Relación entre los hongos de la semilla de arroz y el establecimiento de planta

Mª del Mar Català[1], Núria Tomàs[1], Juan Pedro Marín[2], Jaume Almacellas[3], Susanna Reigada[3], Maite Martínez[1], Isabel Torró[1], Eva Pla[1].
[1] Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) Amposta.
[2] Universitat de Lleida (UdL).
[3] Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Rural (DAAM).

En los últimos años la dosis de semilla de arroz utilizada en el delta del Ebro ha ido aumentando de forma continuada; pero lo más significativo es que alrededor del 75% de las semillas sembradas no llegan a planta adulta. Existen varios factores que afectan al establecimiento del cultivo del arroz, entre ellos la presencia de hongos fitopatógenos en la semilla. Trabajos previos demostraron que el tratamiento fungicida de la semilla de arroz es necesario solamente cuando el nivel de patógenos es muy elevado. El presente trabajo se centra en el estudio del efecto de la presencia de hongos en la semilla de arroz sobre el desarrollo de las plantas en campo durante la fase de nascencia y establecimiento del cultivo. Los resultados han indicado que, antes de la siembra la presencia de hongos en la semilla tratada ha sido muy baja e inferior al de la semilla no tratada, sin embargo, a los pocos días después de la siembra el nivel de hongos en los dos tipos de semillas (tratada y no tratada) ha sido el mismo. Por lo tanto, según las condiciones del ensayo, la presencia de hongos en la semilla antes de la siembra no ha afectado al establecimiento de las plantas durante la fase de nascencia.

INTRODUCCIÓN

Los hongos asociados a las semillas de arroz pueden reducir la germinación y el vigor en la nascencia (Rahman *et al.*, 2000) debido a que éstos absorben el material almacenado en las semillas y secretan micotoxinas que dañan el embrión (Wabale *et al.*, 2010). Los hongos infectan las semillas en condiciones de elevada humedad desde la floración hasta la maduración, afectando negativamente la germinación y el vigor de las plantas en la fase de nascencia (Tripathi y Jain, 2005).

Los restos de la cosecha, junto con la infección de las semillas, son las fuentes de inóculo que tienen una mayor importancia al inicio de las epidemias de los principales patógenos del arroz (Marín, 1987; Albertí, 2003). Pocos días después de la siembra, en los arrozales inundados, la acción de los hongos de la semilla pertenecientes a los géneros *Alternaria, Bipolaris, Nigrospora, Fusarium, Curvularia, Pyricularia, Cladosporium, Trichothecium, Epicoccum, etc.*, que junto con la de los hongos del suelo (*Rhizoctonia, Fusarium y Pythium*) puede llegar a destruir plántulas o a favorecer su debilitamiento dando mayor disposición al ataque de infecciones futuras. Los síntomas consisten en necrosis de la semilla, pudiéndose ver en algunos casos un halo de filamentos (micelio) (Carreres, 2005).

El tratamiento fungicida de la semilla es la aplicación más utilizada para proteger las semillas y las plántulas contra los patógenos de la semilla y del suelo. El tratamiento de la semilla pretende asumir distintas acciones de profilaxis: en primer lugar, inactiva los órganos de reproducción de los parásitos micóticos que se encuentran en las glumillas; en segundo lugar, la semilla tratada hace de portadora del producto que deberá actuar sobre los hongos que se encuentran en el suelo del cultivo. La tercera función se refiere a la inhibición, durante las fases iniciales, de la germinación de las esporas y del desarrollo de las algas que pueden afectar al desarrollo de la planta embrionaria (Tiranelli, 1989).

En muchos países el abastecimiento de semilla de arroz certificada está extremadamente limitado. Más del 95% de la semilla utilizada en estos países se produce por los mismos agricultores. En algunos casos, este tipo de semilla presenta una baja germinación en campo (Mathur *et al.*, 2004). En el delta del Ebro la producción propia de semilla no certificada está permitida, y aproximadamente el 20% de los agricultores siguen esta práctica (Català *et al.*, 2011).

