



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL
DESARROLLO**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROPECUARIO CON MENCIÓN
EN GESTIÓN EMPRESARIAL AGROPECUARIA

TEMA:

“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL MANCHADO Y
VANEAMIENTO DE LA PANÍCULA DEL ARROZ EN ZONAS PRODUCTORAS
DE GUAYAS Y LOS RÍOS”

AUTOR:

Francisco Leonardo Ross Padovani

TUTORA:

Dra. Carmen Triviño Gilces, Ph.D.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2014



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL
DESARROLLO**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERO AGROPECUARIO CON MENCIÓN
EN GESTIÓN EMPRESARIAL AGROPECUARIA

TEMA

“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL MANCHADO Y
VANEAMIENTO DE LA PANÍCULA DEL ARROZ EN ZONAS PRODUCTORAS
DE GUAYAS Y LOS RÍOS”

AUTOR:

FRANCISCO LEONARDO ROSS PADOVANI

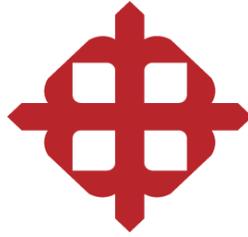
El presente trabajo fue revisado y corregido por los siguientes docentes:

Ing. Agr. Ricardo Guamán Jiménez, M.Sc.
Revisión Estadística

Dra. Carmen Triviño Gilces, Ph.D.
Tutora de Tesis

Ing. Agr. MSc. John Franco Rodríguez
Revisión redacción técnica

Dr. MVZ Patricio Haro Encalada. MSa
Revisión Summary



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

INGENIERÍA AGROPECUARIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

FRANCISCO LEONARDO ROSS PADOVANI

DECLARO QUE:

El proyecto de grado denominado “Identificación de microorganismos asociados al manchado y vaneamiento de la panícula del arroz en zonas productoras de Guayas y Los Ríos”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía.

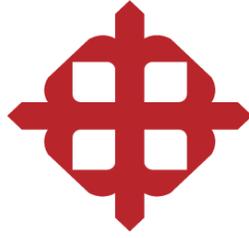
Consecuentemente este trabajo es de nuestra autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Guayaquil, Agosto del 2012

AUTOR

FRANCISCO LEONARDO ROSS PADOVANI



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Por, Francisco Leonado Ross Padovani

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, la publicación, en la biblioteca de la institución del proyecto titulado: “Identificación de microorganismos asociados al manchado y vaneamiento de la panícula del arroz en zonas productoras de Guayas y Los Ríos”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Guayaquil, Agosto del 2012

AUTOR

FRANCISCO LEONARDO ROSS PADOVANI

DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

De igual forma, dedico esta tesis a mi madre que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

AGRADECIMIENTO

Al finalizar el trabajo tan arduo y lleno de dificultades con el desarrollo de una tesis de grado es inevitable estar agradecido dándole todo el crédito a Dios porque en el transcurso de la investigación me puso con las personas correctas para que la pueda realizar y terminar en el tiempo de preciso. Además, nunca hubiera sido posible sin el apoyo de mi familia y amigos aunque no estuvieron conmigo me apoyaron alentándome a seguir hasta el final, en especial a mi querida Madre la Abogada Guiasella Padovani y a mis abuelos, también le agradezco a Doris Alcivar Dicado una gran mujer de Dios alguien muy especial que quiero mucho.

A la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil (UCSG), un eterno agradecimiento, a los profesores por su ayuda, su entrega y dedicación desinteresada que me prepararon para el duro trabajo de tesis.

En el transcurso del trabajo se forjaron grandes lazos que perduraran toda la vida, me refiero a los amigos con los que compartir dentro y fuera del INIAP, nunca los olvidare en especial a Ing. Diana Intriago técnica del laboratorio de Fitopatología de la EELS por su apoyo incondicional y enseñó los procesos en cada etapa del trabajo realizado, a los tesisistas de Fitopatología agradecerles por la pequeña ayuda brindada. En el laboratorio de Entomología a mi gran amiga Tatiana Vera se ha vuelto una amiga muchas gracias por tu palabra de ánimo.

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Litoral Sur (INIAP), Estación Experimental Litoral Sur “Dr. Enrique Ampuero Pareja”, por abrirme sus puertas para realizar la investigación, al personal del Departamento de Protección Vegetal, en especial a mi directora de tesis la Dra. Carmen Triviño por su ayuda, a la Ing. Leticia Vivas de manera especial por aceptarme para realizar la tesis de grado, por su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas, al Ing. Ricardo Delgado por su importante aporte y participación en el desarrollo de esta tesis. Quiero expresar un sincero agradecimiento al Ing. Roberto Celi, Responsable del Programa Nacional de Arroz del INIAP por su apoyo incondicional, Ing. Edison Mosquera y Agr. Javier Arboleda, porque cada uno de ellos me brindó su apoyo en el tiempo que permanecí, agradezco todo el esfuerzo brindado por los trabajadores de campo del Programa Nacional de Arroz del INIAP.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Estación Experimental del Litoral Sur “Dr. Enrique Ampuero Pareja” del Instituto Nacional de Investigación Agropecuario (INIAP); el objetivo fue identificar hongos asociados al manchado y estériles de la panícula del arroz y realizar pruebas de patogenicidad en condiciones de inoculación artificial.

Se colectaron 55 muestras en varias localidades de las provincias del Guayas y Los Ríos, mismas que estuvieron constituidas por 10 submuestras. Se registraron granos con y sin manchas, llenos y vanos. Para el aislamiento de hongos se utilizó 50 granos de cada finca y de cada categoría, éstos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 1 %; la identificación se realizó con el uso de claves especializadas.

Los hongos más prevalentes fueron *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Fusarium* y *Alternaria*; siendo *B. oryzae* la especie que estuvo presente en todos los sitios de muestreo, ésta se inoculó en 14 genotipos de arroz, de ellos los cultivares resistentes fueron Go-00623, Go-38417, Go-39783, INIAP 10 e INIAP 17.

Para el aislamiento de bacterias los granos fueron igualmente desinfectados y triturados en un mortero, se usó una solución EDTA al 5 %, el macerado fue colocado con una asa bacteriana en el medio de cultivo agar nutritivo y luego repicado en medio King B; la identificación se realizó mediante la metodología de Schaad. Se obtuvieron 87 aislados, de ellos 70 fueron de reacción Gram Negativa y pectotínolítica.

Las pruebas de patogenicidad se realizaron con las 87 cepas bacterianas en la variedad INIAP 15, de ellas se seleccionaron cinco por su agresividad; posteriormente, fueron evaluadas en 14 genotipos de arroz, siendo las variedades comerciales generadas por INIAP las que no mostraron síntomas.

De acuerdo a la metodología de Schaad se identificó bacterias del género *Pseudomonas* y la especie *Xanthomonas oryzae*.

SUMMARY

The research was made at the Experimental Station of the South Coast "Dr. Enrique Ampuero Pareja "National Institute for Agricultural Research (INIAP); the objective was to identify the fungi associated spotting and sterile panicle of rice and pathogenicity tests under artificial inoculation.

Were collected 55 samples at various locations in the provinces of ; Guayas and Los Ríos, that were themselves composed of 10 sub-samples. Grains were recorded with and without spots filled and vain; for isolation of fungi 50 grains of each farm and in each category, they were disinfected with sodium hypochlorite 1% was used. The Identification was performed with the use of specialized passowirk.

The most prevalent fungi were; *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Fusarium* and *Alternaria*. *B. oryzae* was present every sampling site, was inoculated into 14 genotypes of rice, they were resistant cultivars GB-00623, GB-38417, GB-39783, INIAP 10 e INIAP 17.

For the isolation of bacteria grains were also disinfected and crushed in a mortar an EDTA solution of 5 % was used, the mash was placed with a bacterial loop in culture media nutrient agar and after subculturing in King B medium, identification was performed using the methodology of Schaad. 87 isolates were obtained, of which 70 were Gram negative reaction, pectolíticos.

In the pathogenicity tests on INIAP 15, five strains were shown to be pathogenic, were subsequently evaluated in 14 genotypes of rice, including commercial varieties generated by INIAP showed no symptoms.

According to the methodology of Schaad bacteria of the genus *Pseudomonas* species *Xanthomonas oryzae* and identified.

ÍNDICE

CONTENIDO	Páginas
1. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Generalidades del cultivo	3
2.1.1. Origen, taxonomía y descripción	3
2.1.2. Crecimiento y desarrollo de la planta de arroz	3
2.1.3. Requerimiento agro ecológico del cultivo del arroz	3
2.1.4. Factores bióticos y abióticos que inciden en el cultivo	4
2.1.5. Mejoramiento genético como herramienta para el manejo de enfermedades	5
2.2. Complejo del manchado del grano	5
2.2.1. Hongos	6
a) <i>Pyricularia grisea</i> (Cooke) Sacc. (Teleomorfo <i>M. grisea</i>)	6
b) <i>Bipolaris oryzae</i> (Sin. <i>Helminthosporium oryzae</i>)	6
c) <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kuhn (Teleomorfo: <i>T. cucumeris</i>)	7
d) <i>Sarocladium oryzae</i> (Sawada) W. Gams & D. Hawksw.	7
e) <i>Cercospora oryzae</i> Miyake	8
f) <i>Alternaría padwickii</i> (Ganguly)	8
2.2.2 Bacterias patógenas	9
a) <i>Pseudomonas fuscovaginae</i> Tanii, Miyajima & Akita	9
b) <i>Burkholderia glumae</i> (Kurita and Tabei, 1967) Urakami <i>et al.</i> , 1994	9
c) <i>Xanthomonas oryzae</i> ((Ishiyama) Dye)	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Ubicación del ensayo	12
3.2. Materiales y equipos	12
3.3. Factores estudiados	12
3.4. Fases del experimento	13
3.4.1. Muestreo, aislamiento e identificación de microorganismos asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula del arroz.	13

a)	Procesamientos de muestras	16
b)	Aislamiento in vitro de microorganismos	16
c)	Aislamiento de <i>Bipolaris oryzae</i>	16
d)	Aislamiento de bacterias y caracterización	17
e)	Identificación de aislados bacterianos	17
3.4.2.	Agresividad y patogenicidad de <i>Bipolaris oryzae</i> y cepas bacterianas en plántulas de arroz en condiciones controladas de inoculación.	19
a)	Comportamiento de 14 genotipos de arroz frente a <i>Bipolaris oryzae</i>	19
b)	Agresividad de 87 aislados bacterianos en la variedad de arroz INIAP 15	22
c)	Patogenicidad de cinco aislados bacterianos en 14 genotipos de arroz	25
4.	RESULTADOS	29
4.1.	Determinación de porcentajes de granos de granos llenos y vanos, aparentemente sanos y manchados.	29
4.2.	Aislamiento e identificación de cepas bacterianas asociados con el manchado y vaneamiento de la panícula del arroz	35
4.3.	Prueba de patogenicidad de las cepas bacterianas positivas aisladas asociadas con el manchado y vaneamiento de la panícula del arroz	37
5.	DISCUSIÓN	46
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
	Conclusiones	48
	Recomendaciones	49
	BIBLIOGRAFIA	50
	ANEXOS	54

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Páginas
Cuadro 1. Ubicación geográfica de los lugares de muestreo en las provincias de Guayas y Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.	14
Cuadro 2. Patogenicidad de <i>Bipolaris oryzae</i> en 14 genotipos de arroz. INIAP, EELS. 2013	21
Cuadro 3. Estudio de agresividad de cepas bacterianas sobre la variedad INIAP 15. INIAP, EELS. 2013	23
Cuadro 4. Estudio de las cinco cepas bacterianas más agresivas sobre 14 genotipos de arroz. INIAP, EELS. 2013.	25
Cuadro 5. Porcentaje de granos sin mancha llenos y vanos, manchado llenos y vanos en la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.	29
Cuadro 6. Promedios de microorganismos (%) asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula en muestras de arroz procedentes de la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.	31
Cuadro 7. Porcentaje de granos sin mancha llenos y vanos, manchado llenos y vanos en la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.	32
Cuadro 8. Promedios de microorganismos (%) asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula en muestras de arroz procedentes de la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.	34
Cuadro 9. Caracterización de aislados bacterianos mediante fluorescencia, reacción de Gram y pectinolíticas, en muestras arroz de la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.	35
Cuadro 10. Caracterización de aislados bacterianos mediante fluorescencia, reacción de Gram y pectinolíticas, en muestras arroz de la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.	36
Cuadro 11. Reacción genética de 14 genotipos de arroz frente a <i>Bipolaris oryzae</i> . INIAP, EELS. 2013.	38
Cuadro 12. Patogenicidad de 87 cepas bacterianas en las plántulas de arroz variedad INIAP 15 en condiciones controladas de infección. INIAP, EELS. 2013.	39

Cuadro 13	Descripción de síntomas de cinco bacterias positivas. INIAP, EELS. 2013.	43
Cuadro 14.	Reacción de 14 genotipos de arroz frente a cinco aislados bacterianos en condiciones controladas de inoculación. INIAP, EELS. 2013.	44
Cuadro 15.	Comportamiento de cinco cepas bacterianas reaisladas frente a las pruebas de fluorescencia, sensibilidad de hidróxido de potasio (KOH), pectinolítica. INIAP, EELS. 2013.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Páginas
Figura 1. Mapa de la ubicación de los muestreos en campos productores de arroz. INIAP, EELS. 2013.	13
Figura 2. Cámara húmeda para el crecimiento de microorganismos asociados al manchado del grano. INIAP, EELS. 2013	16
Figura 3. Aislamiento de bacterianas y purificación en medio King B. INIAP, EELS. 2013	17
Figura 4. Determinación de la reacción de Gram de colonias bacterianas. INIAP, EELS. 2013	18
Figura 5. Prueba pectinolítica en discos de papa. INIAP, EELS. 2013	18
Figura 6. Aspersión de <i>Bipolaris oryzae</i> en plantas de arroz y cámara húmeda. INIAP, EELS. 2013	20
Figura 7. Implementos (A), cámara húmeda (B) y agresividad de las cepas bacterianas inoculadas en la variedad INIAP 15 (C). INIAP, EELS. 2013	22
Figura 8. Porcentaje de aislamiento de <i>Bipolaris oryzae</i> en granos manchados. INIAP, EELS. 2013	38

1. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) en Ecuador tiene importancia económica y social del país, genera plazas de trabajo, aporta al Producto Interno Bruto y es una fuente de provisión de alimentos. La superficie sembrada anual es de 411.459 hectáreas. En la región Costa se encuentra la mayor área cultivada en las provincias del Guayas y Los Ríos el 83 %, Manabí el 11 % y Esmeraldas 1 %; en la Sierra las provincias de Loja y Bolívar con el 1 % y en el Oriente con el 3 % del total nacional (INEC, 2012).

El arroz es afectado por un gran número de problemas bióticos y abióticos tales como la temperatura, radiación solar, el viento, tipo de suelo, déficit hídrico que influyen en la manifestación plena de su potencial genético productivo. Entre los problemas bióticos, las enfermedades constituyen uno de los principales limitantes de la producción, en su mayoría son de origen fungoso, entre ellos *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia* spp., *Sarocladium oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* (Vivas e Intriago, 2012). Por otra parte, las enfermedades causadas por bacterias como el manchado y vaneamiento, se atribuyen a *Pseudomonas fuscovaginae* que fue reportada en Ecuador en el año 1987 (Armijos, 2007).

Se reportan otras bacterias del género *Burkholderia* que han afectado gravemente en Estados Unidos en el año 1995, en Panamá, Costa Rica, Cuba, Rep. Dominicana y Nicaragua en el año 2005. En Colombia ha causado grandes pérdidas, misma que fueron identificadas como *Burkholderia glumae* y *B. gladioli* (ANAR, 2010).

En el país, se ha observado últimamente manchado de granos con sintomatología similar a los descritos por varios investigadores en otros países y relacionados con hongos y bacterias, que sumado al cambio climático causan pérdidas considerables en los rendimientos. Los estudios realizados por INIAP muestran presencia de estos organismos; sin embargo, es necesario determinar la incidencia y los porcentajes de daños en las dos principales zonas productoras, así como el comportamiento de genotipos de arroz en los que se incluye líneas promisorias del Programa de arroz, variedades comerciales generadas por INIAP y otras disponibles en el mercado nacional con procedencia del Perú.

Por lo expuesto, esta investigación consistió en muestreos, aislamiento e identificación de microorganismos asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula y pruebas de patogenicidad de los aislados más prevalentes frente a 14 genotipos de arroz.

