

Verificación de resultados de tratamientos alternativos para el control de patógenos fúngicos y bacterianos asociados a la semilla del arroz (*oryza sativa*).

J. Salazar M.<sup>1</sup>

## Introducción

Los resultados obtenidos mediante la evaluación de diferentes fungicidas y bactericidas aplicados a semillas de arroz para siembra comercial, dejó importante información acerca de la buena eficacia biológica que tienen algunos bactericidas nuevos como el Starner 20 WP y el Bacsan 0.24 SL para el tratamiento de la semilla.

Al mismo tiempo se encontró que tanto los bactericidas como los fungicidas aplicados de forma individual en la semilla, tienden a ser tratamientos débiles por cuanto la semilla requiere una protección completa hacia hongos y bacterias.

Es claro indicar que los resultados encontrados en los estudios anteriores demuestran que los bactericidas Starner 20 WP, y Bacsan 0.24 SL representan un importante avance para disponer de alternativas nuevas para proteger la semilla de arroz.

Por otra parte; en estos estudios previos realizados con el apoyo de CONARROZ, se encontró una altísima afinidad entre los fungicidas a base de cobre y los bactericidas anteriormente indicados. Estos hallazgos permitieron obtener con relativa claridad diferentes mezclas de fungicidas + bactericidas de excelente eficacia para la protección de la semilla.

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar y verificar las mejores tratamientos de mezclas fungicidas - bactericidas para el tratamiento de la semilla de arroz. Asimismo se incluyeron los tratamientos individualizados de fungicidas y bactericidas para comprobar la necesidad de proteger la semilla de hongos y bacterias.

---

<sup>1</sup> Ing. Agrón. Fitopatólogo, Instituto de Investigación, INTA, Laboratorio Fitoprotección, Dirección Regional Chorotega. Liberia. Programa de apoyo a la investigación Regional.

## MATERIALES Y METODOS

Este estudio se realizó en el laboratorio en la Dirección Regional Chorotega, durante junio y julio del 2004.

Para el estudio se utilizó semilla comercial del c.v. CR1113 con 14.2 % de humedad de campo, una germinación media del 96.8 % y con 53.9 % de infección por bacterias.

### Análisis clínico para determinar la sanidad de la semilla.

Mediante la técnica de cámara húmeda saturada, se determinó la presencia de los principales hongos asociados a la semilla. Los hongos que se encontraron presentes en la muestra (identificados mediante pruebas en cámara húmeda saturada) predominantemente fueron *Helminthosporium*, *Curvularia sp*, *Rhizopus sp* y *Fusarium sp*. Con una frecuencia mucho menor aparecieron los géneros de *Rhizoctonia* y *Alternaria*.

### Prueba *in vitro* para determinar la incidencia de bacterias en la semilla.

Mediante el empleo de una placa plástica de 96 celdas limpia y (placas para prueba de Ellisa) desinfectada con alcohol 90% y flameo ligero, se colocaron 96 semillas de arroz en inmersión con 5 gotas de 0.05 ml de agua estéril durante por tiempo aproximado de un minuto. Este procedimiento se realizó con la finalidad de eliminar las bacterias de superficie contaminantes de la semilla. El procedimiento anterior se repitió nuevamente pero con la diferencia que la semilla se mantuvo en inmersión por un lapso de 5 horas.

Seguidamente y con la ayuda de pinzas estériles, se colocaron 25 semillas en platos de Petri con medio selectivo B de King al 3% PDA, modificado con colorante natural de uso domestico, rojo *allura*. Durante la siembra de las semillas dentro del plato, se evitó el contacto entre ellas realizando la desinfección constante de las pinzas durante este proceso de siembra.

Los tratamientos en mezcla aplicados a la semilla se resumen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Resumen de las diferentes mezclas de tratamientos seleccionados para el experimento. Laboratorio de Fitopatología, Ministerio de Agricultura, Dirección Regional Chorotega, Liberia, Junio, 2004

Tratamiento de semilla en seco	Dosis en g. P. C/Kg semilla c./Ha
1. Bacsan 24 SL	2.5ml
2. Bacsan 24 SL	5.0ml
3. Starner 20 WP	2.5 g
4. Starner 20 WP	4.0 g
5. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP	2.5 ml + 2.5g
6. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP	2.5 ml + 5.0g
7. Bacsan 24 SL+ Vitavax 40 WP	2.5 ml + 0.5 g
8. Starner 20 WP + Cobrethane 69 WP	2.5 g + 2.5 g
9. Starner 20 WP + Vitavax 40 WP	2.5 g + 0.5 g
10. Testigo absoluto	0.0

... Las dosis utilizadas para cada tratamiento están referidas a producto comercial en gramos p.c./Kg de semilla.

