalidad de las mismas.

- Manchas redondas con el centro color castaño claro y borde definido castaño oscuro. Su número variaba según la intensidad del daño.

* Granos sin cáscara

- Puntuaciones negras ubicadas tanto en forma dispersa como manteniendo una disposición lineal (Fig. 1).

- Pigmentados: verdes, púrpuras, ocre. En este caso la coloración se observaba en la totalidad del grano.

- Yesosos "chalky": el endosperma naturalmente de apariencia vítrea y translúcida, se tomaba blanca y opaca (Fig. 2).

- Manchas blanco-amarillentas con bordes castaño oscuros, redondeadas, a veces confluentes (Fig. 3 a y b).

- Manchas ocre-anaranjado a castaño y castaño a negro. La pigmentación abarcaba sectores desde el 25 al 100% del grano. En estos casos los mismos colapsaban, quedando con apariencia de granos quemados (Fig. 3 c y d).

Al tratar de correlacionar los síntomas de los granos contaminados con la aparición de algún organismo en particular, se observó que no existía relación alguna a diferencia de lo citado por Ou (1972). Ante estos resultados se optó por realizar el análisis sin la diferenciación de los síntomas.

Aislamiento de los microorganismos presentes en la semilla

En cuanto a los dos métodos aplicados (Tabla 1), el comportamiento de los organismos no fue uniforme. La técnica del papel de filtro resultó más ventajosa debido a la menor presencia de agentes contaminantes, que facilitó el conteo y aislamiento de los hongos presentes en la semilla.

Los hongos encontrados mediante los dos métodos fueron los siguientes: *NN*; *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn; *C. protuberata* Nelson y Hodges; *Bipolaris oryzae* (B. de Haan) Shoem.; *Epicoccum* spp; *Alternaria* sp; *Fusarium semitectum* Berk y Rav.; *F. equiseti* (Corda) Sacc.; *F. graminearum* Schwabe y *F. oxysporum* Schlecht.

De las semillas analizadas la frecuencia de aparición de los distintos hongos según el método utilizado se resume en la Tabla 1.

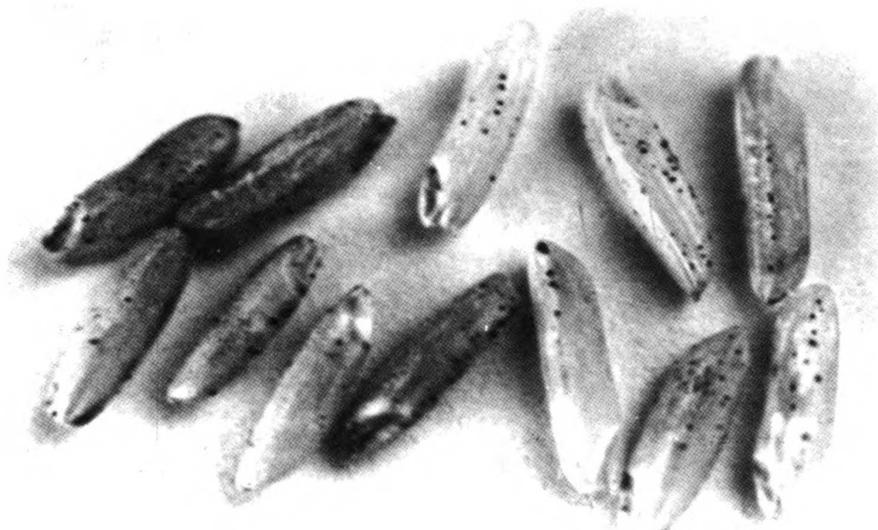


Figura 1: Granos de arroz con puntuaciones negras (x 2,5)
Rice grains with black dots