Los objetivos para realizar este trabajo fueron los siguientes:

Objetivo general

Identificar microorganismos asociados al manchado y vaneamiento de la panícula del arroz en las principales zonas productoras de las provincias del Guayas y Los Ríos.

Objetivos específicos:

1. Identificar hongos asociados con el manchado y vaneamiento de la panícula del arroz.
2. Identificar bacterias asociadas al manchado y vaneamiento de la panícula del arroz.
3. Realizar pruebas de patogenicidad en condiciones controladas.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del cultivo de arroz

2.1.1. Origen, taxonomía y descripción

El origen del arroz se ubica en el continente asiático, principalmente al sur de India, donde probablemente comenzó a cultivarse aproximadamente hace 10.000 años. De allí se extendió a China, donde se inicia el desarrollo del proceso de cultivo; posteriormente se estableció en Corea y Japón. En el género *Oryza* se ubican diversas especies que se reconocen a su vez en tres grupos o razas ecogeográficas: Indica, Japónica y Javanica (INIA, 2004).

El arroz es una planta fanerógama de la clase Liliópsida, del orden: Poales, familia Poaceae, tribu: *Oryzaceae*, género: *Oryza*, especie: *sativa* (Cevallos *et al.*, 1991). Tiene tallos erguidos y cilíndricos, con nudos y entrenudos, con hojas adheridas a los nudos, con una panícula terminal. Las raíces son delgadas, fibrosas, y fasciculadas; las flores están constituidas por seis estambres y un pistilo (Caicedo, 2008).

2.1.2. Crecimiento y desarrollo de la planta de arroz

Cevallos *et al.*, (1991) afirma que el crecimiento y desarrollo de la planta de arroz se divide en tres fases principales: vegetativa que comprende desde la germinación de la semilla hasta la iniciación de la panícula, la reproductiva desde la iniciación de la panícula hasta la floración y la maduración desde la floración hasta la madurez total de los granos. En ambientes tropicales las fases reproductivas comprende un período de 30 días y madura entre 30 y 35 días.

2.1.3. Requerimiento agro ecológico del cultivo del arroz

Temperatura y radiación solar

Las temperaturas críticas están por debajo de los 20 °C y por encima de los 32 °C. Entre los 23 y 27 °C se considera la temperatura óptima para la germinación, el crecimiento del tallo, hojas y raíces. Con temperaturas superiores la planta crece más rápidamente pero los tejidos son demasiado blandos y más susceptibles a enfermedades; las temperaturas muy bajas causan esterilidad de las espiguillas (SAG, 2003).

Requerimientos hídricos

Se considera que el arroz requiere 1.200 milímetros de agua bien distribuidos durante el ciclo de cultivo es suficiente para la obtención de buenos rendimientos (SAG, 2003).

Suelos y topografía del terreno

El cultivo requiere suelos con un alto contenido de arcilla que retienen y conservan la humedad por más tiempo. Los suelos francos y aptos para otros cultivos, también pueden ser adecuados (SAG, 2003).

Necesidades nutricionales

La planta de arroz necesita macronutrientes como Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Azufre (S), y micronutrientes como Boro (Bo), Cloro (Cl), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Molibdeno (Mo), Zinc (Zn). El nitrógeno es el elemento que cuando se encuentra en exceso, produce un crecimiento vegetativo excesivo y el deterioro de la floración (IPNI, 2009).

2.1.4. Factores bióticos y abióticos que inciden en el cultivo

Las interacciones que se presentan en un cultivo con los factores bióticos (insectos, hongos, bacterias, virus, animales) pueden resultar ser los elementos más limitantes para la producción, ya que estos pueden ocasionar grandes pérdidas que pueden llevar hasta un deterioro total del cultivo. En el cultivo del arroz, los factores bióticos más perjudiciales son los insectos y los organismos causantes de enfermedades (Díaz y Chaparro, 2012). Los factores abióticos tales como sequía, salinidad y temperaturas extremas pueden ocasionar grandes pérdidas en la productividad. Las plantas han desarrollado diferentes estrategias fisiológicas y bioquímicas para adaptarse a condiciones de estrés en respuesta a varios entornos. Con el propósito de buscar niveles más altos de producción, ampliar las posibilidades de terrenos productivos y estar un paso a delante en cuanto al cambio climático, la tolerancia a factores abióticos se ha convertido en el principal tema de investigación y estudio de los últimos años (Tyagi y Mohanty, 2000; Chen *et al.*, 2009).

Se estima que los principales efectos del cambio climático asociados a las variaciones de temperatura y precipitación, afectarían la duración de los ciclos de cultivo, en la fisiología (Ortiz, 2012).

2.1.5. Mejoramiento genético como herramienta para el manejo de enfermedades

La utilización de la resistencia genética es uno de los métodos más económicos y seguros para los productores en el control de las enfermedades de las plantas; pues, al utilizar semilla de variedades resistentes resuelve los problemas de enfermedades sin necesidad de elevar los costos de producción (Espinoza, 2007).

El INIAP desde la creación del Programa de arroz, ha evaluado materiales criollos e introducidos desde centros internacionales como el CIAT de Colombia y el IRRI de Filipinas, de ellos ha seleccionado los más promisorios por sus características agronómicas y resistencia a las enfermedades más importantes presentes en Ecuador, para ello ha desarrollado métodos de evaluación para determinar la resistencia de los diferentes cultivares del banco de germoplasma del Programa de arroz y generar variedades tolerantes mediante la inoculación artificial en invernadero e infección natural en el campo (Espinoza, 2007).

2.2. Complejo del manchado del grano.

Es una de las enfermedades 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 como *Alternaria* spp; *Aspergillus* spp. *Bipolaris australiensis*; *B. oryzae*; *Curvularia* spp. *Epicoccum* sp. *Fusarium* spp. *Microdochium oryzae*; *Nigrospora* sp. *Penicillium* spp. *Periconia* sp. *Phoma* spp. *Rhizopus* sp de importancia en el cultivo de arroz (Gutiérrez *et al.*, 2002). Debido a su amplia distribución el manchado del grano es un problema complejo, ocasionado por la interacción hospedante patógeno ambiente, que se manifiesta en el periodo que comprende desde la floración hasta la maduración del grano. Se caracteriza por manchas en las glumas que varían desde pequeños puntos oscuros a extensas áreas que pueden alcanzar el 100 % de su superficie. La decoloración puede profundizar afectando el endospermo y a veces el embrión (Gutiérrez y Mazzanti, 2011). Por otra parte está asociada a diversos factores predisponentes: climáticos, genéticos, bióticos, y prácticas agronómicas (Pincirol *et al.*, 2003).

2.2.1. Hongos

a) *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (Teleomorfo *Magnaporthe grisea*)

El principal problema fitopatológico mundial del arroz, lo conforma la piricularia, enfermedad también conocida como añublo, quemazón y cuyo agente causal es el hongo *Pyricularia grisea* Sacc (Castaño, 1983). Es la enfermedad más limitante del cultivo, ya que se encuentra en todos los agro – ecosistemas de los trópicos y de las zonas templadas en que se cultiva el arroz comercialmente el cual tiene alta capacidad de adaptabilidad, dado que puede desarrollar poblaciones (razas) que se adaptan a las nuevas variedades y a los fungicidas específicos (Correa y Guimaraes, 1995).

El hongo afecta todas las partes aéreas de la planta: hojas, los nudos del tallo y el cuello de la panícula. Las lesiones foliares pueden ser pequeños de puntos de color café hasta diamantes de color gris o verde oliva (CIAT *et al.*, 2001). La infección al inicio de la floración produce un vaneamiento total de los granos quedando la panícula erecta y blanca, cuando el grano se halla en estado lechoso, producirá granos parcialmente formados, vamos lo que trae como consecuencia pérdidas (Armijos, 2007). Por otra parte, los síntomas críticos ocurren en las fases vegetativas y en fase de maduración, sobre la panícula. En esta segunda fase ocurre el mayor daño económico (Correa y Guimaraes, 1995).

b) *Bipolaris oryzae* (Sin. *Helminthosporium oryzae*)

La mancha marrón u ojo de pájaro es causado por el hongo *Bipolaris oryzae*, este patógeno se encuentra distribuido en todas los sistemas de siembra, y está asociado con la fertilidad del suelo y daños radicales. El hongo ataca en cualquier etapa del cultivo, pero las incidencias más severas ocurren al final del ciclo, cuando el hongo alcanza la panícula (INIA, 2004).

Las lesiones foliares varían desde pequeños puntos hasta manchas circulares u ovals. Están distribuidas casi uniformemente por toda la lámina foliar y la coloración de la lesión inicialmente es marrón, posteriormente, tornándose más clara en el centro y aparece un halo amarillento. En la panícula, el patógeno invade el pedúnculo, raquis, ramificaciones y granos, dando origen a manchas color marrón (INIA, 2004). En el

cuello o nudo ciliar produce un síntoma muy parecido a *P. grisea*, en la superficie del grano se originan pequeñas manchas ovaladas cubiertas con estructuras del hongo, con apariencia aterciopelada; en casos graves, los granos se vuelven vanos, de menor peso y afecta la calidad molinera (Correa, 1997).

c) *Rhizoctonia solani* J.G. Kuhn (Teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris*)

El hongo *R. solani* causa el añublo de la vaina, y es considerado actualmente una de las principales enfermedades del cultivo en las regiones arroceras tropicales, subtropicales, y templadas de Asia, África y América; se califica de alto riesgo en varios países de América latina (CIAT *et al.*, 2001).

Los síntomas se presentan inicialmente sobre las vainas y luego en las hojas de la base del tallo, las lesiones típicas son de forma elíptica un poco irregular de 2 a 3 cm con un centro blanco grisáceo y margen de color café rojizo, estas lesiones pueden juntarse causando muerte de la planta (Rodríguez *et al.*, 2001). La enfermedad progresa rápidamente extendiéndose desde la vaina hacia la hoja; en los ataques severos destruyen el tallo y con frecuencia se forman esclerocios que se diseminan fácilmente sobre la superficie de las manchas. En el campo la enfermedad suele presentarse en parches irregulares dentro del cultivo. Los síntomas se manifiestan generalmente a partir del periodo de más intenso macollamiento (INIA, 2001), la disminución del rendimiento se estima de varias maneras:

- 1) Causa reducción en el peso de los granos que es el factor más importante de esa pérdida, y
- 2) En las hojas banderas ha sido calculado en un 20 %, en ataques severos cuando todas la vainas y laminas foliares están totalmente infectadas las pérdidas son del 40 % (CIAT *et al.*, 2001).

d) *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksw.

El hongo *Sarocladium oryzae* ocasiona la enfermedad “Pudrición de la Vaina”, descubierta por primera vez por Sawada en 1992. Se ha reportado en Japón, Estados Unidos, y en varios países de América Latina como Ecuador (Deka y Phookan, 1992).

Las lesiones aparecen en las vainas de las hojas superiores y en la vaina de la hoja bandera, estas lesiones son oblongas y alargadas con borde café y centro grisáceo. A medida que la enfermedad progresa las lesiones se alargan y cubriendo gran parte de la vaina en la hoja. Cuando las infecciones son severas y tempranas no permiten que la panícula emerja completamente y en algunas ocasiones se pudre, la panículas que logran emerger presentan flores curvas y de color café rojizo a café oscuro. La esterilidad y el vaneamiento de los granos están asociados al ataque de esta enfermedad (CIAT *et al.*, 2001).

e) *Cercospora oryzae* Miyake

Este agente causal de la enfermedad conocida como cercospora, mancha marrón estrecha y mancha lineal, se observa con baja intensidad en campo al final del ciclo de cultivo; algunas veces asociada con otras enfermedades foliares. Los cultivares comerciales que actualmente se siembran manifiestan resistencia a la enfermedad, aunque la existencia de razas del hongo ha motivado a mantener la atención en este patógeno (Castaño, 1983).

El agente causal ataca principalmente la lámina foliar, pero puede infectar las vainas, pedúnculos y glumas. Las lesiones se desarrollan paralelas a las nervadura de las hojas tienden a ser cortas, rectangulares, estrechas y de color marrón oscuro en cultivares resistentes, pero en los susceptibles las lesiones son más amplias, más claras y con centros necróticos. El período más susceptible de las plantas se inicia a partir de la emergencia de la panícula, por lo que un ataque grave del hongo provoca maduración prematura de los granos y la caída de plantas (INIA, 2002).

f) *Alternaria padwickii* (Ganguly)

La alternaria o alternariosis es causada por el hongo *A. padwickii* (Ganguly), la acción del hongo es subestimada, dado que el daño foliar es insignificante pero un posible ataque a los granos causaría deterioro y graves consecuencias en la germinación y establecimiento del cultivo (Rodríguez, 1981).

Las lesiones foliares se manifiestan como manchas ovales a circulares, de color marrón claro rodeadas por un borde marrón oscuro y angosto a manera de aro, las cuales al

unirse forman largas áreas necróticas. Sobre las manchas viejas se desarrollan pequeños esclerocios negros. Las lesiones en la glumas son similares, pero con bordes más amplios, originando granos manchados, arrugados y quebradizos. Estos síntomas en semillas provocan lesiones en el coleóptilo y muerte de plántulas (Rodríguez, 1999).

2.2.2. Bacterias patógenas.

a) *Pseudomonas fuscovaginae* Tanii, Miyajima & Akita

Pseudomonas fuscovaginae causa la podredumbre parda del arroz, ha sido reportado en Latino América (Brasil, Colombia, Guatemala, México, Panamá, Perú, y Ecuador) África Central, Madagascar y Japón (Soriano, 2006). La enfermedad es cosmopolita y puede provocar la decoloración del grano, panícula estéril y, en casos graves, pérdida total del rendimiento. *P. fuscovaginae* a menudo cohabita en poblaciones mixtas con otros patógenos en campo. Los síntomas pueden confundirse con los producidos por otras bacterias patógenas, tales como *Burkholderia glumae*, *B. cepacia*, *Pantoea ananatis* y *Acidovorax avenae* (Ash. et al., 2013).

En plántulas causa una decoloración sistemática que alcanza a la nervadura central de la hoja, en plantas maduras los síntomas se observan en la vaina de la hoja bandera desde la floración y en la panícula (Soriano, 2006). Los primeros síntomas se aprecian en las glumas a las 48 horas de la emergencia de la espiga, a los 7 días de la emergencia de la panícula, se ha extendido hasta las glumas más inferiores, y 15 días es posible observar una mancha de color pardo o morado de forma irregular, la cual se desarrolla en sentido ascendente desde la base de la vaina a la parte superior que rodea a la panícula (Armijos, 2007).

Pueden presentar lesiones húmedas severas, la cual produce que las vainas se necrose y la panícula se marchite, las glumas de las panículas que emergen de vainas con lesiones húmedas tienen color marrón claro los granos de panículas infectadas se observan descolorados deformes y vacías (Soriano, 2006).

b) *Burkholderia glumae* (Kurita & Tabei, 1967) Urakami et al., 1994

Es un organismo fitopatógeno anteriormente conocido como *Pseudomonas glumae*. Es una bacteria aeróbica, Gram negativa, que causa la enfermedad conocida como

Pudrición bacteriana en la panícula del arroz. En Colombia ha ocasionado grandes pérdidas económicas desde el 2007, donde se identificaron dos especies: *Burkholderia glumae* y *gladioli* (ANAR, 2010). El crecimiento y patogenicidad de *B. glumae* se ve favorecida por las altas temperaturas, se ha convertido en una seria amenaza para la producción de arroz en todo el mundo debido a los actuales cambios climáticos globales (Karki *et al.*, 2009). Es habitante del suelo y tiene varios tipos de interacción no patogénica con las plantas, puede vivir en diferentes cultivos, en muchas de las malezas comunes en los campos de arroz (Callejas, 2011) y es considerada en el mundo como un patógeno de importancia económica (Ospina y Beltrán, 2009). En los últimos años ha aumentado su incidencia, las causas de este cambio aún no han sido establecidas, pero se han formulado como hipótesis de la reciente introducción de cepas agresivas (Pérez., *et al.* 2011).