Para este estudio; al igual que en los anteriores se utilizó el método de tratamiento en seco. Para ello se tomaron 1000 g de semilla pura y homogenizada y se colocaron en una bolsa plástica. En un frasco de vidrio graduado se preparó una solución con la dosis del tratamiento químico por /Kg semilla, y se disolvió en 100 ml de agua destilada estéril. Esta solución se aplicó a la semilla y se mezcló mediante agitación manual. De forma similar que para los estudios anteriores, la semilla tratada se colocó sobre papel absorbente para aplicarle un secado rápido al ambiente durante 30 minutos. Para el tratamiento testigo absoluto, se aplicó 100 ml de agua estéril /Kg de semilla.

Los tratamientos se colocaron en un incubador a temperatura ambiente en un diseño irrestricto al azar con 10 tratamientos y 5 repeticiones. Cada repetición estuvo conformada por una cada Petri con medio B de King 3% agar y 25 semillas.

El efecto bactericida sobre el control de bacterias asociadas a la semilla, se estimó a las 24, 48 y 72 horas después de la incubación, colocando 5 repeticiones de 25 semillas de cada tratamiento en cajas de Petri con medio de B de King, 3 % agar.

### 3. Efecto de los tratamientos sobre el desarrollo del hipocótilo.

Esta prueba se realizó con la finalidad de determinar eventuales efectos de fitotoxicidad aparentemente encontrados en algunas de las mezclas evaluadas. Mediante la técnica de cámara húmeda saturada, se colocaron 100 semillas de cada tratamiento en bandejas plásticas de 15 cm x 30 cm y 10 cm de alto. A los 5 días después de la incubación a temperatura ambiente (26 - 32°C), se estimó la longitud del hipocótilo medida en mm. Para la estimación de esta variable se tomaron 10 semillas por repetición y se midió con una regla milimétrica la longitud del hipocótilo.

Debido a que la germinación se evaluó en estudios anteriores, esta variable no se consideró dentro de los objetivos de este estudio.

Los datos de longitud de la radícula se analizaron mediante regresión la prueba de comparación de media de Tukey ( $\alpha$ : 0.05)

## Resultados y discusión

En general; los resultados encontrados en este estudio de verificación de tratamientos, confirman el buen accionar que mostraron los mejores tratamientos seleccionados en los estudios previos realizados con la colaboración de la Corporación Arrocera Nacional, CONARROZ. Este experimento que es una continuación de las investigaciones anteriores, se estableció fundamentalmente porque algunos tratamientos de las mejores mezclas estudiadas presentaron leves síntomas de fitotoxicidad sobre el desarrollo normal del hipocótilo. Entre ellas la mezcla de Starner 20 WP (3.0 g) + Vitavax 40 WP, (1.0g), generó un retraso visible en el desarrollo del hipocótilo.

### 1. Pruebas preliminares para evaluar la sanidad y germinación de la semilla utilizada.

Los resultados de laboratorio determinaron la predominancia del género *Pseudomonas sp*, y de *Erwinia sp* sobre la semilla evaluada. La prueba de incidencia de bacterias establecida en platos Petri registró valores promedios en la semilla que oscilaron en un 53.9 % aproximadamente. En cuanto a la contaminación por hongos; los géneros encontrados aparecen descritos en el inicio del apartado de materiales y métodos.

### 2. Efecto de los diferentes tratamientos evaluados sobre el control de bacterias asociadas a la semilla del arroz.

Como se observa en el cuadro 2, todos los tratamientos en mezcla evaluados; lo mismo que los tratamientos individuales, ejercieron una inhibición casi completa del crecimiento de bacterias en el medio *in vitro*.

No obstante lo anterior; después de las 48 horas se observó un altísimo desarrollo de hongos sobre los platos Petri similares a los encontrados en el tratamiento testigo, en todos aquellos tratamientos bactericidas evaluados solos. Este acentuado contraste entre la alta eficacia sobre el desarrollo de bacterias y el nulo o muy pobre efecto fungicida; tanto del Starner 20 WP como del Bacsan 0.24 SL aplicados solos, demuestran claramente que estos

productos químicos deberán ser mezclados con un fungicida para obtener mejores respuestas de control y protección de la semilla de arroz tratada.