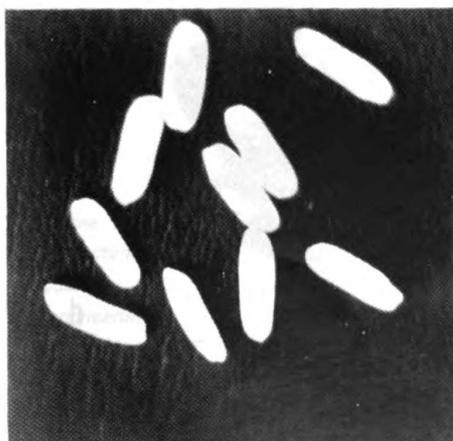


Figura 2: Granos yesosos ("chalky") (x 1,5)
Chalky grains

De lo expuesto en estos resultados se deduce que NN fue el hongo más frecuentemente aislado. A pesar de la desinfección realizada en los granos con y sin cáscara, fue el microorganismo que más incidió en el problema del manchado.

Los valores detectados, que oscilaron entre el 30 y 90%, merecen destacarse al compararlos con los datos obtenidos para los restantes hongos, que comúnmente son los citados en esta patología (Jayaweera *et al*, 1988; Ou, 1972; Rodríguez *et al*, 1988; Salive y Vargas, 1985; Schroeder, 1964).

Cuando se realizaron los aislamientos se comprobó que los granos sembrados por los distintos métodos, presentaban cuerpos estromáticos negros ubicados debajo del



a



b



c



d

Figura 3: Granos de arroz con manchas de distinta intensidad (desde blanco-amarillentas a pardo-oscuro) (x 1,5)

Rice grains with spots at different intensity (from white-yellowish (a) to dark brown (d))

pericarpio. Durante la hidratación estos cuerpos aumentaban varias veces su volumen, provocando la destrucción de los granos que mostraban un aspecto deformado, invadido por estas estructuras. Al transferir estos cuerpos a APG desarrollaba una colonia blanco-grisácea estéril (Fig. 4).

Con el fin de lograr su esporulación y poder ubicarlo taxonómicamente fue cultivado en distintos medios (APG; AM; AA; A Martin), y a su vez expuestos a distintos fotoperíodos (oscuridad total; 12 horas de luz más 12 horas de oscuridad), luz NUV, y diferentes temperaturas (10°; 21° y 27°C). A pesar de todo lo ensayado, sólo desarrolló un micelio aéreo tabicado blanco-grisáceo con un sustrato que se tornaba negro con el tiempo. Este correspondía a grupos de cuerpos estromáticos que no

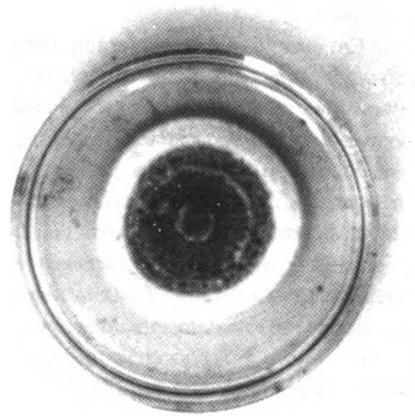


Figura 4: Colonia desarrollada en APG del hongo NN (x 0,75)
NN colony developed in APG

Tabla 1: Porcentaje de granos contaminados con los hongos aislados según los distintos métodos aplicados.

Percentage of contaminated grains with the isolated fungi by different methods.

| Métodos | Papel de filtro | | Medios de cultivos | | | |
|----------------------|-----------------|-------|--------------------|-------|-------------|-------|
| | Sin cáscara | | Con cáscara | | Sin cáscara | |
| Hongos | c/des* | s/des | c/des | s/des | c/des | s/des |
| NN | 57 | 56,7 | 41,6 | 30 | 88 | 90 |
| C.junata | 4 | 4,4 | 0,8 | 2 | 3 | 3 |
| B. oryzae | 1 | 1,3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F.semitectum | 0 | 4,3 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| F.equiseti | 0 | 3,2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F.graminearum | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F.oxysporum | 0 | 0,7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alternaria sp | 0 | 0,3 | 0 | 8 | 2 | 0 |
| Epicoccum sp | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C.protuberata | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |

(*) c/des: con desinfección s/des: sin desinfección

desarrollaron ningún tipo de esporas.