La dosis de semilla utilizada en el delta del Ebro ha ido aumentando de forma continuada estos últimos años. Actualmente los agricultores siembran a una dosis media de 215 kg/ha; pero lo más significativo es que únicamente el 25% de la semilla llega a planta adulta (Català *et al.*, 2008). Durante las campañas 2006 y 2007 en la Estación Experimental del IRTA en Amposta se realizó un estudio sobre los factores que afectan a la germinación y nascencia en los arrozales del delta del Ebro (Català *et al.*, 2008) y se determinó que mantener un nivel de agua de 3-5 cm durante la fase de nascencia, utilizar semilla pregerminada y evitar poblaciones elevadas de quironómidos en campo favorecía el establecimiento del cultivo. Aún así se continúa perdiendo un porcentaje elevado de plántulas en campo.
El objetivo de este estudio es conocer el efecto de la presencia de hongos en la semilla de arroz sobre el desarrollo de las plantas en la fase de nascencia y establecimiento del cultivo.

Material y métodos

Diseño del ensayo

Se realizaron 2 experimentos durante los años 2009 y 2010.

El **Experimento 1** se realizó durante la campaña 2009 en una parcela experimental del IRTA en Amposta. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Cada parcela elemental medía 25 m^2 (2,5x10 m) y los tratamientos a estudiar fueron, por una parte, semilla certificada de la variedad Gleva, tratada con el fungicida Vitavax Flow (Carboxina 20% + Tiram 20% p/v) (**T**) y, por otra parte, semilla certificada de dicha variedad, sin tratamiento fungicida (**NT**).

El **Experimento 2** también se ubicó en una parcela del IRTA en Amposta durante la campaña 2010 y el diseño fue de bloques al azar con 3 repeticiones. Cada parcela elemental medía 35 m^2 (7x5 m). En este caso, los tratamientos estudiados fueron seis, y consistieron en sembrar 3 lotes de semilla no certificada (producida por 3 agricultores diferentes de la zona) de la variedad Gleva (**G1, G2** y **G3**) diferenciando la semilla que se había tratado con el fungicida Vitavax Flow® (Carboxina 20% + Tiram 20% p/v) (**T**) de la semilla que no había recibido ningún tratamiento fungicida (**NT**).

En los dos experimentos se eligió la variedad Gleva por ser la variedad más cultivada en el delta del Ebro en los últimos 5 años (Català *et al.*, 2010).

Tratamiento fungicida de la semilla

Actualmente los formulados autorizados para el tratamiento fungicida de la semilla de arroz son el Himexazol 70% p/p (Tachigaren 70 wp®) y Carboxina 20% +Tiram 20% (Vitavax Flow®) (MARM, 2011). En los dos experimentos del ensayo se decidió utilizar el fungicida Vitavax Flow® ya que combina la acción sistémica de la Carboxina con la acción de contacto del Tiram mientras que la acción del Himexazol es únicamente sistémica (Carreres, 2005).

Foto 1. Germinación de las semillas de arroz en placa.

La aplicación del producto se realizó mediante pulverización manual a dosis de 3,5 cc/kg de semilla. El tratamiento de la semilla se realizó 2 días antes de la siembra en el experimento 1 y 9 días antes de la siembra en el experimento 2.

Datos del cultivo

El manejo del cultivo fue el que habitualmente siguen los agricultores de la zona en los dos experimentos. Se sembraron 500 semillas viables/m^2 (200 kg/ha) y permanecieron 12 horas en remojo antes de la siembra en el **Experimento 1** y 36 horas en el **Experimento 2**. En cuanto al abonado, se aplicaron un total de 150 kg N/ha, 50 Kg P_2O_5/ha y 50 kg k_2O/ha. Durante todo el cultivo se realizaron los tratamientos herbicidas e insecticidas necesarios aplicando las dosis indicadas por el fabricante.

Evaluación de la presencia de hongos en la semilla

En el **Experimento 1** el método utilizado para incubar las muestras de semilla para la identificación de especies fue el de cámara húmeda o *"blotter test"* (Mew y Misra, 1994): se sembraron 500 semillas por tratamiento a razón de 25 semillas por placa, sobre papel de filtro húmedo (ambos estériles). Las placas se incubaron durante 5-7 días a 25ºC y 12 horas/día bajo luz blanca próxima a la ultravioleta. Para la lectura de las placas inicialmente se utilizó una lupa binocular de 90 aumentos. Posteriormente se realizaron montajes para observación microscópica con microscopio de luz transmitida y se identificaron las especies según sus características morfométricas y de autogénesis conidial (Ellis, 1971, 1976; Von Arx, 1981). En caso de *Fusarium sp.* se realizaron replicados a PDA y se identificaron sus características morfométricas y de la colonia (Booth, 1977).