Los síntomas más notables son el vaneamiento de la panícula, pudrición de la vaina, decoloración y esterilidad de los granos (FEDEARROZ *et al.*, 2009), las lesiones causadas por insectos, ácaros, hongos y el debilitamiento de la pared celular debida a condiciones de estrés facilitan la penetración, puede vivir en las raíces sin mostrar síntomas y cuando llega el embuchamiento crece en los tallos y hojas, el periodo crítico es durante la emergencia de la panícula y la floración. La bacteria se multiplica rápido en las panículas e infecta a las espiguillas. El grado de incidencia y severidad del añublo bacteriano es el resultado de una compleja interrelación entre la variedad, las condiciones de manejo, la cantidad de inóculo y el clima (Callejas, 2011).

c) *Xanthomonas oryzae* ((Ishiyama) Dye)

El tizón bacteriano es causado por la bacteria *Xanthomonas oryzae*, la enfermedad se ha encontrado en muchos países Asiáticos y en el Continente africano en donde se cultiva arroz. La enfermedad produce tres tipos de síntomas: tizón de la hoja, manchado de hoja, y decoloración de la hoja a un amarillo pálido (Guevara y Maselli, 1999).

Los síntomas aparecen antes de la emergencia de la panícula o durante la floración, las lesiones pueden iniciarse en cualquier parte de la hoja pero frecuentemente comienza en los bordes cerca de la punta de las hojas. Las lesiones jóvenes consisten en rayas de color verde claro o grisáceo y de apariencia húmeda que luego se ensanchan aceleradamente tornándose después de color amarillo a blanco en pocos días. Estas

lesiones avanzan rápidamente paralelas a las nervaduras y se extiende en dirección lateral hacia las partes sanas, eventualmente las lesiones pueden cubrir toda la hoja, la cual toma una apariencia gris debido al crecimiento de hongos saprófitos finalmente la hoja muere. La bacteria sobrevive en rastrojo de arroz, en malezas hospederas, en semillas y suelo puede sobrevivir por periodos cortos; en el trópico puede sobrevivir en el agua de irrigación (Bermúdez, 2006).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo

La investigación se realizó entre el año 2012 al 2014 del presente año en la Sección Fitopatología del Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV) de la Estación Experimental del Litoral Sur (EELS) “Dr. Enrique Ampuero Pareja” del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Está ubicada al este de la ciudad de Guayaquil, en el km 26 de la vía Durán – Tambo, parroquia Virgen de Fátima, cantón Yaguachi, provincia del Guayas. La Estación Experimental se encuentra en las coordenadas 2° 15` 15” latitud sur y 73° 38` 40” longitud occidental, a 17 msnm, con una pluviosidad de 1.145.3 mm, temperatura 26.5 °C y 76.2 % de humedad relativa (INAMHI 2005).

3.2. Materiales y Equipos

En este estudio se utilizaron los siguientes materiales: agua destilada estéril (ADE), algodón, alcohol al 70 y 98°, cajas Petri, cámara de Neubauer, jeringas marca Nipro de 100 µL, libro de campo, papel filtro, paleta de helado, pinzas, piola, macetas, mortero y pistilos, medio de cultivo King B y Papa Dextrosa Agar (PDA), mechero de alcohol, marcadores, Erlenmeyer de 500 ml, portaobjetos, salvado de arroz, suelo estéril, agujas bacteriológicas y vaso de precipitación. Los equipos: aerógrafo, cámara de flujo laminar, estereomicroscopio, microscopio simple de luz, incubadora, luxómetro y GPS.

3.3. Factores estudiados

- 1) Genotipos de arroz: INIAP 10, INIAP 14, INIAP 15, INIAP 16, INIAP 17, INIAP 18, Go – 39783, Go – 39590, Go – 38690, Go – 00623, Go – 39815, Go - 38417, FI09, y Conquista.
- 2) Microorganismos asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula.

3.4. Fases del experimento

3.4.1. Muestreo, aislamiento e identificación de microorganismos asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula del arroz.

Se colectaron 55 muestras en forma aleatoria en trece localidades arroceras ubicadas en Samborondón, Daule, El Triunfo, Palestina, Yaguachi, Salitre y Taura en la provincia del Guayas; en Babahoyo, Montalvo, Quevedo, Valencia, Vinces, Pueblo Viejo y Baba en la provincia de Los Ríos (Figura 1).

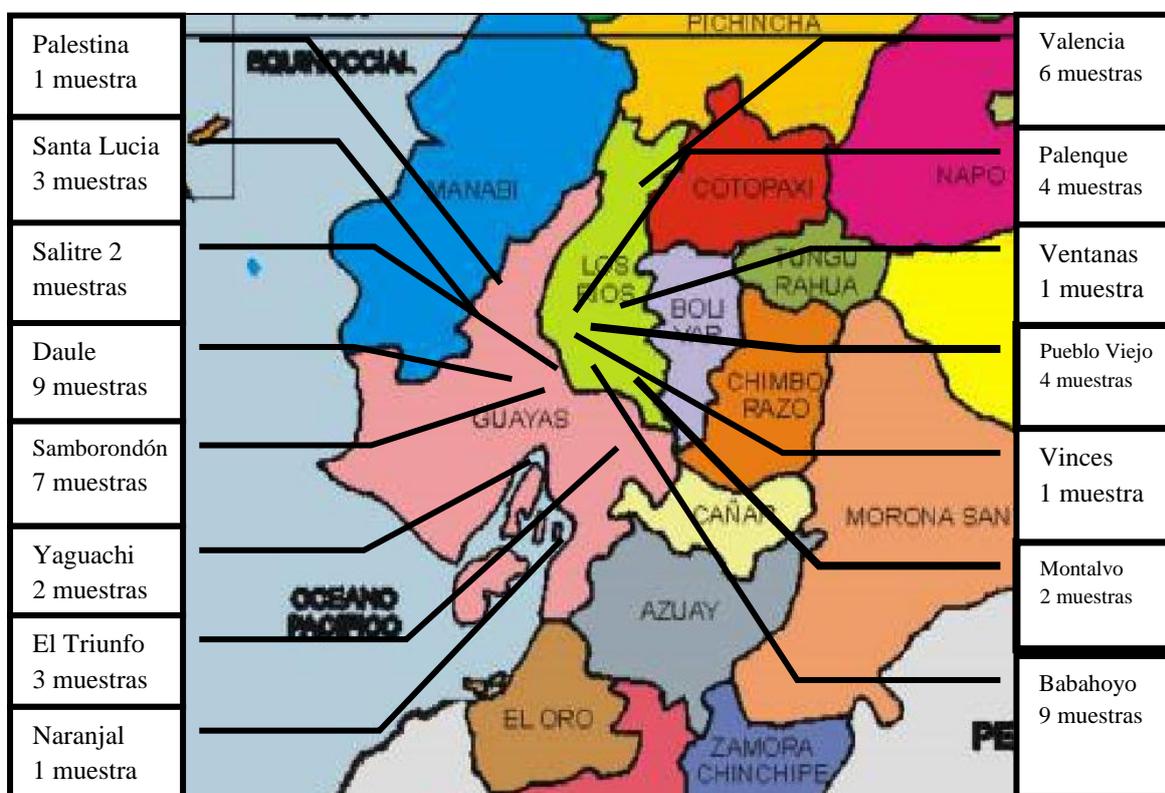


Figura 1. Mapa de la ubicación de los muestreos en campos productores de arroz. 2013.

Por cada localidad y finca se tomó una muestra compuesta de 10 plantas, mismas que se identificaron para su traslado al laboratorio de Fitopatología de la EELS del INIAP; las muestras fueron codificadas de acuerdo a la secuencia en que se iban colectando en el campo. Además, en cada sitio de muestreo se registró la ubicación geográfica con un GPS (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los lugares de muestreo en las provincias de Guayas y Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.

No. muestra	Provincia	Cantón	Lugar	Variedad	Coordenadas	
					S	W
1	Guayas	Daule	Vía Santa Lucía	INIAP 14	01° 42' 44.07"	79° 59' 10.00"
2			América Lomas	sin identificación	01° 51' 58.74"	80° 0' 22.38"
3			América Lomas	sin identificación	01° 52' 58.03"	80° 0' 8.79"
4			América Lomas	sin identificación	01° 50' 34.22"	79° 59' 47.7"
5			América Lomas	sin identificación	01° 53' 06.68'	79° 58' 37.48"
6			América Lomas	sin identificación	01° 53' 41.00"	79° 3' 24.44"
7			Brisas del Daule	sin identificación	01° 52' 03.89"	79° 12' 32.63"
8			América Lomas	sin identificación	01° 51' 21.04"	79° 19' 36.59"
9			Recinto Huanchichal	sin identificación	01° 50' 45.12"	79° 25' 50.65"
10		Salitre	Recinto San Pedro	INIAP 14	01° 53' 52.00"	79° 53' 18.0"
11			Recinto Los Tintos	INIAP 14	01° 52' 25.40"	79° 52' 11.7"
12		Santa Lucía	Sector Ánimas	FL 09	01° 42' 56.20"	79° 59' 19.20"
13			Limonal	INIAP 14	01° 42' 21.43"	79° 58' 50.92"
14			Limonal	INIAP 11	01° 43' 39.04"	79° 57' 40.17"
15		Naranjal	Taura	INIAP 15	02° 14' 5.76"	79° 41' 6.00"
16		El Triunfo	Miranda Girón	INIAP 14	02° 08' 42.48"	79° 35' 38.96"
17			Miranda Girón	Costa Rica	02° 09' 26.24"	79° 36' 17.47"
18			Miranda Girón	INIAP 14	02° 09' 45.50"	79° 36' 23.17"
19		Yaguachi	Amalia	Conejo	01° 06' 85.00"	79° 43' 57.9"
20			Amalia	INIAP 14	02° 07' 64.5"	79° 43' 10.9"
21		Palestina	Coloradal	INIAP 11	01° 57' 41.07"	79° 43' 25.58"
22		Samborondón	Hacienda Gran Colombia	INIAP 14	01° 57' 59.7"	79° 43' 39.7"
23			Jaboncillo	F 21	01° 57' 55.8"	79° 44' 22.0"
24			Miraflores	INIAP 14	01° 58' 19.7"	79° 45' 00.3"
25			Boca de Caña	Sin identificación	01° 59' 10.3"	79° 46' 33.3"
26			Hacienda Los Ceres	LF 09	01° 56' 03.7"	79° 43' 14.4"
27			La Victoria	INIAP 11	01° 54' 06.3"	79° 42' 58.72"
28			Recinto El Rosario	LF 09	02° 01' 25.1"	79° 48' 05.4"

Continuación Cuadro 1. ...

No.	Provincia	Cantón	Lugar	Variedad	Coordenadas		
					S	W	
29	Los Ríos	Babahoyo	Hacienda. Clementina	Pachaco	01°32' 32.9"	079°48' 6.04"	
30			Vía a La Unión	sin identificación	01°48' 4.20"	079°44' 9.09"	
31			Vía a La Unión	sin identificación	01°48' 4.20"	079°30' 41.40"	
32			Vía a La Unión	sin identificación	01°48' 13.37"	079°32' 1.51"	
33			Vía a La Unión	sin identificación	01°48' 27.50"	079°31' 58.61"	
34			Vía a La Unión	sin identificación	01°48' 29.35"	079°32' 2.94"	
35			Vía a La Unión	sin identificación	01°49' 33.86"	079°27' 19.25"	
36		Quinco	La Corona	Quinco	INIAP 14	01°46' 37.77"	079°36' 14.89"
37				La Corona	LF 09	01°47' 10.90"	079°40' 4.04"
38		Palenque	Recinto Santa Rosa	Recinto Santa Rosa	3.15	01°31' 7.44"	079°48' 30.6"
39				Lomas de Palmar	INIAP 14	01°25' 24.5"	079°44' 9.09"
40				Pueblo Solitario	Margarita	01°24' 6.24"	079°44' 6.94"
41				Recinto Soledad	sin identificación	01°23' 33.9"	079°44' 14.3"
42		Montalvo	Huaquillas	Huaquillas	sin identificación	01°47' 50.43"	079°17' 13.05"
43				Palenque	INIAP 14	01°47' 14.40"	079°16' 58.80"
44		Pueblo Viejo	Bola de Oro, San Juan	Bola de Oro, San Juan	Donato	01°38' 6.26"	079°33' 7.20"
45				San Juan	Cacao	01°35' 8.72"	079°32' 8.92"
46				Recinto La Josefa	Donato	01°31' 00.3"	079°31' 8.92"
47				Luz Angélica	Carvajal	01°33' 28.9"	079°31' 7.65"
48		Valencia	Recinto la Cadena	Recinto la Cadena	FL 09	00°55' 49.3"	079°24' 58.8"
49				Recinto el Vergel	INIAP 11	00°48' 20.8"	079°21' 16.8"
50				El Vergel	sin identificación	00°51' 07.6"	079°22' 07.1"
51		Nueva Esperanza	Recinto La Ladera	Nueva Esperanza	sin identificación	00°54' 09.3"	079°23' 02.5"
52				Recinto La Ladera	sin identificación	00°55' 30.3"	079°24' 57.8"
53				La Esperanza	sin identificación	00°57' 32.4"	079°25' 21.1"
54		Ventanas	Los Girasoles	Los Girasoles	FL 09	01°26' 9.55"	079°28' 8.06"
55		Vinces	Recinto Santa Martha	Recinto Santa Martha	INIAP 14	01°33' 25.63"	079°45' 28.17"

a) Procesamientos de muestras

Con las muestras de campo se procedió a contabilizar el número de granos vanos con y sin mancha, granos sin manchas llenas y vanas. Esta información fue transformada a porcentaje.

b) Aislamiento de microorganismos *in vitro*

Hongos

Para el aislamiento de hongos por cada categoría, se desinfectaron 50 granos con hipoclorito de sodio al 5 % durante 3 minutos y enjuagados con agua destilada estéril (ADE), luego fueron colocadas en cajas Petri con servilleta estéril humedecida con ADE (cámara húmeda) para el crecimiento de microorganismos, éstas se incubaron a temperatura ambiente durante una semana (Figura 2), con los crecimientos se procedió a la observación microscópica y con el uso de claves especializadas (Barnett & Hunter, 1972; Ainsworth & Sussman, 1973) se procedió a la identificación morfológica. Los datos se expresan en porcentaje.

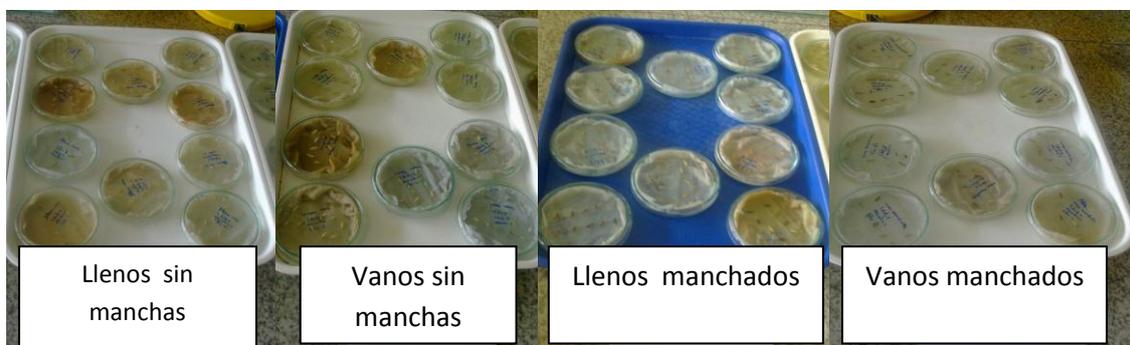


Figura 2. Cámara húmeda para el crecimiento de microorganismos asociados al manchado del grano. INIAP, EELS. 2013

c) Aislamiento de *Bipolaris oryzae*

Debido a que el hongo del género *Bipolaris* fue observado con frecuencia y se transmite por semilla, se procedió a su aislamiento, para ello se utilizó el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) + salvado de arroz (39 g de PDA + 20 g de salvado de arroz por litro de agua).

Para este propósito se tomaron al azar 100 semillas con síntomas de manchado, mismas que fueron desinfectadas con el método ya fue descrito, luego se eliminó el exceso de humedad con el uso de servilleta estéril; posteriormente, fueron colocadas en cajas Petri que contenía medio de cultivo PDA más salvado de arroz, se incubaron a temperatura ambiente en el cuarto de aislamiento durante una semana, donde tuvieron 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad para el desarrollo de las esporas. Con los aislamientos de *Bipolaris oryzae*, se realizó la prueba de patogenicidad.

d) Aislamiento de bacterias y caracterización

De cada una de las muestras se seleccionaron 10 granos de arroz con síntomas de manchado y vaneamiento, éstos fueron macerados en un mortero estéril dentro de la cámara de flujo laminar. Para la maceración se agregó 1 ml de ADE, se homogeneizó y se sembró en medio de cultivo King B (Pseudomonas Agar F, marca Difco) mediante el rayado con asas bacteriológicas y la técnica de agotamiento (Figura 3 A y B). Luego estas cajas se dejaron a temperatura ambiente durante 48 horas; transcurrido este tiempo, se seleccionaron colonias individuales y se transfirieron a nuevas cajas Petri que contenían el mismo medio de cultivo para su purificación y multiplicación (Figura 3 C y D).