Cuadro 2. Efecto de diferentes mezclas de fungicida-bactericida aplicados bajo el método de tratamiento en seco sobre el control de patógenos asociados a la semilla de arroz en condiciones *in vitro*. Laboratorio de Fitopatología, Ministerio de Agricultura, Dirección Regional Chorotega, Liberia, Junio, 2004

Tratamiento de semilla en seco	Número promedio de <i>u.f.c.</i> por plato Petri		
	Tiempo de incubación en horas		
	24	48	72
1. Bacsan 24 SL, 2.5 ml/Kg semilla	0.71	0.71	0.71
2. Bacsan 24 SL 5.0 ml/Kg semilla	0.71	0.71	0.71
3. Starner 20 WP 2.5 g ml/Kg semilla	0.71	0.71	1.22
4. Starner 20 WP, 4.0 g semilla	0.71	0.71	0.71
5. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP (2.5 ml + 2.5g)	0.71	0.71	0.71
6. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP(2.5 ml + 5.0g)	0.71	0.71	0.71
7. Bacsan 24 SL+ Vitavax 40 WP(2.5 ml + 0.5g)	0.71	0.71	0.71
8. Starner 20 WP +Cobrethane 69 WP(2.5 g + 2.5g)	0.71	0.71	0.71
9. Starner 20 WP + Vitavax 40 WP(2.5 gl + 0.5g)	0.71	0.71	1.22
10. Testigo absoluto */	6.41	18.73	57.92

\*/ Las principales bacterias encontradas en el testigo correspondieron a los géneros de *Pseudomonas sp* y *Ewinia sp*.

De acuerdo con los resultados anteriores, eventualmente podría recomendarse el empleo de estos tratamientos de forma individual, (Bacsan 0.24 SL y Starner 20 WP) a las dosis evaluadas, cuando lo que se pretende es el control de bacterias asociadas a la semilla. Esto es posible si se cuenta con semilla de buena calidad donde los problemas de hongos tienden a ser menores .

Sin embargo; cuando se tiene semilla de baja calidad, especialmente porque presenta mezclas de cultivares, impurezas, y semillas de malezas vectores de enfermedades, necesariamente la semilla deberá recibir un tratamiento completo para la protección de hongos y bacterias.

En este sentido cabe resaltar el gran poder de protección que mostraron los tratamientos con Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP (2.5 ml + 2.5g) y Starner 20 WP+ Cobrethane 69 WP (2.5 g + 2.5g) sobre los hongos y bacterias presentes en la semilla.

Los resultados encontrados en este estudio de verificación confirman claramente que ambos tratamientos pueden usarse para lograr una mejor protección de la semilla y en consecuencia un desarrollo mas sano y mas vigoroso de las plántulas de arroz.

### 3. Efecto de los diferentes mezclas evaluadas sobre el desarrollo del hipocótilo de la semilla del arroz

En el cuadro 2 puede observarse que los tratamientos Bacsan 0.24 SL+ Cobrethane 69 WP (2.5 ml + 2.5g), Starner 20 WP+ Cobrethane 69 WP (2.5 g + 2.5g) y Starner 20 WP+ Vitavax 40 (2.5 g + 0.5g) generaron un significativo efecto sobre el desarrollo del hipocótilo en relación al tratamiento testigo sin tratamiento. Para comprender este significativo incremento del desarrollo del hipocótilo en las semillas tratadas con las mezclas arriba indicadas, podría pensarse que como consecuencia de un proceso de germinación mas sano y normal, las semillas alcanzan mas rápidamente cada una de las etapas que conforman el proceso de germinación. Evidentemente; se demuestra que estas mezclas parecen acelerar el desarrollo de las plántulas, lo cual le permite a éstas desarrollarse con una mejor sanidad y defenderse mejor de los patógenos presente en la semilla y el suelo.