En el **Experimento 2** se incubaron 750 semillas a razón de 25 semillas por placa sobre medio de Rosa Bengala y Agar de Patata y Dextrosa (PDA). Durante 7-10 días se determinó la presencia de hongos. La identificación de las especies se realizó según la morfología de la colonia en PDA y observación de estructuras al microscopio óptico para su confirmación.

En los dos experimentos, la incidencia de cada patógeno en la muestra es el cociente entre el número de semillas de cada muestra que presentan como mínimo una estructura identificable del patógeno y el tamaño total de la muestra, expresado en tanto por ciento.

Evaluación de la presencia de hongos en las plántulas

En el **Experimento 1** a los 5, 12 y 20 días después de la siembra (dds) se muestrearon todas las plántulas que se encontraban en una superficie total de 0,16 m^2/parcela elemental. Estas plantas se limpiaron y secaron con papel de filtro y para la identificación de la presencia de hongos se siguió el mismo método utilizado en la incubación de hongos en la semilla.

En el **Experimento 2** a los 5, 14 y 24 dds se muestrearon todas las plantas presentes en una superficie de 0,08 m^2/parcela elemental. Estas plantas se limpiaron y secaron con papel de filtro. La identificación de los hongos se realizó mediante observación directa en las plantas e incubación en cámara húmeda (100% HR a 20-25ºC) durante 3 días. En algunos casos, en los que la identificación lo requería, se realizaron siembras en medio PDA para confirmar la identificación de los hongos, que se llevó a cabo de la misma forma que en las semillas.

En ambos experimentos se evaluó la presencia de plagas que resultó negativa durante la fase de establecimiento del cultivo.

Germinación de la semilla en condiciones controladas

Para evaluar la capacidad germinativa de las semillas, en el **Experimento 1** se contaron el número de semillas germinadas respecto al total sembrado en las mismas placas que se incubaron para la identificación de los hongos en la semilla.

En el **Experimento 2** se incubaron a 25ºC 4 placas por tratamiento con 25 semillas cada una y a los 5 días se contaron el número de semillas germinadas respecto al total sembrado en las placas.

Evaluación de la nascencia de las plántulas en campo

Para evaluar el desarrollo de las plántulas durante la fase de establecimiento del cultivo se midió la longitud de la parte aérea y de la parte radicular de las mismas plántulas muestreadas para la evaluación de la presencia de hongos.

Foto 2. Germinación de las semillas de arroz en campo.