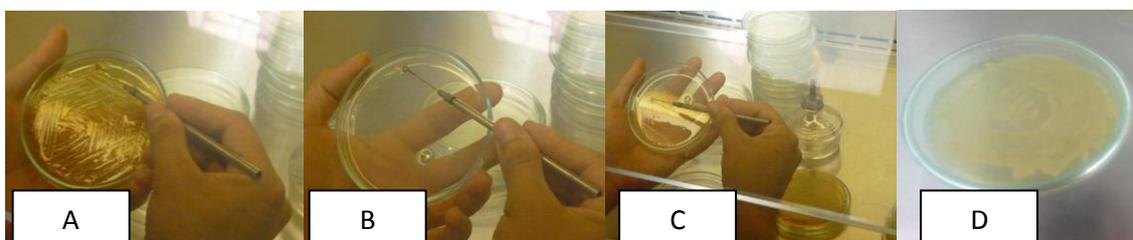


Figura 3. Aislamiento de bacterianas y purificación en medio King B. 2013

e) Identificación de aislados bacterianos

Previa la identificación fue necesario la caracterización de los aislados bacterianos, para ello se procedió a determinar su fluorescencia, solubilidad en KOH al 3 %, degradación de pectina y agresividad en plántulas de arroz variedad INIAP 15; las cepas más agresivas fueron confrontadas con 14 genotipos de arroz.

Para determinar la fluorescencia se utilizó una lámpara marca Vica de 20 W, que refracta color oscuro, en ella se observaron si los aislados presentaban o no pigmentos fluorescentes.

La solubilidad en hidróxido de potasio (KOH) consistió en colocar una gota del reactivo en un portaobjeto, luego con la asa bacteriológica se tomó una porción de la colonia bacteriana y se mezcló bien, si se observó un aspecto viscoso corresponde a reacción Gram negativa (Figura 4).

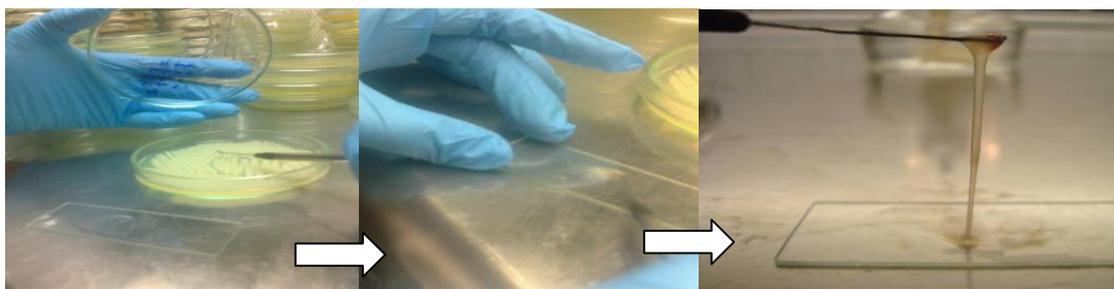


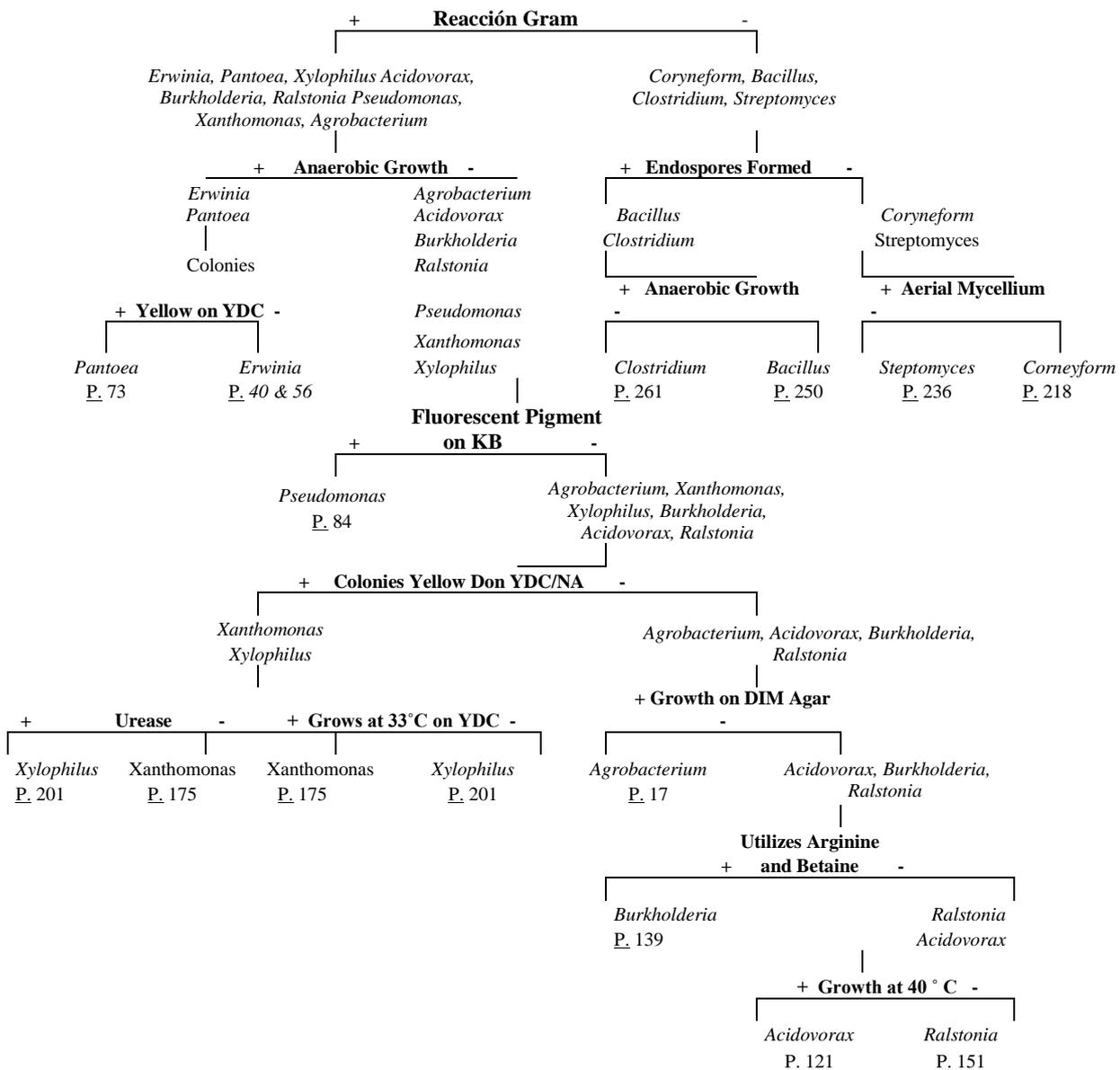
Figura 4. Determinación de la reacción de Gram de colonias bacterianas. INIAP, EELS. 2013

La prueba pectinolítica se realizó mediante la inoculación de las colonias bacterianas en discos de papa previamente esterilizados, se evaluaron por tres días seguidos, aquellas que degradaron los tejidos fueron consideradas pectinolíticas (Figura 5).



Figura 5. Prueba pectinolítica en discos de papa. INIAP, EELS. 2013

Para la identificación a nivel de género de los aislados bacterianos se utilizó técnicas de caracterización de las colonias en base al color, tamaño, forma, borde, aspecto o consistencia, como se describe en la siguiente clave de Shaad (1994)



3.4.2. Agresividad y patogenicidad de *Bipolaris oryzae* y cepas bacterianas en plántulas de arroz en condiciones controladas de inoculación.

a) Comportamiento de 14 genotipos de arroz frente a *B. oryzae*.

Una vez aislado, purificado y multiplicado el hongo *Bipolaris* se procedió a inocular cinco plantas de cada uno de los 14 genotipos de arroz al inicio de la floración, para ello se preparó una solución del crecimiento micelial de una caja Petri de 90 mm de diámetro en 100 ML en ADE, misma que se mezcló bien y luego se procedió a

contabilizar el número de esporas en una cámara de Neubauer, para ello se usó la siguiente fórmula:

$C_i * V_i = C_f * V_f$ donde:

C_i = Concentración inicial

C_f = Concentración final

V_i = Volúmen inicial

V_f = Volúmen final

Para la inoculación se utilizó 5.000 esporas por mililitro y por plantas en la etapa de floración en cada uno de los genotipos estudiados, las aplicaciones se hicieron con un atomizador manual. Las plantas se mantuvieron en cámara húmeda por tres días para favorecer la germinación de las esporas y su colonización. Se usó plástico y un humidificador para crear las condiciones apropiadas para el desarrollo del hongo (Figura 6).



Figura 6. Aspersión de *Bipolaris oryzae* en plantas de arroz y cámara húmeda. INIAP, EELS. 2013

Tratamientos y diseño experimental.

Los tratamientos estuvieron constituidos por 14 genotipos, mismos que fueron proporcionados por el Programa Nacional de Arroz del INIAP y se describen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Patogenicidad de *Bipolaris oryzae* en 14 genotipos de arroz. INIAP, EELS.
2013

No. Tratamientos	Genotipo	Descripción
1	Go – 00623	Línea (Programa arroz)
2	Go – 30590	Línea (Programa arroz)
3	Go – 30690	Línea (Programa arroz)
4	Go – 38417	Línea (Programa arroz)
5	Go – 39783	Línea (Programa arroz)
6	Go – 39815	Línea (Programa arroz)
7	INIAP 10	Variedad (Programa arroz)
8	INIAP 14	Variedad (Programa arroz)
9	INIAP 15	Variedad (Programa arroz)
10	INIAP 16	Variedad (Programa arroz)
11	INIAP 17	Variedad (Programa arroz)
12	INIAP 18	Variedad (Programa arroz)
13	FL – 09	Variedad (Pronaca)
14	La Conquista	Variedad (Perú)

Se utilizó la prueba de Student (t) para comparar cada uno de los genotipos con y sin inóculo.

La evaluación se realizó en follaje y granos a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación, se compararon con las plantas testigo (sin inocular). Se usó la escala de IRRI, 1 a 9 grados para la severidad en hojas, donde:

Valor	Lesiones típicas de hojas	Porcentaje	Granos manchados %
1	Manchas tamaño de alfiler	0	Menos del 1
3	Manchas marrón	1 – 5	1 – 5
5	Puntos en la hoja marrón	5 – 25	5 – 25
7	Manchas con centro de color gris	26 – 50	26 – 50
9	Manchas marrones grandes con centro de color gris	51 – 100	mas de 51

b) Agresividad de 87 aislados bacterianos en la variedad de arroz INIAP 15.

Las 87 bacterias se las multiplicó en medio de cultivo King B y después de 48 horas de incubación a temperatura ambiente, se procedió en la cámara de flujo laminar a diluir en 5 ml de ADE cada una de las colonias. Ésta suspensión fue inoculada en tallos de plantas de la variedad INIAP 15 de un mes de edad, para ello se usó una jeringuilla marca Nipro de 100 unidades, se incluyó un testigo (inoculado solo con ADE), se utilizaron cinco plantas por maceta. Luego se colocó una cámara húmeda donde por tres días seguidos se evaluó diariamente el desarrollo de síntomas (Figura 7).

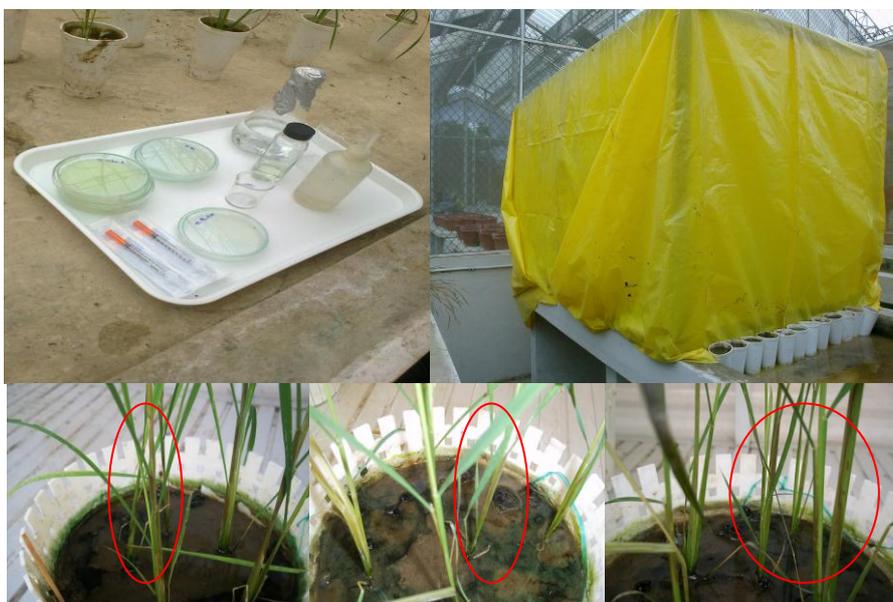


Figura 7. Implementos (A), cámara húmeda (B) y agresividad de las cepas bacterianas inoculadas en la variedad INIAP 15 (C). INIAP, EELS, 2013.

Tratamientos y diseño experimental.

Los tratamientos los constituyeron los 87 aislados bacterianos de las provincias del Guayas y Los Ríos y se describen en el Cuadro 3.

Se utilizó la prueba de Student (t) para la comparación de síntomas en plantas con y sin inóculo de las cepas bacterianas.

Cuadro 3. Estudio de agresividad de cepas bacterianas sobre la variedad INIAP 15.
INIAP, EELS. 2013.

No.	Código	Origen	Provincia
1	1 1 1	Daule, vía Santa Lucia	Guayas
2	1 1 2	Daule, vía Santa Lucia	Guayas
3	1 2 1	Santa Lucía, sector Ánimas	Guayas
4	1 2 2	Santa Lucía, sector Ánimas	Guayas
5	1 3 1	Santa Lucia, parroquia. Limonal	Guayas
6	1 3 2	Santa Lucia, parroquia. Limonal	Guayas
7	1 4 1	Santa Lucia, parroquia. Limonal	Guayas
8	1 4 2	Santa Lucía, parroquia. Limonal	Guayas
9	2 1 1	Hacienda Clementina	Los Ríos
10	2 1 2	Hacienda Clementina	Los Ríos
11	2 2 1	Vía Palenque, Rcto. Santa Rosa	Los Ríos
12	2 3 1	Palenque, Lomas de Palmar	Los Ríos
13	2 3 2	Palenque, Lomas de Palmar	Los Ríos
14	2 4 1	Palenque, Pueblo Solidario, Libela	Los Ríos
15	2 4 2	Palenque, Pueblo Solidario, Libela	Los Ríos
16	3 1 1	San Juan, Pueblo Viejo	Los Ríos
17	3 1 2	San Juan, Pueblo Viejo	Los Ríos
18	3 2 1	San Juan, Pueblo Viejo	Los Ríos
19	3 2 2	San Juan, Pueblo Viejo	Los Ríos
20	3 2 3	San Juan, Pueblo Viejo	Los Ríos
21	3 3 1	Pueblo Viejo, La Josefa	Los Ríos
22	3 3 2	Pueblo Viejo, La Josefa	Los Ríos
23	3 4 1	Pueblo Viejo, Los Girasoles	Los Ríos
24	3 4 2	Pueblo Viejo, Los Girasoles	Los Ríos
25	3 5 1	Pueblo Viejo, Luz Angélica	Los Ríos
26	3 5 2	Pueblo Viejo, Luz Angélica	Los Ríos
27	4 1 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
28	4 2 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
29	4 2 2	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
30	4 3 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
31	4 3 2	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
32	4 4 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
33	4 4 2	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
34	4 5 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
35	4 5 2	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
36	4 6 1	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
37	4 6 2	Babahoyo, La Unión	Los Ríos
38	5 1 1	Triunfo, Miranda Girón	Guayas
39	5 1 2	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas
40	5 2 1	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas
41	5 2 2	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas
42	5 2 3	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas

Continuación Cuadro 3

No.	Código	Origen	Provincia
43	5 3 1	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas
44	5 3 2	El Triunfo, Miranda Girón	Guayas
45	6 1 1	Yaguachi, Amalia	Guayas
46	6 2 1	Yaguachi, Amalia	Guayas
47	7 2 1	Daule, América Lomas	Guayas
48	7 2 2	Daule, América Lomas	Guayas
49	7 3 1	Daule, América Lomas	Guayas
50	7 4 1	Daule, América Lomas	Guayas
51	7 7 1	Daule, América Lomas	Guayas
52	7 7 2	Daule, América Lomas	Guayas
53	7 8 1	Daule, América Lomas	Guayas
54	8 1 1	Palestina, Coloradal	Guayas
55	8 2 1	Vinces, Rcto. Santa Marta	Los Ríos
56	8 2 2	Vinces, Rcto. Santa Marta	Los Ríos
57	8 3 1	Babahoyo, Baba	Los Ríos
58	8 4 1	Babahoyo, La Corona	Los Ríos
59	8 4 2	Babahoyo, La Corona	Los Ríos
60	9 1 1	Samborondón, Hda. Gran Colombia	Guayas
61	9 2 1	Samborondón, Jaboncillo	Guayas
62	9 4 1	Samborondón, Boca de Caña	Guayas
63	9 5 1	Samborondón, Hda. Los Ceres	Guayas
64	9 5 2	Samborondón, Hda. Los Ceres	Guayas
65	9 6 1	Salitre, Parroquia. La Victoria	Guayas
66	9 7 1	Samborondón, Rcto. El Rosario	Guayas
67	10 1 1	Montalvo, Huaquillas	Los Ríos
68	10 2 1	Montalvo, Palenque	Los Ríos
69	10 2 2	Montalvo, Palenque	Los Ríos
70	11 1 1	Salitre, Rcto. San Pedro	Guayas
71	11 1 2	Salitre, Rcto. San Pedro	Guayas
72	11 2 1	Salitre, Rcto. Los Tintos	Guayas
73	12 1 1	Naranjal, Taura	Guayas
74	12 2 1	Naranjal, Taura	Guayas
75	13 1 1	Valencia, Rcto. La Cadena	Los Ríos
76	13 1 2	Valencia, Rcto. La Cadena	Los Ríos
77	13 2 1	Valencia, Rcto. El Vergel	Los Ríos
78	13 2 2	Valencia, Rcto. El Vergel	Los Ríos
79	13 3 1	Valencia, Rcto. El Vergel	Los Ríos
80	13 3 2	Valencia, Rcto. El Vergel	Los Ríos
81	13 4 1	Valencia, Rcto. Nueva Esperanza	Los Ríos
82	13 4 2	Valencia, Rcto. Nueva Esperanza	Los Ríos
83	13 5 1	Valencia, Rcto. La Ladera	Los Ríos
84	13 5 2	Valencia, Rcto. La Ladera	Los Ríos
85	13 6 1	Quevedo, La Esperanza	Los Ríos
86	13 6 2	Quevedo, La Esperanza	Los Ríos
87	13 6 3	Quevedo, La Esperanza	Los Ríos

c) Patogenicidad de cinco aislados bacterianos en 14 genotipos de arroz

Los cinco aislados bacterianos de mayor virulencia y agresividad de la prueba anterior fueron inoculados en los 14 genotipos de arroz de 90 días de edad. Igualmente, después de la inoculación se colocaron en cámara húmeda bajo el mismo procedimiento del estudio anterior. Las evaluaciones del desarrollo de síntomas se realizaron cada 24 horas hasta las 72 horas; en aquellas plantas que mostraron síntomas de manchado de grano se tomaron muestras para reaislar las bacterias con la finalidad de completar los postulados de Koch.

Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos consistieron en cinco cepas y 14 genotipos de arroz, mismos que se describen en el (Cuadro 4).

Cuadro 4. Estudio de las cinco cepas bacterianas más agresivas sobre 14 genotipos de arroz. INIAP, EELS. 2013.

No.	Genotipos	Código bacteriano
1	Go – 00623	3 2 1
1	Go – 00623	3 1 1
1	Go – 00623	5 2 2
1	Go – 00623	6 2 1
1	Go – 00623	11 1 1
2	La Conquista	3 2 1
2	La Conquista	3 1 1
2	La Conquista	5 2 2
2	La Conquista	6 2 1
2	La Conquista	11 1 1
3	Go – 38417	3 2 1
3	Go – 38417	3 1 1
3	Go – 38417	5 2 2
3	Go – 38417	6 2 1
3	Go – 38417	11 1 1

Continuación Cuadro 4.

No.	Genotipos	Código bacteriano
4	INIAP 18	3 2 1
4	INIAP 18	3 1 1
4	INIAP 18	5 2 2
4	INIAP 18	6 2 1
4	INIAP 18	11 1 1
5	INIAP 17	3 2 1
5	INIAP 17	3 1 1
5	INIAP 17	5 2 2
5	INIAP 17	6 2 1
5	INIAP 17	11 1 1
6	Go – 30590	3 2 1
6	Go – 30590	3 1 1
6	Go – 30590	5 2 2
6	Go – 30590	6 2 1
6	Go – 30590	11 1 1
7	Go – 30690	3 2 1
7	Go – 30690	3 1 1
7	Go – 30690	5 2 2
7	Go – 30690	6 2 1
7	Go – 30690	11 1 1
8	INIAP 16	3 2 1
8	INIAP 16	3 1 1
8	INIAP 16	5 2 2
8	INIAP 16	6 2 1
8	INIAP 16	11 1 1
9	Go – 39783	3 2 1
9	Go – 39783	3 1 1
9	Go – 39783	5 2 2
9	Go – 39783	6 2 1
9	Go – 39783	11 1 1
10	INIAP 15	3 2 1
10	INIAP 15	3 1 1
10	INIAP 15	5 2 2

Continuación Cuadro 4

No.	Genotipos	Código bacteriano
10	INIAP 15	6 2 1
10	INIAP 15	11 1 1
11	Fl – 09	3 2 1
11	Fl – 09	3 1 1
11	Fl – 09	5 2 2
11	Fl – 09	6 2 1
11	Fl – 09	11 1 1
12	Go – 39815	3 2 1
12	Go – 39815	3 1 1
12	Go – 39815	5 2 2
12	Go – 39815	6 2 1
12	Go – 39815	11 1 1
13	INIAP 14	3 2 1
13	INIAP 14	3 1 1
13	INIAP 14	5 2 2
13	INIAP 14	6 2 1
13	INIAP 14	11 1 1
14	INIAP 10	3 2 1
14	INIAP 10	3 1 1
14	INIAP 10	5 2 2
14	INIAP 10	6 2 1
14	INIAP 10	11 1 1

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial A x B con 2 unidades experimentales por cada cepa bacteriana y por testigo (solamente tratados con agua). El esquema del Andeva se describe a continuación:

Fuente de variación	Grados de libertad
Genotipos (A)	13
Bacterias (B)	4
A x B	48
Error experimental	74
Total	139

Manejo agronómico de las plantas de arroz

Previo a la siembra de los genotipos de arroz, el suelo fue esterilizado en un autoclave por 30 minutos a 121 °C de temperatura y luego colocado en macetas plásticas con capacidad de 8 kg. Se usó 5 macetas por cada genotipo con y sin inóculo, lo que totalizó 280 macetas.

Los 14 genotipos de arroz se pusieron a pre – germinar en fundas plásticas de polifán, cada uno fue tratado con Vitavax en dosis de 0.010 g por 100 g de semilla; después de 48 horas fueron colocadas en las macetas plásticas. Las plantas fueron fertilizadas con N, P y K de acuerdo a las recomendaciones del Departamento de Suelos y Manejo de Aguas de la EELS del INIAP; los nutrientes fueron aplicados en tres etapas, la primera a los 10 días después del trasplante, la segunda 18 días después y la tercera a los 60 días de edad del cultivo.

Datos registrados

Hongos y bacterias asociados al manchado del grano

Se registraron cada uno de los hongos y colonias bacterianas asociadas al manchado del grano.

Patogenicidad de *Bipolaris oryzae* en 14 genotipos de arroz

En base a lo observado se registró la incidencia y severidad de granos manchados y se realizó de acuerdo a la escala de CIAT, de 1 a 9 donde:

Valor de severidad	Porcentaje de panícula afectada
0	0
1	< 1
3	1 a 5
5	6 a 25
7	26 a 50
9	> 50

Patogenicidad de bacterias en la variedad INIAP 15 y en 14 genotipos de arroz.

Se registró el desarrollo de síntomas diariamente mediante la escala de IRRI de 1 a 9, ya descrita anteriormente.

4. RESULTADOS

4.1. Determinación del porcentaje de granos sin manchas, manchados, llenos, vanos e identificación de hongos patógenos asociados al manchado del grano.

En la provincia del Guayas los promedios de granos sin manchas llenos fue 35.12 y sin manchas vanos fue 21.47 %; los granos manchados llenos 21.65 y manchados vanos 21.76 %. Es importante destacar que la suma de los porcentajes de granos vanos supera el 40 % (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de granos sin mancha llenos y vanos, manchado llenos y vanos en la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.

Provincia	Lugar	Sin manchas		Manchados	
		Llenos	Vanos	llenos	vanos
Guayas	Daule, Vía Santa Lucía	53,25	12,69	30,38	3,69
Guayas	Santa Lucía, sector Ánimas	60,96	11,15	24,51	3,38
Guayas	Parroquia. Limonal, Santa Lucía	58,21	24,32	15,73	1,74
Guayas	Parroquia. Limonal, Santa Lucía	60,78	15,49	21,27	2,46
Guayas	El Triunfo, Miranda Girón	6,50	28,95	6,34	58,20
Guayas	El Triunfo, Miranda Girón	1,33	1,94	5,56	91,17
Guayas	El Triunfo, Miranda Girón	31,62	2,85	54,46	11,07
Guayas	Yaguachi, Amalia	43,73	13,97	34,04	8,27
Guayas	Yaguachi, Amelia	28,43	33,24	19,98	18,36
Guayas	Daule,	15,79	0,82	55,02	28,38
Guayas	Daule, América Lomas	0,00	89,42	0,00	10,58
Guayas	Daule, América Lomas	6,97	83,68	0,81	8,54
Guayas	Daule, América Lomas	31,44	26,49	24,75	17,33
Guayas	Brisas de Daule, Daule	0,00	63,78	0,00	36,22
Guayas	Daule Recinto Huanchichal	0,00	0,00	0,01	99,99
Guayas	Daule, América Lomas	42,89	4,45	43,64	9,02
Guayas	Daule, América Lomas	8,45	0,18	56,41	34,96
Guayas	Palestina, Coloradal	42,76	27,96	13,73	15,56
Guayas	Samborondón, Hacienda Gran Colombia	67,30	5,86	24,74	2,09
Guayas	Samborondón, Jaboncillo	81,82	6,13	9,73	2,32
Guayas	Samborondón, Hacienda Miraflores	25,20	48,69	14,92	11,20
Guayas	Samborondón, Boca de Caña	23,37	22,33	21,83	32,47
Guayas	Samborondón, Hacienda Los Ceres	76,88	10,15	10,62	2,35
Guayas	Salitre, Parroquia La Victoria	37,85	34,88	10,82	16,45
Guayas	Samborondón, Recinto El Rosario	55,74	8,33	27,61	8,32
Guayas	Salitre, Recinto San Pedro	42,52	5,08	28,83	23,58
Guayas	Salitre, Recinto Los Tintos	30,53	6,77	28,80	33,91
Guayas	Naranjal, Taura	49,13	11,53	21,70	17,63
Promedio		35,12	21,47	21,65	21,76

Los microorganismos fitopatógenos observados en granos de arroz sin manchas y llenos en muestras de los sectores Animas y Limonal en el cantón Santa Lucía fue *Bipolaris oryzae* con 42 y 20 % en su orden, en las de Miranda Jijón, cantón El Triunfo 31 %; en 20 muestras se observó *Nigrospora* cuyos valores fluctuaron entre 2 y 28 %, siendo el valor más alto en granos procedentes del recinto Rosario, Samborondón; en 17 muestras el género *Curvularia* que tuvo valores entre 2 a 37 %, fue el valor más alto en las muestras del sitio Miraflores (Samborondón); también se identificó a *Fusarium* y *Alternaria* cuyos porcentajes fluctuaron entre 2 a 16 % (Cuadro 6).

En granos sin manchas y vanos el género *Nigrospora* fue observado en 22 muestras con valores de 2 a 56 %, siendo los valores más altos en las muestras de América Lomas en Daule y recinto el Rosario en Samborondón con 54 y 56 % en su orden; el género *Curvularia* se identificó en 18 muestras cuyos valores variaron entre 2 y 54 %. La especie *B. oryzae* tuvo el mayor porcentaje (31) en la muestra de Miranda Girón, cantón El Triunfo. Por otra parte, el género *Fusarium* su mayor valor se registró en la muestra de Taura con 53 % (Cuadro 6).

En granos manchados y llenos la especie *Bipolaris oryzae* fue observada en seis muestras, siendo los valores más altos en las plantaciones de Animas y de la vía a Santa Lucía con 43 y 32 % respectivamente; el género *Curvularia* en la muestra de Miraflores, Samborondón tuvo 37 % de incidencia (Cuadro 6).

En granos manchados y vanos *B. oryzae* fue más incidente en las muestra de Animas, cantón Santa Lucía y Miranda Jijón, El Triunfo, ambos con 46 %. *Curvularia* estuvo presente en 16 muestras con variación de 2 a 46 %, siendo el valor más alto en la muestras del recinto Los Tintos, Salitre; el género *Nigrospora* mostró el valor más alto fue en la muestra del recinto El Rosario, Samborondón con 47 %; *Sarocladium oryzae* en la muestra de la vía Daule – Santa Lucía mostró 20 % de incidencia; también se observó a los géneros *Fusarium* y *Alternaria* (Cuadro 6).

En todas las cuatro categorías de granos hubo presencia insignificativa de los géneros fungosos *Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma*.

Cuadro 6. Promedios de microorganismos (%) asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula en muestras de arroz procedentes de la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.

Provincia	Cantón	Lugar	Granos sin manchas llenos					Granos sin manchas vanos					Granos manchados llenos					Granos manchados vanos									
			B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A	
Guayas	Daule	Vía Santa Lucía	8	0	0	0	0	0	14	0	8	2	0	0	32	4	6	0	0	11	8	20	2	2	4	0	
		América Lomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	6	2	
		América Lomas	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	12	0	0	0	4	4	33	0	
		América Lomas	0	0	2	0	6	0	0	0	7	4	54	2	0	0	4	10	36	0	6	0	8	11	30	0	
		América Lomas	0	0	0	0	12	12	0	0	0	1	10	1	0	0	4	2	8	16	0	0	6	4	18	16	
		América Lomas	0	0	0	0	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	0	4	8	
		Brisas del Daule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	25	0
		Daule	0	0	2	0	6	0	0	0	7	4	54	1,9	0	0	4	10	36	0	6	0	7,5	11	30	0	
		Recinto Huanchichal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	12	12	22	0	0	0	0	0	0	6
	Salitre	Recinto San Pedro	0	0	8	4	10	0	0	0	30	10	32	0	0	2	10	2	14	0	3,7	0	28	9	20	2	
		Recinto Los Tintos	0	0	12	2	6	0	2	0	54	2	6	0	0	16	8	4	0	0	4	0	42	4	4	0	
	Santa Lucía	Sector Ánimas	42	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43	8	12	0	0	4	46	6	10	0	8	0	
		Limonal	20	5	23	5	0	2	0	0	0	0	0	0	23	10	18	11	3	0	35	0	22	0	0	0	
		Limonal	13	2	13	16	13	0	0	0	0	0	0	0	16	6	0	24	6	0	18	4	8	10	0	0	
		Naranjal	Taura	0	0	6	11	7	2	0	0	4	53	18	0	0	0	4	20	8	0	2	0	4	25	12	0
			Miranda Girón	0	0	4	2	10	0	2	0	2	0	29	4	0	0	0	16	0	0	2	4	12	41	0	
		El Triunfo	Miranda Girón	0	0	0	9	17	2	0	0	0	20	2	0	0	0	15	4	0	0	0	0	18	4	8	
			Miranda Girón	31	0	2	0	14	0	31	0	22	5	12	0	43	0	8	0	4	0	46	2	19	5	0	0
		Yaguachi	Amalia	0	0	0	0	6	0	4	0	11	7	30	2	0	0	0	6	0	4	0	2	10	24	2	
			Amalia	0	0	6	0	2	2	4	0	2	8	20	4	2	0	2	6	2	0	6	0	2	16	20	0
		Palestina	Coloradal	0	0	8	8	14	0	0	0	30	16	23	7	0	0	4	6	26	0	0	13	17	28	4	
	Hacienda Gran Colombia		0	0	0	0	2	4	0	0	6	0	30	0	0	0	2	0	14	0	0	0	4	0	29	0	
	Jaboncillo		0	0	2	0	14	0	0	0	12	0	40	0	0	0	6	0	20	0	0	0	11	0	36	0	
	Miraflores		2	0	37	0	0	0	2	0	43	2	2	0	0	0	37	2	4	0	0	0	33	6	2	0	
	Boca de Caña		0	0	4	2	18	0	0	0	18	0	33	4	0	0	4	0	22	4	0	0	12	0	4	2	
	Hacienda Los Ceres		2	0	10	2	0	2	2	0	27	14	15	0	0	0	2	6	25	0	2	2	8	4	42	2	
	La Victoria		0	0	26	4	6	0	4	0	38	0	19	2	0	0	26	6	13	0	2	0	36	15	16	2	
Samborondón	Recinto El Rosario		0	0	0	0	28	0	0	2	2	2	56	0	0	2	0	0	36	0	0	2	2	0	47	2	

B= *Bipolaris oryzae*, S= *Sarocladium oryzae*, C= *Curvularia*, F= *Fusarium*, N= *Nigrospora*, A= *Alternaria*

En la provincia de Los Ríos, el porcentaje de los granos sin mancha llenos fluctuaron entre 22 y 84 %. En los granos sin manchas vanos el máximo valor fue 53 % en la muestra del recinto Quinto, Babahoyo. En granos manchados el mayor porcentaje fue en la muestra de San Juan, Pueblo Viejo con 50 %; y de los manchados vanos en La Nueva Esperanza, Quevedo y La Unión con 56 y 47 % respectivamente (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de granos sin mancha llenos y vanos, manchado llenos y vanos en la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.