Ante este resultado negativo a los efectos de identificar el microorganismo en cuestión, se enviaron colonias a distintos centros de investigación (Instituto de Botánica Spegazzini, UNLP; Servicio de Identificación del Commonwealth Mycological Institute, Inglaterra; Centro Internacional de Agricultura Tropical, Colombia y Dr JL Alcorn, Universidad de Queensland, Australia).

Hasta el momento las respuestas recibidas no aportaron ningún dato concreto que oriente hacia la clasificación del mismo. Únicamente el Dr JL Alcorn menciona que estos cuerpos estériles sin diferenciación interna, podrían tratarse de "prototecios" (estructuras que semejan ascocarpos maduros, pero carentes de ascas).

La bibliografía consultada sobre manchado del grano, no registra antecedentes sobre un organismo de comportamiento y características morfológicas similares a las

descriptas.

En cuanto a los restantes hongos *Curvularia lunata* se observó en todos los tratamientos realizados. En este caso fue la especie de este género más encontrada, en coincidencia con otros autores que la consideran la principal causa del "black kernel" (Martin y Minarik, 1939; Martin y Altstalt, 1940; Tabenhaus et al, 1935; Tabenhaus y Wyche, 1936; Tullis, 1936). Asimismo Duraiswamy y Mariappan (1983) la detectan juntamente con *Bipolaris oryzae* y *Trichocconis padwickii* en granos con pigmentación púrpura y castaña, en porcentajes de 5 y 3 respectivamente.

Según los resultados observados, la infección se produciría durante la floración y/o formación del grano, pues los porcentajes en semillas desinfectadas y no desinfectadas se mantuvieron estables. Este comportamiento indicaría que este hongo se ubica por debajo del pericarpio permaneciendo aún después de la desinfección del mismo.

Otra especie que se aisló fue *C. protuberata*, en un escaso número de semillas, no habiéndose encontrado antecedentes de este organismo provocando manchado del grano.

Bipolaris oryzae se manifestó en granos sin cáscara (con y sin desinfección) con valores semejantes. A pesar de que esta especie fue encontrada como principal agente patógeno en distintos países (Duraiswamy y Mariappan, 1983; Salive y Vargas, 1985; Schroeder, 1964), en esta experiencia fue aislada, pero su incidencia no fue tan relevante.

Considerando el conjunto de las especies de *Fusarium* se detectó que hubo una presencia relativamente importante. Entre estas especies la predominante fue *F. semitectum* también citada por otros autores (Arunyanart et al, 1984; Tabenhaus et al, 1935). Cabe destacar que las restantes especies de *Fusarium* sólo se hallaron en las muestras que no fueron desinfectadas, lo que demostraría

que la penetración de estos hongos se produce luego del llenado del grano, ubicándose entre éste y las glumelas, sin afectarlo. Pudo observarse que un elevado número de granos por debajo del micelio de *Fusarium* evidenció la presencia de los cuerpos negros de NN ubicados entre el pericarpio y el endosperma.

Del análisis de esta patología que afecta la calidad del grano, se deduce que el estudio realizado por los investigadores en la mayoría de los casos no mantienen un criterio uniforme en el tratamiento del tema. La terminología empleada, los organismos involucrados y los síntomas que se describen se engloban como si se tratasen de un único problema. Se confunden indistintamente los conceptos sobre semillas con alteraciones que afectan su viabilidad y los que estudian la reducción de la calidad del grano.

En cuanto a la aparición de esta afección, cabe destacar la concordancia que existió entre los factores predisponentes hallados en la bibliografía (Salive y Vargas, 1985) y los existentes en el área de producción de la cual procedían las muestras (com. pers.)

En la presente investigación con respecto a la sintomatología, no se encontró correlación entre los distintos síntomas observados y cada uno de los diferentes hongos aislados.

En aproximadamente un 70% de los granos analizados, el organismo asociado a esta alteración fue NN, resultando por lo tanto el más importante de los hongos que intervienen en el manchado. Este es el primer antecedente de un patógeno con las mencionadas características sobre arroz.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr JL Alcom (Department of Primary Industries, Queensland, Australia) por las sugerencias realizadas en el estudio del agente denominado NN.