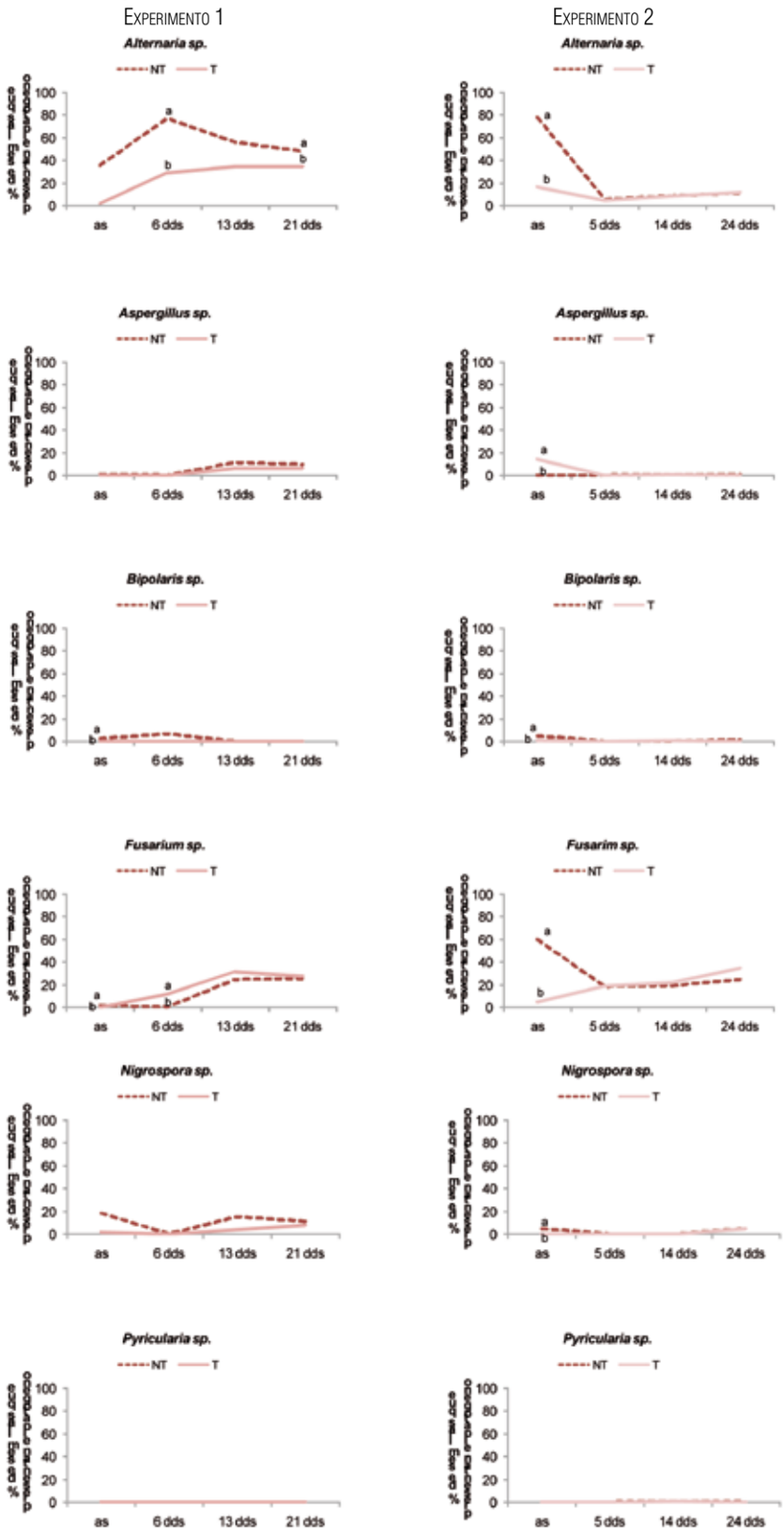
Foto 3. Plantas de arroz en el estadío fenológico de 4 hojas verdaderas.

Finalmente, para la determinación de la densidad de planta, en el estadio fenológico de 4 hojas verdaderas, código 14 según codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo del arroz (Lancashire *et al.*, 1991) se contaron las plantas que quedaban dentro de 6 cuadros de 0,25 m^2 por parcela elemental.

Análisis estadístico

Se ha realizado el análisis de la varianza (ANOVA) aplicando el procedimiento GLM y la separación de medias mediante el test de Duncan (SAS Institute, 2009). Los resultados presentados en los Gráficos 1-12 expresan la incidencia de distintas especies

Resultados y discusión



Gráficos 1-12. Evolución de la presencia de hongos en la semilla y en la planta de arroz desde antes de la siembra (as), a los 6 dds, a los 13 dds y a los 21 dds. en el experimento 1 (2009) y antes de la siembra (as), a los 5 dds, a los 14 dds y a los 24 dds en el experimento 2. dds: días después de la siembra. Separación de medias según test de Duncan. Niveles de significación < 5% en el análisis ANOVA establecen diferencias significativas entre tratamientos.

de hongos aislados de las semillas antes de la siembra y de las plántulas en campo. La incidencia muestra el porcentaje de semillas y/o plántulas que presentan algún conidio. El cultivo del arroz es atacado por diferentes agentes fúngicos que se encuentran en la semilla, por ejemplo *Bipolaris sp.*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Nigrospora sp.*, *Curvularia sp.*, *Aspergillus sp.* (Thobunluepop, 2009). En los dos años de ensayo las especies que se han presentado con una incidencia mayor en las semillas han sido *Alternaria sp.* (10-80%) y *Fusarium sp.* (10-70%). En cambio, *Nigrospora sp.* (0-20%), *Aspergillus sp.* (0-20%) y *Bipolaris sp.* (0-10%) han mostrado niveles bajos de incidencia y *Pyricularia sp.* no se ha presentado en ninguno de los dos experimentos (Gráficos 1-12). Este resultado coincide con otro trabajo realizado por Lanzaco (2003) en el que la incidencia de *Pyricularia oryzae* era nula en semillas de distintas variedades cultivadas en el delta del Ebro.