Provincia	Lugar	Sin manchas		Manchados	
		Llenos	vanos	llenos	vanos
Los Ríos	Hacienda Clementina	24,42	7,43	49,95	18,20
Los Ríos	Vía Palenque, Recinto Santa Rosa	23,68	3,20	45,97	27,14
Los Ríos	Palenque, Lomas de Palmar	50,19	3,56	35,45	10,80
Los Ríos	Palenque, Pueblo Solidario, Libela	63,73	5,55	20,26	10,47
Los Ríos	Palenque, Recinto. Soledad	32,48	2,83	39,44	25,26
Los Ríos	San Juan, Pueblo Viejo	53,52	18,75	17,35	10,38
Los Ríos	San Juan, Pueblo Viejo	29,90	8,20	50,23	11,64
Los Ríos	La Josefa, Pueblo Viejo	48,23	12,51	24,64	14,62
Los Ríos	Los Girasoles, Pueblo Viejo	37,41	10,63	27,33	24,63
Los Ríos	Luz Angélica, Pueblo Viejo	54,95	18,03	19,47	7,54
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	70,16	8,59	16,64	4,61
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	71,13	8,90	14,38	5,59
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	22,49	14,66	7,33	55,52
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	34,80	4,80	40,71	19,69
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	83,59	4,83	5,48	6,11
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	55,36	31,09	4,24	9,31
Los Ríos	Vinces, recinto Santa Martha	39,50	14,06	26,98	19,45
Los Ríos	Babahoyo, Baba, Recinto Quinco	23,16	53,38	3,17	20,30
Los Ríos	Babahoyo, La Corona	35,47	14,89	19,92	29,72
Los Ríos	Montalvo, Huaquillas	41,10	14,67	26,45	17,79
Los Ríos	Montalvo, Palenque	43,20	21,33	13,45	22,02
Los Ríos	Valencia, recinto La Cadena	52,34	13,99	17,25	16,43
Los Ríos	Valencia, recinto El Vergel	58,36	14,25	6,95	20,44
Los Ríos	Valencia, El Vergel	34,91	45,88	1,67	17,54
Los Ríos	Valencia, recinto Nueva Esperanza	28,10	19,14	5,28	47,48
Los Ríos	Valencia, recinto La Ladera	51,49	15,50	7,94	25,06
Los Ríos	Quevedo, La Esperanza	37,24	7,69	12,59	42,48
Promedio		44,48	14,75	20,76	20,01

Los hongos fitopatógenos observados en granos sin mancha y llenos fueron los géneros *Curvularia* en las muestras de Pueblo Solitario, Palenque; , Los Girasoles, Ventanas; La Josefa, Pueblo Viejo y La Cadena, Valencia con 24, 20, 13 y 12 % en su orden; el género *Bipolaris* fue mayormente observado en la muestra de Los Girasoles con 16 %. También se identificó a los géneros *Sarocladium oryzae*, *Fusarium* y *Nigrospora* (Cuadro 8).

En granos sin manchas y vanos los géneros *Fusarium* y *Nigrospora* fueron los más incidentes con valores máximos de 44 y 51 % en su orden. La especie *Bipolaris oryzae* en 17 muestras, el porcentaje más alto fue 26 en la muestra del recinto La Josefa, Pueblo Viejo (Cuadro 8).

En granos manchados y llenos los géneros *Fusarium* y *Curvularia* fueron los más prevalentes; el primero con máximo 26 % en la muestra del recinto Soledad, Palenque y el segundo con 30 % en La Unión, Babahoyo. *Bipolaris oryzae* fue mayor en el recinto La Josefa con 46 % y en Los Girasoles con 28 %; por su parte, el género *Nigrospora* tuvo 22 % en la muestra de la Corona Babahoyo (Cuadro 8).

En granos manchados y vanos el máximo porcentaje lo tuvo a la especie *Bipolaris oryzae* con 69 % en la muestra de La Josefa, cantón Pueblo Viejo; Lomas de Palmar y Los Girasoles con 37 y 31 % en su orden. El género *Fusarium* tuvo en las muestras de la Parroquia Unión y el Recinto Nueva Esperanza 46 %, en La Esperanza 42 % y en el Recinto Santa Marta 37 %. El género *Nigrospora* tuvo el valor más alto en la muestra del recinto Montalvo, Palenque con 42 %; además, la especie *Sarocladium oryzae* y el género *Alternaria* presentaron bajos porcentajes (Cuadro 8).

En todas las categorías se observaron hongos saprófitos como *Aspergillus*, *Penicillium* y el hongo antagonista del género *Trichoderma* (Cuadro 8).

Cuadro 8. Promedios de microorganismos (%) asociados al manchado del grano y vaneamiento de la panícula en muestras de arroz procedentes de la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.

Provincia	Cantón	Lugar	Granos sin manchas llenos					Granos sin manchas vanos					Granos manchado llenos					Granos manchado vanos								
			Microorganismos					Microorganismos					Microorganismos					Microorganismos								
			B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A	B	S	C	F	N	A
Los Ríos	Babahoyo	Hacienda. Clementina	0	0	6	0	0	0	2	2	29	4	0	0	2	0	12	2	0	0	0	0	43	0	5,6	0
		Vía a La Unión	0	0	4	2	0	0	3	0	19	5	26	3	2	0	6	6	4	0	15	0	8	0	15	0
		Vía a La Unión	4	0	8	2	10	2	5	0	37	5	16	3	2	0	30	6	6	2	8	0	23	9	8	6
		Vía a La Unión	0	0	0	22	0	0	2	0	0	52	17	0	0	0	0	22	0	0	0	0	0	46	19	0
		Vía a La Unión	2	0	4	2	2	4	4	0	17	17	0	2	6	2	8	12	2	0	2	4	8	22	0	0
		Vía a La Unión	6	0	6	6	0	2	14	0	14	10	0	0	20	0	4	2	0	0	20	2	4	0	0	2
		Vía a La Unión	2	0	8	6	6	2	11	2	23	7	11	14	7	2	7,3	7	7	2	14	0	14	14	2	12
		Quinco-Babahoyo	0	0	4	4	6	0	2	0	19	9	8	0	0	0	6	6	0	0	0	2	10	8	18	2
		La Corona –Babahoyo	0	0	4	4	40	0	0	0	0	0	28	0	2	2	2	8	22	0	0	0	4	2	18	0
		Recinto Santa Rosa	0	0	0	0	12	0	0	0	2	0	8	0	0	0	2	2	4	0	0	0	10	0	28	0
	Lomas de Palmar	2	0	3	7	0	0	6	3	14	32	6	0	0	2	2	16	0	0	37	0	2	12	2	0	
	Pueblo Solitario	2	0	24	2	0	0	4	0	28	2	13	0	0	2	17	4	0	0	12	0	19	10	14	0	
	Palenque	Recinto Soledad	0	0	4	4	4	0	2	0	10	13	16	0	0	0	4	26	0	0	21	0	2	7	9	0
	Huaquillas	0	0	4	0	2	4	0	0	22	0	28	8	0	0	4	2	18	4	0	0	8	2	16	2	
	Montalvo	Palenque	0	0	2	2	16	0	0	0	6	9	51	0	0	0	0	6	17	0	0	0	5	5	42	2
	Bola de Oro, San Juan	2	0	2	0	0	0	0	0	17	28	15	0	2	4	2	0	4	0	15	2	14	21	6	0	
	San Juan	0	0	8	6	4	0	6	0	12	12	6	0	0	2	8	10	0	0	2	2	15	13	11	2	
	Recinto La Josefa	10	0	12	0	2	0	26	0	28	2	10	7	46	0	11	0	15	2	69	0	4	0	0	2	
	Pueblo Viejo	Luz Angélica	0	0	0	0	2	0	2	0	20	9	7	4	2	2	15	8	8	0	6	0	11	11	6	7
	Recinto La Cadena	0	0	13	6	6	0	0	0	14	18	12	0	0	0	2	12	4	0	0	0	14	38	4	0	
	Recinto El Vergel	0	0	8	2	2	0	4	0	25	10	10	0	2	0	12	2	2	0	0	0	26	8	6	0	
	El Vergel	0	0	6	4	6	0	0	0	22	32	19	0	2	0	0	4	0	0	10	0	10	24	14	2	
	Recinto Nueva Esperanza	0	2	6	28	2	0	0	0	14	47	0	0	2	0	4	26	14	0	0	0	12	46	6	0	
	Recinto La Ladera	2	0	12	0	6	0	20	0	22	2	6	0	4	2	14	6	2	0	6	0	14	22	4	0	
	Valencia	La Esperanza	0	0	2	2	2	0	0	0	2	28	6	0	0	0	6	18	4	0	4	0	0	42	2	0
	Ventanas	Los Girasoles	16	6	20	7	6	0	10	0	22	22	3	0	28	2	7	21	5	0	31	0	22	9,1	0	0
	Vinces	Rcto. Santa Martha	0	0	2	20	2	0	0	0	4	44	10	0	0	0	2	14	6	2	0	0	2	37	10	0

B= *Bipolaris oryzae*, S= *Sarocladium oryzae*, C= *Curvularia*, F= *Fusarium*, N= *Nigrospora*, A= *Alternaria*

4.2. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas asociados con el manchado y vaneamiento de la panícula del arroz.

De los 38 aislamientos bacterianos de las muestras colectadas en la provincia del Guayas, no presentaron fluorescencia, 28 cepas fueron de reacción Gram negativa en la prueba de solubilidad en hidróxido de potasio (KOH); en el estudio de la capacidad de degradar tejido se observó que 15 bacterias mostraron efecto pectonolítica en discos de papa a las 24 horas (Cuadro 9).

Cuadro 9. Caracterización de aislados bacterianos mediante fluorescencia, reacción de Gram y pectolíticas, en muestras arroz de la provincia del Guayas. INIAP, EELS. 2013.

Cantón	Lugar	Fluorescencia			Prueba de KOH			Pectonolítica		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Daule	Vía Santa Lucía	No	no		+	-		si	Si	
	América Lomas	No	no		+	-		si	Si	
	América Lomas	No			-			no		
	América Lomas	No			-			no		
	América Lomas	No	no		+	+		no	No	
	América Lomas	No			+			no		
Salitre	Rcto. San Pedro	No	no		-	-		si	No	
	Rcto. Los Tintos	No			-			si		
Santa Lucía	Sector Ánimas	No	no		-	-		si	No	
	Limonal	No	no		-	-		si	No	
	Limonal	No	no		-	-		no	Si	
Naranjal	Taura	No	no		-	-		no	No	
El Triunfo	Miranda Girón	No	no		-	-		si	No	
	Miranda Girón	No	no	no	+	+	-	si	Si	si
	Miranda Girón	No	no		+	+		no	Si	
Yaguachi	Amalia	No			-			si		
	Amalia	No			-			no		
Palestina	Coloradal	No			-			no		
Samborondón	Hda. Gran Colombia	No			-			no		
	Jaboncillo	No			-			no		
	Miraflores	No			-			no		
	Boca de Caña	No	no		-	-		no	no	
	Hda. Los Ceres	No			-			no		
	La Victoria	No			-			no		
	Rcto. El Rosario	No			-			no		

- Reacción negativa
 + Reacción positiva
 Si = positiva a la prueba
 No = negativa a la prueba

En los 50 aislados bacterianos de muestras de la provincia de Los Ríos, ninguno fue positivo a la fluorescencia; en la sensibilidad de hidróxido de potasio (KOH) 44 cepas bacterianas fueron de reacción Gram negativa y 20 cepas tuvieron efecto pectinolítico en discos de papa (Cuadro 10).

Cuadro 10. Caracterización de aislados bacterianos mediante fluorescencia, reacción de Gram y pectolíticas, en muestras arroz de la provincia de Los Ríos. INIAP, EELS. 2013.

Cantón	Lugar	Fluorescencia			Prueba de KOH Cepas bacterianas			Pectonolítica		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Babahoyo	Hda. Clementina	No	no		+	-		no	si	
	Vía a La Unión	No			+			no		
	Vía a La Unión	No	no		-	-		no	no	
	Vía a La Unión	No	no		-	-		no	no	
	Vía a La Unión	No	no		+	+		no	no	
	Vía a La Unión	No	no		-	+		si	no	
	Vía a La Unión	No	no		-	-		no	si	
	Quinco-Babahoyo	No			-			no		
	La Corona -Babahoyo	No	no		-	-		no	no	
Palenque	Vía, Rcto. Santa Rosa		no			-			si	
	Lomas de Palmar	No	no		-	-		no	no	
	Pueblo Solitario	No	no		-	-		si	si	
	Recinto Soledad									
Montalvo	Huaquillas	No			-			si		
	Palenque	No	no		+	-		no	si	
Pueblo Viejo	Bola de Oro, San Juan	No	no		-	-		si	si	
	San Juan	No	no	No	-	-	-	si	si	Si
	Recinto La Josefa	No	no		-	-		si	si	
	Luz Angélica	No	no		-	-		no	si	
Valencia	Recinto la Cadena	No	no		-	-		no	no	
	Recinto El Vergel	No	no		-	-		no	no	
	El Vergel	No	no		-	-		no	no	
	Rcto. Nueva Esperanza	No	no		-	-		no	no	
	Recinto La Ladera	No	no		-	-		no	no	
	La Esperanza	No	no	No	-	-	-	si	no	Si
Ventanas	Los Girasoles	No	no		-	-		no	si	
Vinces	Rcto. Santa Martha	No	no		-	-		no	si	

- Reacción negativa
+ Reacción positiva
Si = positiva a la prueba
No = negativa a la prueba

Se identificaron mediante esta metodología las bacterias *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas oryzae*.

4.3. Prueba de patogenicidad de *Bipolaris oryzae* y las cepas bacterianas positivas aisladas asociadas con el manchado y vaneamiento de la panícula del arroz.

Comportamiento de 14 genotipos de arroz frente a *Bipolaris oryzae*

La prueba de patogenicidad de *B. oryzae* en los 14 genotipos de arroz evaluados mediante la escala del IRRI (1975) no mostraron síntomas típicos en el follaje; se observó que en nueve genotipos hubo manchado de grano con valores de 1 a 5, siendo este máximo valor para los cultivares INIAP 18 y GO-39815; los genotipos Go-00623, Go-38417, Go-39783 e INIAP 10 no fueron afectadas por este hongo, igual que las plantas testigos. De acuerdo a la prueba de “T” hubo diferencias significativas entre los cultivares y entre con y sin inóculo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Reacción genética de 14 genotipos de arroz frente a *Bipolaris oryzae*. INIAP, EELS. 2013.