Cuadro 3. Efecto de diferentes mezclas de fungicida-bactericida aplicados bajo el método de tratamiento en seco sobre el desarrollo del hipocótilo de la semilla de arroz en condiciones *in vitro*. Laboratorio de Fitopatología, Ministerio de Agricultura, Dirección Regional Chorotega, Liberia, Junio, 2004

Longitud del hipocótilo en mm a los 5 días de la incubación*/	
Tratamiento de semilla en seco	Hipocótilo en mm
1. Bacsan 24 SL, 2.5 ml/Kg semilla	31.5
2. Bacsan 24 SL 5.0 ml/Kg semilla	26.8
3. Starner 20 WP 2.5 g ml/Kg semilla	31.5
4. Starner 20 WP, 4.0 g semilla	30.3
5. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP (2.5 ml + 2.5g)	39.8
6. Bacsan 24 SL+ Cobrethane 69 WP(2.5 ml + 5.0g)	29.5
7. Bacsan 24 SL+ Vitavax 40 WP(2.5 ml + 0.5g)	30.5
8. Starner 20 WP + Cobrethane 69 WP(2.5 g + 2.5g)	29.5
9. Starner 20 WP + Vitavax 40 WP(2.5 gl + 0.5g)	27.8
10. Testigo absoluto */	21.8

\*/ Las principales bacterias encontradas en el testigo correspondieron a los géneros de *Pseudomonas sp* y *Ewinia sp*.

En el cuadro 3 y la figura 1 puede observarse que en general todos los tratamientos ejercieron un buen efecto sobre el desarrollo del hipocótilo a lo 5 días de edad. No obstante; es evidente el efecto positivo que mostraron repetidamente estas mezclas de tratamientos sobre el desarrollo del hipocótilo y de la germinación en general.

Como se indicó en los estudios anteriores estas dos mezclas de Bacsan 0.24 SL (2.5 ml) + Cobrethane 69 WP (2.5g) y Starner 20 WP (2.5g) + Cobrethane 69 WP (2.5g), así como el Cobrethane 69 WP (2.5g) + Vitavax 40 WP,(0.5g), parecen consolidarse como buenos tratamientos alternativos para ser usados comercialmente en la semilla de arroz, por la excelente protección que realizan sobre la semilla.

En este estudio se demostró que dosis de Vitavax 40 WP mayores a 1.0g/kg semilla pueden ocasionar retrasos significativos en el desarrollo del hipocótilo; y este retraso parece incrementarse visiblemente si el método de tratamiento en seco de la semilla se sustituye por el de inmersión en agua por 18 – a 24 horas. Cuando se redujo la dosis de Vitavax 40 WP (0.5g/kg) en el tratamiento citado anteriormente, el desarrollo del hipocótilo alcanzó valores similares al testigo absoluto.

Tomando en cuenta que la semilla de arroz que se distribuye en Costa Rica, es de calidad variable según las condiciones de manejo que ha recibido; ahora mas que antes se requiere protegerla de los patógenos que se asocian a ella. En todo caso; será necesario establecer los mecanismos para que el costo económico que representa esta práctica sea aceptable para una rápida adopción de la misma.

Los resultados revelan claramente que las tres mezclas mencionadas (*Bacsan 0.24 SL 2.5 ml+ Cobrethane 69 WP 2.5g, Starner 20 WP 2.5g + Cobrethane 69 WP 2.5g, así como el Cobrethane 69 WP 2.5g +Vitavax 40 WP 0.5g*) son excelentes tratamientos disponibles para ser usados comercialmente en la semilla de arroz como tratamientos previos a la siembra.

Figura 1.

## Conclusiones y recomendaciones finales.

1. De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio de verificación, puede concluirse que las mezclas de Bacsan 0.24 SL (2.5 ml) + Cobrethane 69 WP (2.5g) y Starner 20 WP (2.5g) + Cobrethane 69 WP (2.5g) se constituyen en buenas alternativas para ser usadas en el cultivo del arroz como tratamientos previos de la semilla
2. Asimismo el Cobrethane 69 WP (2.5g) + Vitavax 40 WP,(0.5g), es otra excelente alternativa; sin embargo deberá tenerse el equipo adecuado para la dosificación exacta del tratamiento sobre la semilla para evitar trastornos en el desarrollo normal de la germinación.
3. Estos resultados quedan disponibles para que las organizaciones involucradas en el sector puedan implementar estas herramientas a la producción del cultivo; especialmente ahora cuando el cultivo atraviesa serias amenazas de plagas y enfermedades capaces de diseminarse a través de la semilla.