Aunque la semilla analizada en los dos experimentos era de procedencia distinta (en el experimento 1 se utilizó semilla certificada y en el experimento 2 semilla producida por los mismos agricultores), la presencia de la mayoría de especies de hongos en las semillas y plántulas no tratadas ha sido similar en las dos campañas. En este sentido, los resultados muestran que la semilla no certificada utilizada en el experimento 2 era de buena calidad ya que no se ha diferenciado de la semilla certificada en cuanto a la presencia de patógenos. En cambio, Mathur *et al.* (2004), en su estudio realizado en Bangladesh, afirma que la semilla producida por los agricultores es de baja calidad.

El tratamiento fungicida de la semilla de arroz con el producto Vitavax Flow® ha disminuido la presencia de hongos ya que en los Gráficos 1-12 se observa que, en la mayoría de los casos, las semillas tratadas presentan una incidencia menor que las semillas no tratadas antes de la siembra. Este resultado coincide con los de Bagga y Sharma (2006) y Rebull y Saltor (2004) que observaron que el tratamiento de la semilla de arroz con Vitavax Flow® reduce los patógenos de la semilla.

Cuando ya se ha realizado la siembra, en condiciones de lámina continua de agua, la semilla tratada y la no tratada con fungicida presentan la misma incidencia de hongos en la mayoría de los casos (Gráficos 1-12). En el experimento 2 se observa que el porcentaje de semillas afectadas por hongos se iguala en T y

en NT porque disminuye la incidencia de semillas afectadas en NT cuando la semilla se encuentra en condiciones de inundación. Todo parece indicar que las condiciones en las que se encuentra la semilla en campo afectan al desarrollo de los hongos, patógenos o no, que presenta la semilla antes de la siembra. Esta tendencia no se observó en el experimento 1 aunque el nivel de afectación entre NT y T también se igualó. En trabajos realizados por Sah y Bonman (1991) ya se observó que la inundación del campo combinada con una baja densidad de siembra disminuía el nivel de pyriculariosis.

Respecto al porcentaje de germinación en condiciones controladas (tabla 1), la semilla no tratada (NT) presenta mayor germinación que la semilla tratada (T), presentando diferencias significativas en el experimento 2. Este resultado coincide con los obtenidos por Zambrano *et al.* (2006) que indican que las semillas de arroz tratadas con Carboxina/Tiram presentan una tasa de germinación inferior a las no tratadas.

La reducción en la germinación de las semillas tratadas se atribuye al posible efecto fitotóxico del producto fungicida, ya constatado en trabajos anteriores (Rebull y Saltor, 2009). Según estos autores, el efecto fitotóxico de Vitavax Flow sobre la capacidad germinativa de las semillas disminuye cuanto mayor es el período de almacenamiento.

La longitud de la parte aérea y radicular de las plántulas a los pocos días después de la siembra nos indica el desarrollo de las plantas durante la fase de nascencia o establecimiento del cultivo. En el presente trabajo no se han apreciado diferencias significativas en el desarrollo de la parte aérea entre NT y T (Tabla 1). En cambio, el desarrollo de la parte radicular ha sido mayor en las semillas no tratadas que en las semillas tratadas (Tabla 1). Teniendo en cuenta que las semillas presentaban una incidencia distinta de hongos antes de la siembra (siendo superior en NT), se puede afirmar que los hongos no han afectado al desarrollo de la parte aérea y radicular de las plántulas durante el establecimiento del cultivo. En cambio, el producto fungicida sí que ha tenido un efecto negativo sobre el desarrollo de las raíces que se atribuye, una vez más, a la fitotoxicidad del fungicida.

Finalmente, el número de plantas por metro cuadrado ha sido el mismo en NT que en T (Tabla 1), lo que nos indica que la presencia de hongos en la semilla antes de la siembra (la semilla NT presentaba niveles de hongos superior a la semilla T) no ha afectado a la densidad final de planta. Teniendo en cuenta que se sembraron 500 semillas/m^2 y que la densidad media de plantas en T ha sido de 204 plantas/m^2, se ha obtenido un establecimiento del 40%, el resto de semillas sembradas (60%) no ha llegado a planta. Las causas de la pérdida de plántulas en el ensayo no se pueden atribuir a la presencia de hongos en la semilla (ya que la semilla tratada (T) presentaba niveles cercanos a cero en la mayoría de los casos) ni al efecto de quironómidos (no hubo presencia de esta plaga durante la fase de establecimiento (datos no presentados)).