Tratamientos	Materiales	Daño de hojas	% de Granos manchado		Reacción
			Inoculada	Sin inóculo	
1	Go – 00623	0	0	0	Inmune
2	Go – 38417	0	0	0	Inmune
3	Go – 39590	0	3	0	Tolerante
4	Go – 39690	0	3	0	Tolerante
5	Go – 39783	0	0	0	Inmune
6	Go – 39815	0	5	0	Susceptible
7	INIAP 10	0	0	0	Inmune
8	INIAP 14	0	1	0	Resistente
9	INIAP 15	0	3	0	Tolerante
10	INIAP 16	0	3	0	Tolerante
11	INIAP 17	0	0	0	Inmune
12	INIAP 18	0	5	0	Susceptible
13	FL – 09	0	3	0	Tolerante
14	La Conquista	0	3	0	Tolerante
Media			2,3	0,0	
Prueba de t			5,35**		

0 = sin síntomas, 1 = menos del 1%, 3 = 1 – 5% de lesiones o manchado, 5 = 5 – 25%, 7 = 26 – 50% y 9= más del 50%

En los genotipos que mostraron granos manchados se colocaron en medio de cultivo y se reaisló *Bipolaris oryzae*, cuyos porcentajes más altos fueron en la variedad INIAP 18 con 3 % aproximadamente, seguido del genotipo Go- 39815 con 2 %, los más bajos

porcentajes fueron en los cultivares INIAP 14, Go- 39690 y Go-39590 con 0.9; 1.0 y 1.1 % en su orden (Figura 8).

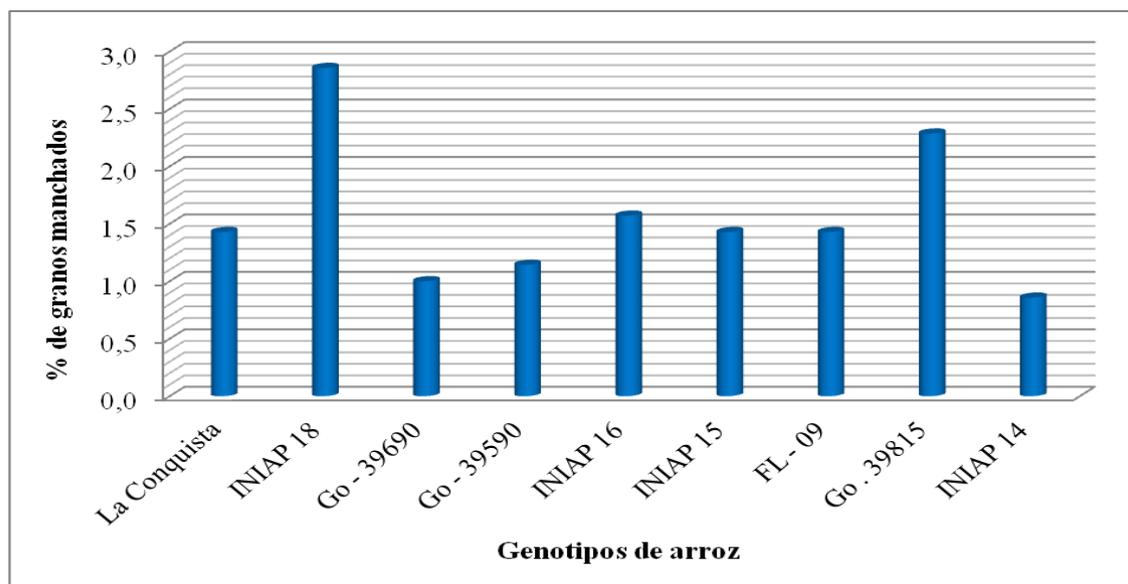


Figura 8. Porcentaje de aislamiento de *Bipolaris oryzae* en granos manchados. INIP, EELS. 2013.

Efecto de 87 aislados bacterianos en la variedad INIAP 15

Solamente cinco cepas mostraron efecto positivo a las 48 horas (periodo de incubación), mismas que corresponden a dos muestras de San Juan Pueblo Viejo en la provincia de Los Ríos y tres de la provincia del Guayas ubicadas en Miranda Jijón, El Triunfo; Amelia, Yaguachi, San Pedro y Salitre (Cuadro 12).

Diariamente, se observó el desarrollo de síntomas en las plántulas, lo que permitió caracterizarlos de la siguiente manera:

La bacteria uno, que corresponde a la cepa de San Juan Pueblo Viejo, presentó al inicio de síntomas como una lesión de color café claro en el tallo inoculado y luego se tornan de color oscuro. El aislado dos, mostró lesiones en el nudo del tallo, mismo que luego se volvió necrótico formando una mancha de un centímetro aproximadamente.

La cepa bacteriana de El Triunfo, inicio los síntomas como una lesión de color café claro, luego se torna de color oscuro y finalmente causa pudrición. El aislados de Yaguachi presenta lesiones de color café oscuro en tallos, luego avanza hacia el borde de la hoja y forma manchas en la nervadura central; por otra parte, la bacteria cinco mostró lesiones de color café en el tallo y finalmente ruptura del mismo.

Cuadro 12. Patogenicidad de 87 cepas bacterianas en las plántulas de arroz variedad INIAP 15 en condiciones controladas de infección. INIAP, EELS. 2013.

Provincia	Lugar de recolección de cepas	Bacteria aisladas	Desarrollo de síntomas después de la inoculación																
			Día uno					Día dos					Día tres						
			P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5		
Guayas	Daule, Vía Santa Lucia	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Santa Lucía, sector Ánimas	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Parroquia. Limonal, Santa Lucía	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Parroquia. Limonal, Santa Lucía	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
	2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
Los Ríos	Hacienda Clementina	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Vía Palenque, Recinto. Santa Rosa	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Palenque, Lomas de Palmar	1	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Palenque, Pueblo Solidario, Libela	1	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
	2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
Los Ríos	San Juan, Pueblo Viejo	1	no	no	No	No	no	no	no	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
		2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	San Juan, Pueblo Viejo	1	no	no	No	No	no	si	no	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
		2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	La Josefa, Pueblo Viejo	1	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Los Girasoles, Pueblo Viejo	1	no	no	No	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Luz Angélica, Pueblo Viejo	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no

Continuación Cuadro 12.

Provincia	Lugar de recolección de cepas	Bacteria aisladas	Desarrollo de síntomas después de la inoculación														
			Día uno					Día dos					Día tres				
			P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
	Babahoyo, La Unión	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Babahoyo, La Unión	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Babahoyo, La Unión	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Los Ríos	Babahoyo, La Unión	2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
			2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		Babahoyo, La Unión	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
			2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		Babahoyo, La Unión	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
	Triunfo, Miranda Girón	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
		2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
Guayas	Triunfo, Miranda Girón	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
		2	no	no	no	No	no	si	si	no	si	si	si	si	si	si	
			3	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
		Triunfo, Miranda Girón	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
			2	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
		Yaguachi, Amalia	1	no	no	no	No	no	no	no	no	no	no	no	no	no	
	Yaguachi, Amalia	1	no	no	no	No	no	no	si	si	si	si	si	si	si		

Continuación Cuadro 12.

Provincia	Lugar de recolección de cepas	Bacteria aisladas	Desarrollo de síntomas después de la inoculación														
			Día uno					Día dos					Día tres				
			P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Guayas	Daule, América Lomas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Daule, América Lomas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Daule, América Lomas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Daule, América Lomas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Daule, América Lomas	2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Daule, América Lomas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Palestina, Coloradal	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Los Ríos	Vinces, recinto Santa Martha	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Babahoyo, Baba	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Babahoyo, La Corona	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Guayas	Samborondón, Hda. Gran Colombia	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Samborondón, Jaboncillo	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Samborondón, Boca de Caña	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Samborondón, Hacienda Los Ceres	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Salitre, Parroquia. La Victoria	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Samborondón, Recinto El Rosario	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Los Ríos	Montalvo, Huaquillas	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Montalvo, Palenque	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no

Continuación Cuadro 12.

Provincia	Lugar de recolección de cepas	Bacteria aisladas	Desarrollo de síntomas después de la inoculación															
			Día uno					Día dos					Día tres					
			P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	
Guayas	Salitre, Recinto San Pedro	1	no	no	no	no	no	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Salitre, Recinto Los Tintos	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Los Ríos	Valencia, Recinto La Cadena	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Valencia, Recinto El Vergel	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Valencia, El Vergel	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Valencia, Recinto Nueva Esperanza	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	Valencia, Recinto La Ladera	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
	La Esperanza	1	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
		2	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
3		no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no	

P 1, P2, P3, P4, P5 = plantas 1, 2, 3, 4, 5.

Si = patogénico

No = no mostró síntomas

Reacción de 14 genotipos de arroz frente a cinco aislados bacterianos

Los síntomas causados por las cinco cepas bacterianas de manera general fueron lesiones necróticas con tonalidades de café claro a café oscuro; también se observó que las cepas de El Triunfo y Salitre mostraron además ruptura del tallo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Descripción de síntomas de cinco bacterias positivas. INIAP, EELS. 2013.

Bacterias	Descripción
1. <i>Pseudomonas</i>	A las 24 horas de evaluación no hubo síntomas, a las 48 se pudo distinguir una línea café claro en el centro de los tallos inoculados y a las 72 horas ésta lesión fue más marcada y de color oscuro.
2. <i>Pseudomonas</i>	Al igual que la cepa bacteriana anterior no mostró síntomas a las 24 horas, a las 48 horas se distinguió una franja café en la parte inoculada que iba desde el primer nudo hasta la hoja, al tercer día se manchó todo el tallo, cuya lesión fue color café claro.
3. <i>Pseudomonas</i>	Los síntomas fueron visualizados a las 48 horas, como una lesión de tonalidades café claro a café oscuro en los tallos; al tercer día los granos estaban más oscuros y mostraron pudrición.
4. <i>Xanthomonas oryzae</i>	Los tallos inoculados mostraron síntomas a las 48 horas cuya lesión era de color café oscuro, a las 72 horas la infección había avanzado hacia la hoja, misma que presentaron en los bordes unas manchas y avanzaba hacia la nervadura.
5. <i>Pseudomonas</i>	Los síntomas fueron visualizados a las 48 horas, como una lesión de color café claro en todo el tallo, a las 72 horas las plantas se doblaron y con manchas de color café claro.

Se determinó que las variedades INIAP 10, INIAP 14, INIAP 15, INIAP 16, INIAP 17, INIAP 18 y FL – 09 no fueron afectadas por ninguna de las cinco cepas bacterianas. Los genotipos Go-00623 y Go-38417 fueron afectados por los aislados de El Triunfo y Yaguachi; Go-39590 fue sensible a todas menos a la cepa de Salitre. El cultivar Go-3690 mostró reacción frente a los aislados de San Juan y San Pedro, go-39783 al segundo aislado de San Juan, mientras que el cultivar Go – 39815 a las cepas de San Juan de Pueblo Viejo y Yaguachi. Los síntomas fueron observados a las 24 horas después de la inoculación (Cuadro 14).

Cuadro 14. Reacción de 14 genotipos de arroz frente a cinco aislados bacterianos en condiciones controladas de inoculación. INIAP, EELS. 2013.

Genotipos de arroz	Pueblo Viejo			Pueblo Viejo			El Triunfo			Yaguachi			Salitre		
	S 3 M 2 B 1			S 3 M 1 B 1			S 5 M 2 B 2			S 6 M 1 B 1			S 11 M 1 B 1		
	48 h	72 h	Media	48 h	72 h	Media	48 h	72 h	Media	48 h	72 h	Media	48 h	72 h	Media
Go - 00623	0	0	0 c	0	0	0 c	1	1	1 b	3	3	3 b	0	0	0 b
Go - 38417	0	0	0 c	0	0	0 c	3	3	3 b	2	2	2 a	0	0	0 b
Go - 39590	4	4	4 a	5	5	5 a	5	5	5 a	3	3	3 a	0	0	0 b
Go - 39690	0	0	0 c	3	3	3 b	0	0	0 c	0	0	0 b	7	7	7 a
Go - 39783	1	1	1 b	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
Go - 39815	0	0	0 c	3	3	3 b	0	0	0 c	2	2	2 a	0	0	0 b
INIAP 10	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
INIAP 14	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
INIAP 15	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
INIAP 16	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
INIAP 17	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
INIAP 18	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
FL - 09	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 c	0	0	0 b	0	0	0 b
La Conquista	3	3	3 a	0	0	0 c	3	3	3 b	0	0	0 b	6	6	6 a
CV (%)	0,001														

Valores de la columnas con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí de acuerdo a aprueba de rangos múltiples de Duncan

h = horas de observación de los síntomas y evaluación con el uso de la escala del CIAT calificada del 1 al 9 (%)

S M B = Código de identificación de las cepas bacterianas aisladas en laboratorio.

Se reislaron bacterias de granos que mostraron síntomas a los tres días después de la inoculación y realizaron las mismas pruebas de caracterización; todas fueron de reacción Gram negativa y pectinolíticas (Cuadro 15).

Cuadro 15. Comportamiento de cinco cepas bacterianas reisladas frente a las pruebas de fluorescencia, sensibilidad de hidróxido de potasio (KOH), pectonolítica. INIAP, EELS. 2013.

Código de Bacterias reisladas	Lugar de recolección	Pruebas de presencia bacteriana		
		Florescencia	Prueba de KOH	Pectonolítica
S 3 M 2 B 1	San Juan, Pueblo Viejo	No	-	Si
S 3 M 1 B 1	San Juan, Pueblo Viejo	No	-	Si
S 5 M 2 B 2	Triunfo, Miranda Girón	No	-	Si
S 6 M 1 B 1	Yaguachi, Amalia	No	-	Si
S 11 M 1 B 1	Salitre, Recinto San Pedro	No	-	Si

5. DISCUSIÓN

Los hongos más incidentes durante la ejecución del estudio, en muestras de las provincias del Guayas y de Los Ríos fueron *Bipolaris oryzae* y *Sarocladium oryzae* mismos que se transmiten por semillas. Los de mayor porcentaje de aislamiento fueron los géneros *Curvularia* y *Fusarium* y los de menor valor *Nigrospora* y *Alternaria*; datos que están relacionados con la información proporcionada por Espinoza y Vivas (2007), Vivas y Intriago (2012), Gutiérrez y Mazzanti, (2011) ya que, ellos también los reportan a éstos microorganismos como componentes del manchado de la panícula. Por otra parte, los hongos aislados están presentes en granos con y sin manchas ya sean llenos o vanos, lo que sumado a otros factores como ciclos continuos de cultivo, uso inadecuado de plaguicidas y cambio climático, han contribuido a la disminución de los rendimientos del cultivo, al respecto Cárdenas *et al* 2004 y Pincirolí, *et al.* (2004), indican que una interacción diferenciada hospedero-patógeno-ambiente, determina que las especies fúngicas incidan en mayor o menor cantidad.

En cuanto a los aislamientos bacterianos se identificó a *Pseudomonas* y *Xanthomonas*, mismas que son parte del complejo manchado del grano y vaneamiento de la panícula, tal como lo reportan Vivas e Intriago (2012), por otra parte, Guzmán (2006) indica que *Xanthomonas* a más de causar manchado de grano también causa lesiones en las hojas.

En el caso de *Pseudomonas fuscovaginae* puede sobrevivir en semillas de arroz y malezas gramíneas, la bacteria se puede aislar de hojas sanas y vainas de plantas en la etapa vegetativa; en plantas adultas la bacteria es favorecida por temperaturas bajas (17 a 23 °C) como lo menciona Mew (1992), condición que podría estar relacionada con este factor, si bien no se registró la información climática los efectos fueron evidentes.

Por otra parte, Mew (1992) reporta que la especie *X. oryzae* causa tizón foliar, afecta a las panículas, glumas y por tanto causa vaneamiento del grano, información que se relaciona con lo descrito por este autor, debida que hubo alto porcentaje de granos vanos con y sin manchas.

De los 87 aislados bacterianos en las pruebas de solubilidad en hidróxido de potasio (KOH), y pectinolítica, 36 resultaron positivas y causaron pudrición blanda en tejidos de papa, pero ninguna tuvo características fluorescente, según con Padilla *et al.*, 2007, se identificaron por las características de cada colonia como el color, tamaño, forma,

borde, consistencia y características a la luz; por otra parte, solamente cinco aislados fueron patogénicos, de los cuales las cepas de Pueblo Viejo, Yaguachi y Salitre correspondieron al género *Pseudomonas* y la de El Triunfo a la especie *Xanthomonas oryzae*.

La generación de tecnologías para el cultivo de arroz en INIAP tiene como propósito obtener cultivares de alto rendimiento y con características de tolerancia a la mayoría de las enfermedades por ello; las variedades INIAP 10, INIAP 14, INIAP 15, INIAP 16, INIAP 17, INIAP 18 no mostraron síntomas al ser inoculadas con las cepas bacterianas; sin embargo, la variedad INIAP 10 en 1987 fue severamente afectada por *Pseudomonas fuscovaginae* como lo reporta Armijos (2007).