BIBLIOGRAFIA

- Albornoz R** (1983) Etiología y cálculo de pérdidas causadas por Manchado de Granos en los Llanos Orientales. Rev Soc de Ingenieros Agrónomos del Llano 3: 14-17
- Arunyanart P, A Surin and S Disthaporn** (1981) Seed discoloration disease and its chemical control. Int Rice Res News 6:14-15
- Atkins J** (1974) Rice diseases of the Americas: a review of literature. Agriculture Handbook 448. Agric Res Serv USDA, 106 pp
- Batista AC y T de J Gayo** (1950) Doenças do arroz en Pernambuco. Bol Agr Pernambuco 17: 181-185
- Bedi KS and HS Gill** (1960) Losses caused by the brown leaf spot diseases of rice in Punjab. Indian Phytopath 13: 161-164
- Duraeswamy VS and V Marlapen** (1983) Rice grain discoloration. Inst Rice Res News 8: 9-10
- Fazil SFI and HW Schroeder** (1966 a) Kernel infection of Bluebonnet 50 rice by *Helminthosporium oryzae*. Phytopathology 56: 507-509
- Fazil SFI and HW Schroeder** (1966 b) Effect of kernel infection of rice by *Helminthosporium oryzae* on yield and quality. Phytopathology 56: 1003-1005
- Ferrer A, W Pewart and M Riveira** (1980) Control of pathogenic fungi transmitted by rice seeds. Ciencia Agropecuaria 3: 113-117
- Marchionatto JB** (1949) Hongos exóticos. Rev Bot Lilloa 21: 135-153
- Martin AL and CE Minarik** (1939) Physiology and disease of rice. Tex Agr Expt Sta 52nd Ann Rept 169-170
- Martin AL and GE Altstalt** (1940) Black kernel and white tip of rice. Tex Agr Expt Sta Bul 584, 14 pp
- Neergaard P** (1974) Report of the Fourth Regional Workshop on Seed Pathology for Developing Countries. Inst Seed Path for Developing Count 22 pp
- Ou SH** (1972) Rice diseases. CMI Kew Surrey England, 368 pp
- Rao PN and MA Salam** (1954) *Curvularia* species from discoloured grains from Hyderabad. J Indian Bot Soc 33: 268-271
- Ribeiro AS and C Marlot** (1974) Condições fitossanitárias das sementes de arroz no Rio Grande do Sul. Lavoura Arrozeira Porto Alegre 272: 48-52
- Rodríguez H, H Nass y L Alemán** (1988) Incidencia y control del manchado del grano de arroz. Fitopatol. Venezolana 1: 5-7
- Roy AK** (1983) Rice grain discoloration in Assam, India. Int Rice Res News 8:10
- Salive A y JP Vargas** (1985) Manchado del grano de arroz. Arroz 34: 9-17
- Schroeder H** (1964) Grain discoloration in Belle Patna rice. PI Dis Rep 48: 288-291
- Soave J, MA Pizzinato, JA Usberti Filho, LE Azzini, OB de A Camargo, O Villela y P Gallo** (1985) Comportamento de cultivares de arroz irrigado em relação a fungos manchadores de sementes. Bragantia 44: 331-346
- Tabenhaus JJ, GE Altstalt and RH Wyche** (1935) Black kernel of rice. 48th Ann Rept Tex Agr Exp Sta p 94
- Tabenhaus JJ and RH Wyche** (1936) Rice diseases. 49th Ann Rept Tex Agr Exp Sta pp 109-111
- Tullia EC** (1936) Fungi isolated from discolored rice kernels. US Dept Agr Tech Bull 540, 11 pp
- Urban AF y MM Wetzel** (1980) Ocorrência, sobrevivência e controle de *Phyllosticta oryzae* en sementes de arroz produzidas nas condições dos cerrados. Fitopatol Bras 5: 4-62
- Winter WE, SB Mathur and P Neergaard** (1974) Seed-borne organism of Argentina: a survey. PI Dis Rep 58: 507-511