Tratamiento	% germinación		longitud de la parte aérea (mm)		longitud de la parte radicular (mm)		plantas/m^2	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
T	90,2	86,0b	28,5	58,7	39,9b	56,3b	191,3	217,3
NT	92,6	91,7a	38,4	68,8	50,5a	73,8a	241,3	234,4
N.S.	-	*1,26*	-	-	*3,72*	*2,69*	-	-

Tabla 1. Porcentaje de germinación en placa, longitud de la parte aérea y longitud de la parte radicular de las plántulas a los 13 días después de la siembra (dds) en el experimento 1 y a los 14 dds en el experimento 2. Densidad de plantas al estadío fenológico de 4 hojas verdaderas, estadío número 14 según codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo del arroz (Lancashire et al., 1991). Exp. 1: experimento 1 (2009), Exp. 2: experimento 2 (2010), T: semilla tratada con fungicida, NT: semilla sin tratamiento fungicida, N.S.: nivel de significación (%). Separación de medias según test de Duncan. Niveles de significación < 5% en el análisis ANOVA establecen diferencias significativas entre tratamientos.

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en los dos experimentos, en primer lugar se ha podido constatar que la incidencia de diferentes especies de hongos en la semilla es distinta. En este sentido, cabe destacar que los hongos que causan las enfermedades más importantes en el delta del Ebro (*Pyricularia grisea* y *Bipolaris oryzae*) (Galimany *et al.*, 2006), presentan incidencias muy bajas tanto en la semilla certificada como en la no certificada. En segundo lugar, se ha comprobado que el tratamiento fungicida de la semilla con el producto Vitavax Flow® reduce la presencia de hongos pero a su vez produce cierto efecto fitotóxico sobre la germinación de las semillas y el desarrollo de las raíces durante la fase de establecimiento del cultivo. El efecto del tratamiento de la semilla se pierde cuando ésta se encuentra en condiciones de inundación y la semilla tratada y la no tratada terminan presentando la misma incidencia de hongos (que en la mayoría de los casos es menor a la que presentaban antes de la siembra). Por lo tanto, según las condiciones que se han dado en el ensayo, la presencia de hongos en la semilla no ha tenido ningún efecto sobre el desarrollo de las plantas en la fase de nascencia y el establecimiento del cultivo. Sin embargo el establecimiento de planta obtenido ha sido del 40%, por lo que sería interesante continuar trabajando en esta línea. Finalmente, teniendo en cuenta el nivel de hongos que presentaban las semillas del ensayo, el tratamiento fungicida de la semilla de arroz no se ve justificado, aunque cabe recordar que en presencia de elevados niveles de hongos en la semilla de arroz se recomienda el tratamiento fungicida de ésta (Almacellas *et al.*, 2008).

Agradecimientos: Estudio financiado por la Agrupación de Defensa Vegetal del Arroz (ADV) y el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA).

BIBLIOGRAFÍA

Albertí, J. 2003. *El arroz. Principales enfermedades en España.* Terralia Nº 35 Pg. 62-69.

Almacellas, J., Carrasco, M., Galimany, G., Ibeas, M., Marín, J.P., Matamoros, E. y Tomàs, A. 2008. *Situació actual de les malalties en el delta del Ebre.* Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural de Catalunya. http://www.recercat.net/bitstream/2072/5343/7/Situaci%C3%B3+actual+malalties.pdf

Bagga, P. y Sharma, K. 2006. *Evaluation of fungicides as seedling treatment for controlling Bakanae/Foot-rot (*Fusarium moniliforme*) disease in Basmati rice.* Indian Phytopathology 59: 305-308.

Booth, C. 1977. Fusarium. *Laboratory guide to the identification of the major species.* C.A.B. Kew, Surrey, England.

Carreres, R. 2005. *Enfermedades del arroz, técnicas de cultivo y control químico.* Vida rural, septiembre 2005. Pg. 53-57.