Las líneas promisorias de Programa de arroz del INIAP Go – 00623, Go – 38417, Go – 39590, Go – 39783, Go – 39815 mostraron síntomas de manchado similares a las descritas por diversos autores (Guevara y Maselli, 1999, Goto, 1992), quienes se refieren a bacterias del género *Xanthomonas* sp. son causales del manchado del grano.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Los hongos patógenos asociados con el manchado del grano en arroz identificados fueron *Bipolaris oryzae*; *Sarocladium oryzae*; *Curvularia* sp. *Alternaria* sp. *Fusarium* sp. y *Nigrospora* sp. siendo los generos mayormente identificados: *Curvularia*, *Fusarium* y *Nigrospora*.
2. Los cultivares resistentes a *B. oryzae* fueron Go-00623, Go- 38417, Go-39783, INIAP 10 e INIAP 17, según la prueba de patogenicidad
3. Las bacterias identificadas como *Pseudomonas* sp y *Xanthomonas oryzae*, fueron las que mostraron síntomas del manchado del grano en las líneas promisorias y en la variedad peruana “La Conquista”, siendo ésta última la más susceptible.
4. Los cultivares resistentes a las bacterias *Pseudomonas* y *Xanthomonas oryzae* fueron las variedades INIAP 10, INIAP 14, INIAP 15, INIAP 16, INIAP 17, INIAP 18, FL – 09. Los materiales susceptibles fueron las líneas promisorias Go – 00623, Go – 38417, Go – 39590, Go – 39783, Go – 39815 y La Conquista.
5. Las cepas bacterianas del Guayas fueron más agresivas que las de la provincia de Los Ríos.
6. Hubo baja incidencia de bacterias fitopatógenas en los muestreos de arroz analizados.

Recomendaciones

1. Realizar pruebas de patogenicidad con el género *Curvularia* debido a que si bien ha sido reportado en Ecuador no se conoce el comportamiento de genotipos de arroz frente a este hongo.
2. Se debe usar semilla certificada para evitar infecciones en campos por los hongos *Bipolaris oryzae* y *Sarocladium oryzae* ya que éstos se diseminan por este medio.
3. Realizar muestreos en diferentes épocas del año para determinar la incidencia de microorganismos con las condiciones ambientales prevalentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Armijos, F (2007). Manual del cultivo de arroz. Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Litoral Sur (INIAP). Ecuador, Guayas, Yaguachi, Km 26,5 vía Durán – Tambo, Virgen de Fátima. 2 ed, Pág. 105 – 107.
- Ainsworth, G. C. y Alfred, S (1973). The Fungi. Ed by PASCAL'S BOOKS, MA, U.S.A. Volúmen IV.
- Ash, G, J; Lang, J, M; Triplett, L, R; Stodart, B, J; Verdier, V; Leach, J, E (2013). Loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Pseudomonas fuscovaginae*. Charles Sturt University, Australia. Colorado State University, Fort Collins, U.S.A. Institut de Recherche pour le Developpement, Montpellier, France, Pág. 340.
- ANAR (Asociación Nicaragüense de Arroceros) (2010). Charla técnica sobre *Burkholderia glumae* en el cultivo del arroz. Nicaragua; Boletín Informativo Octubre No. 10-2010.
- Bermúdez, G (2006). Manejo Agronómico del Cultivo de Arroz (*Oryza sativa* L): sembrado bajo riego en fincas Ranchos Horizonte. Trabajo de tesis de grado. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Barnett H L & Barry B, H (1972). Illustrated genera of imperfect fungi Printed in the United State, Library of congress catalog card number 71 – 163710. Third edition Pág. 120.
- Callejas, J (2011). Situación actual de *Burkholderia glumae* causante del añublo bacterial de la panícula del arroz en San Marcos Sucre. Trabajo de tesis Ing. Agro. Colombia. Universidad del Magdalena, Facultad de ingeniería.
- Castaño, J (1983). Rice grain discoloration disease in Colombia. Final Report. Colombia. CIAT. Pág. 52.

- Caicedo, J (2008). Evaluación de características agronómicas de cuatro líneas interespecificas de arroz (*Oryza sativa* / *Oryza latifolia*) compradas con dos variedades comerciales y una nativa en el corregimiento # 8 de Zacarías Municipio de Buena aventura. Trabajo de tesis grafo Ing. Agro. Colombia, Valle del Cauca, Universidad del Pacifico, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, pág. 8.
- Cárdenas, T; Cristo, E; Pérez, N; Rivero, D; Cruz, A (2004). Comportamiento del manchado del grano en variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) de ciclo medio. Fitosanidad. Pág. 39-44.
- Cevallos, B; Rendón, J; Tulcán, W (1991). Crecimiento, desarrollo y manejo del cultivo del arroz; In Unidades de Aprendizaje para la Capacitación en Tecnología de Producción de Arroz. MAG, CIAT, INIAP, PROTECA, PNAR. Ecuador.
- Chen, H; Lin, Y & Zhang, Q (2009). Review and prospect of transgenic rice research. Chinese Sci Bull, Pág. 54.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), FLAR (Fondo Latinoamericano para arroz de Riego), IIA (Instituto de Investigación del Arroz) (2001). Guía para el trabajo de campo en el manejo integrado de plagas del arroz; Ed Medina Salazar, Meneses Carbonell. Ed rev y amp; Colombia, FLAR; Cali.
- Correa, F (1997). Principales enfermedades del arroz: manejo integrado de plagas, artrópodos, enfermedades y malezas Centro Fundación Polar. FEDEARROZ/FLAR. CIAT. Cali, Colombia.
- Correa, F y Guimaraes, E (1995). Utilización del concepto de linaje genético de *Pyricularia* grisea en un programa de selección recurrente: *primer taller internacional de selección recurrente en arroz*. Brasil. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), Cali, Colombia.
- Deka, A. K & Phookan, A. K (1992). Some common weed hosts of *Sarocladium oryzae* in Assan. India; IRRI, Pág. 25.

- Díaz, C y Chaparro, A (2012). Métodos y usos agrícolas de la ingeniería genética aplicada al cultivo del arroz. Estudiantes del doctorado en Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, FEDEARROZ; Rev. Biotecnología. Vol XIV No. 2, Pág. 179 – 195.
- Karki, H; Shahjahan, A; Nandakumar, R; Rush, M C & Ham J (2009). Characterization of naturally avirulent strains of *Burkholderia glumae*, the causative agent of bacterial panicle blight of rice. Louisiana State University Agricultural Center, Baton Rouge, LA, USA, Phytopathology 99: Pág. 62.
- FEDEARROZ (Fondo Nacional del arroz), CIAT (Centro de investigación agrícola tropical), ICA (Instituto Colombiano Agropecuario) (2009). El añublo bacterial de la panícula. Ed Cali, Colombia, Ed rev; Colombia, FEDEARROZ; Editorial Colombia. Pág. 37.
- Gutiérrez, S y Mazzanti de Castañón, M (2011). Hongos asociados a granos manchados de arroz. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE; Sargento Cabral. Corrientes Argentina.
- Guevara, Y y Maselli, A (1999). El Tizón Bacteriano del Arroz en Venezuela. FONAIAP (Centro Nacional de Investigación Agropecuarias). Maracay, Estado Aragua Venezuela.
- Goto, M (1992), Fundamentals of Bacterial plant Pathology. Academic Press Inc, Tokyo; Pág. 266 – 270.
- Guzmán, D (2006). Manejo Agronómico del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) Sembrado bajo riego en finca Ranchos Horizonte, Tesis de grado. Instituto Tecnológico de Costa Rica Sede Regional San Carlos; Cañas, Guanacaste, Costa Rica.
- INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria) (2001). Estudio de la población en el suelo de *Sclerotium oryzae* y *Rhizoctonia oryzae sativae*, Patógenos del arroz (*Oryza sativa*); Programa de Arroz; Venezuela.

- INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas) (2002). Informes anuales. Edición CIAE Portuguesa. Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Portuguesa.
- INIA (Instituto Nacional de investigación agrícola) (2004). El cultivo de arroz en Venezuela. Alfredo Romero 1 ed. Dipaninca, Maracay, Venezuela. Serie Manuales de Cultivo INIA N° 1.
- IPNI (International Plant Nutrition Institute) (2009). Uso eficiente de nutrientes: XVII congreso latinoamericano de la ciencia del suelo. Ed Espinoza Garcia. San José, Costa Rica, IPNI.
- INAMHI (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología del Ecuador) (2005). Anuario Meteorológico del 2005. Estadísticas de estaciones climaticas. Estacion Boliche. Pág. 157.
- Tyagi, A K & Mohanty A. (2000). Rice transformation for crop improvement and functional genomics. *Plant Science*. 158: 1–18.
- Mew, T W (1992). Sheath Brown Rot: *Compendium of Rice Diseases*. American Phytopathology Society. Ed. Webster R and Gunnel Pág. 8 – 9.
- Ortiz, R (2012). El cambio climático y la producción agrícola. Banco Interamericano de Desarrollo. Notas técnicas pág. 383.
- Ospina, O, J y Beltrán Molina, H, J (2009). Primeros resultados del análisis al control de la bacteria *Burkholderia glumae*. Fedearroz – FNA, Saldaña, Colombia.
- Padilla, Z; Gloria, C; Reséndiz, M, C y Vázquez M, A (2007). Material didáctico en apoyo a la asignatura de Bacteriología – Virología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), F.E.S. Cuautitlán.
- Pérez, C; Cristo, M, Sc & Saavedra, E. (2011). Advances in the integrated Management *Burkholderia glumae* bacteria in the crop of rice in the Colombian Caribbean. Colombiana ciencia, Investigador y Transferencia de Tecnología en arroz. Fedearroz (Fondo Nacional del Arroz).

- Pincirol, M; Sisterna, M, N; Bezus, R y Vidal, A, A (2003). Manchado del grano de arroz: efecto de la fertilización nitrogenada. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina pág. 105.
- Pincirol, M; Sisterna, M, N; Bezus, R y Vidal, A, A (2004). Manchado del grano de arroz: efecto de la fertilización nitrogenada. Programa Arroz. Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI) – CIC. Revista de la Facultad de Agronomía. La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina pág. 105.
- Rodríguez, H (1981). Enfermedades del arroz. En: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP). Centro de Investigaciones Agropecuarias Región Centro occidental (CIARCO). El cultivo del arroz. Araure, Portuguesa, Venezuela.
- Rodríguez, H; Nass, H; Cardona, R y Alemán, L (1999). Alternativas para controlar el añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* en arroz. Fitopatol. Venezuela, Pág. 18-21.
- Rodríguez, H; Cardona, R, Arteaga, L y Alemán, L (2001). Control químico del añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* Kühn en arroz BIOAGRO. Venezuela, Pág. 32-37.
- Espinoza, A (2007). Manual del cultivo de arroz: *manejo de enfermedades del Arroz*. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Litoral Sur (INIAP). Ecuador, Guayas, Yaguachi, Km 26,5 vía Durán – Tambo, Virgen de Fátima. Guayaquil, Ecuador, Pág. 75 – 83.
- Schaad, W, N (1994). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Edition by N.W. Schaad for the Bacteriology Committee of the American Phytopathological Society St Paul, Minnesota 55121, USA. 2 edition pág.4.
- SAG (Secretaría de Agricultura y Ganadería) (2003). Manejo técnico para el cultivo de arroz (*Oryza sativa*): para extensionistas y productores. Ed SAG. Comayagua, Honduras.

Soriano, J (2006). Determinación de la incidencia de bacterias patógenas en semillas de arroz, (categorías básica, registrada y certificada) y evaluación de alternativas químicas para su control. Universidad de Panamá Vicerrectora de Investigación y postgrado. Facultad de Ciencias Agropecuarias Programa de Maestrías en Ciencias Agrícolas con Especialización en Protección Vegetal. Panamá, Republica de Panamá.

Espinoza, A y Vivas, L (2007). Manejo de enfermedades del Arroz: *manual del cultivo de arroz*. Guayaquil, Ecuador; Estación Experimental Boliche, INIAP; Pág. 112 – 114.

Vivas, L y Intriago, D (2012). Guía para el reconocimiento y manejo de de las principales enfermedades en el cultivo de arroz en Ecuador. Yaguachi, Ec. Instituto Nacional Autónomo de investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Litoral Sur (INIAP) “Dr. Enrique Ampuero Pareja”. Boletín Divulgativo No. 426, Pág.12.

Anexos

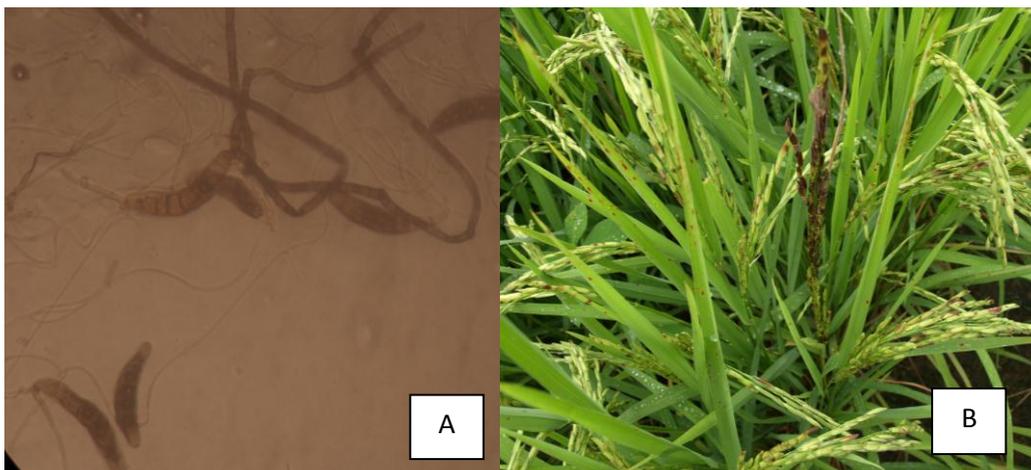
Anexo 1

Conidios (A) y síntomas (B) de *Sarocladium oryzae*



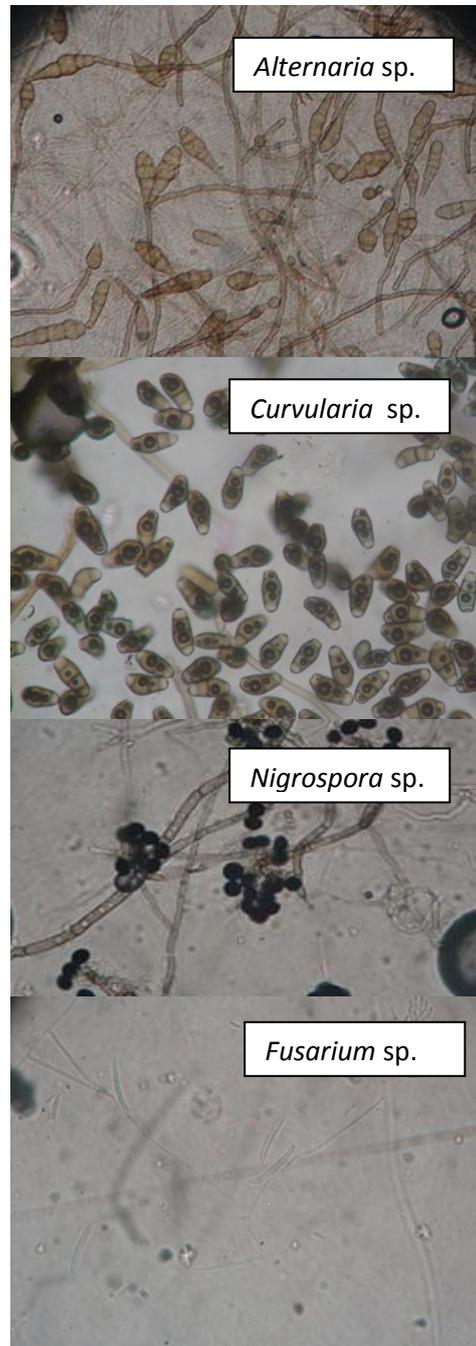
Anexo 2

Conidios (A) y síntomas en hojas y granos manchados (B) de *Bipolaris oryzae*



Anexo 3

Granos manchados y crecimiento de diferentes hongos y conidios de los mismos.



Anexo 4

Inoculación de cepas bacterianas (A) y síntoma de manchado de grano (B) a las 72 horas