Català, M.M., Tomàs, N., Martínez, M. y Pla, E. 2008. *Estudio de los factores que afectan a la germinación y nascencia en los arrozales del delta del Ebro. Resumen de dos campañas: 2006-2007.* Agrícola Vergel, junio 2008. Pg. 288-294.

Català, M.M., Tomàs, N., Martínez, M., Pla, E., Marín, J.P. y Almacellas, J. 2010. *Reacción a Pyricularia grisea de las variedades más importantes de arroz cultivadas en el delta del Ebro, durante el período 2000-2008.* PHYTOMA España. Nº 220, junio/julio 2010. Pg. 48-60.

Català, M.M, Tomàs, N., Garcia, F., Torró, I. y Pla, E. 2011. En prensa.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. C.A.B. Kew, Surrey, England.

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. C.A.B. Kew, Surrey, England.

Galimany, G; Matamoros, E.; Almacellas, J.; Marín, J.P; Català, M.M.; Tomàs, A.; Solanelles, F.; Gràcia, F. J.; Camp, F. y Llorach, T. 2006. *Estratègies per al control de les principals malalties de l'arròs.* Dossier Tècnic, Nous avenços en el cultiu de l'arròs. DAR-Generalitat de Catalunya, 12 : 6-12.

Lancashire, P.D., Bleiholder, H., Langelüddecke, P., Stauss, R., Van Der Boom, T., Weber, E. y Witzenberger, A. 1991. *An uniform decimal code for growth stages of crops and weeds.* Ann. Appl. Biol. 119, 562-601.

Lanzaco, O. 1993. *Estudi de l'estat sanitari de llavors certificades d'arròs (Oryza sativa) i la seva influència en la capacitat germinativa.* DARP, secció de llavors i planters. Lleida.

Mathur, S.B., Talukder, M.H., Veena, M.S. y Mortensen, C.N. 2004. *Effect of manual cleaning on health and germination of rice seeds.* Seed science and technology 32. Pg. 405-415.

Marín, J.P. 1987. *Influència de les tècniques de conreu i dels canvis varietals en la patología de l'arròs.* Sesiones Técnicas del Arroz. Publicada en extenso 5 pp. por la "Obra Agrícola de la CAIXA de PENSIONS"

MARM (Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino) 2011. http://www.mapa.es/es/agricultura/pags/fitos/registro/productos/datfor.asp?IdFormulado=139&plagEfecto=-1

Mew, T.W. y Misra, J.K. 1994. *A manual of rice seed health testing.* International Rice Research Institute (IRRI).

Rahman, A.J.M.M., Islam, M.K. y Mia, M.A.T. 2000. *Evaluation of cleaning methods to improve the quality of farmers' saved rice seed.* Bangladesh Journal of Plant Pathology 16 (1/2): 39-42.

Rebull, J. y Saltor, J. 2009. *Utilidad de la carboxina en el control de enfermedades fúngicas en la semilla de arroz.* Phytoma España. Núm. 212, 40-42.

Tiranelli, A. 1989. *El arroz.* Ediciones Mundi-Prensa.2ª ed., 1989.

Sah, D.N. y Bonman, J.M. 1991. *Effects of seedbed management on blast development in susceptible and partially resistant rice cultivars.* Journal Phytopathology 136, 73-81.

SAS Institute, 2009. *SAS/STAT® 9.2. Users´s Guide Release.* Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.

Thobunluepop, P. 2009. *The inhibitory effect of the various seed coating substances against rice seed borne fungi and their shelf-life during storage.* Pakistan Journal of Biological Sciences 12: 1102-1110.

Tripathi, S.K. y Jain A.K. 2005. *Seed mycoflora of rice and their influence on germination and seedling vigour.* JNKVV 39 (2): 116-118.

Von Arx, J.A. 1981. *The genera of fungi esporulating in pure cultura.* J.Cramer. Vaduz, Germany.

Wabale, H.S., Chauhan, H.L. y Reddy, P.G. 2010. *Seed borne fungi of rice (Oryza sativa L.) and their effect on seed germination.* Advances in plant sciences, june 2010. Vol 23. Pg. 85-86.

Zambrano, J., Lucca, O.A., Teichert, S., Costa, L.M., Fernandes, M. y D'Ávila, M. 2006. *Physiological and sanitary quality of rice seeds stored with differents seed moisture contents and fungicide treated.* Revista Brasileira de Sementes, vol. 28 nº 1, pg. 45-53.