

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

EVALUACIÓN DEL USO DE LAS FORMULACIONES BIOLÓGICAS Nano-Xtinger 10 GW ®, Nano-Steel 10 GW ®, Y Nano-Mix 10 ®GW PARA EL CONTROL DE “*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*Sacc Von Arx& Oliver”, EN EL CULTIVO DE ARROZ, *Oryza sativa* L., VARIEDAD UP 80 FL

MANUEL QUINTERO MENDOZA

CÉDULA: 8-910-2238

DAVID, CHIRIQUÍ

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2019

EVALUACIÓN EL USO DE LAS FORMULACIONES BIOLÓGICAS Nano-Xtinger 10 GW®, Nano-Steel 10 GW®, Y Nano-Mix 10 GW® PARA EL CONTROL DE “*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* Sacc, EN EL CULTIVO DE ARROZ, *Oryza sativa* L., VARIEDAD UP 80 FL

TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO EN CULTIVOS TROPICALES

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DEBE SER OBTENIDA EN LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

APROBADO:

Ing. Zyddi S. Vissuetti S. MSc. _____

DIRECTOR

Ing. Juan M. Osorio R. PhD _____

ASESOR

Ing. Jose C. Ureta R. MSc. _____

ASESOR

DAVID, CHIRIQUÍ

REPUBLICA DE PANAMÁ

2019

AGRADECIMIENTOS

Agradeciendo a Dios porque este trabajo de tesis ha sido una gran bendición en todo sentido, por brindarme salud, fortaleza y capacidad y es gracias a el que puedo cumplir una meta más en mi vida.

Gracias a Dios por la vida de mi madre **Yaquelin Mendoza**, porque cada día me bendice con la oportunidad de disfrutar y estar a su lado porque sé que me ama y yo la amo. Gracias a mi madre por su infinito amor, por ser la promotora de mis sueños, por confiar y creer en mí, por sus consejos y por ser guía y fuente de inspiración en mi vida.

Agradezco a mi director de tesis, el **Ing Zyddi Vissuetti M.S.c** quien con sus conocimientos académicos, experiencia y profesionalismo estuvo supervisando cada paso de este proyecto.

Agradecimiento a los docentes de la carrera de Ingeniería en Cultivos Tropicales, quienes con su sabiduría, conocimiento y apoyo motivaron mi desarrollo como persona y profesional en esta Facultad; especialmente al **Dr. Juan Miguel Osorio** y al **Ing. José Carlos Ureta M.S.c.** Por todos sus aportes en este trabajo de investigación.

Así mismo, deseo expresarme reconocimiento a la Licenciada **Margoth Fuentes** por su apoyo y colaboración en esta investigación.

Finalmente quiero agradecer a mi familia por el apoyo brindado, a mis amigos y compañeros quienes se convierten en mis colegas que siempre me apoyaron: Ángel Baria, Edricks Hernández, Dorian's Polanco, Dionel Acevedo, Joan Pinto, Keytel Aguirre, Carlos Saira, Erik Herrera, Ariel Matheus, Javier Carneiro, Joice Maraña, David Rodríguez, Alejandro Aparicio y familia, Abdiel Chavarria, Madeline Fong, Mileidis Tenorio. Gracias por siempre apoyarme en las actividades correspondientes a mi tesis y por brindarme su amistad.

Manuel Quintero Mendoza

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a Dios por ser el inspiración y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mi madre, **Yaquelin Mendoza**, ya que desde que nací no ha dejado de velar por mi bienestar y ha luchado contra viento y marea para que yo me convierta en un profesional. También quiero dedicar este gran triunfo a mi hermano **Luis Enrique Mendoza** que está en el cielo cuidándonos desde allá, a mis hermanos **Elvis Mendoza y Jean Pholl Quintero Mendoza** que siempre estuvieron presente en cada uno de mis pasos para llegar a cumplir mi objetivo y también extender este logro a mi abuelo **Felipe Mendoza**, que ha sido mi figura paternal, mi ejemplo, mi orgullo, el ser que más adoro en la vida y mi abuela Juana Ojo que siempre estuvo pendiente de mi mientras estuve lejos de mi tierra.

Quiero dedicar este logro a la **Lic. Mery Raquel Jurado**, mi segunda madre y consejera, que siempre me apoyo y ayudo en mis estudios y también me abrió las puertas de su hogar regalándome su linda amistad

También quiero dedicarle este logro a una persona muy especial para mí, **Angela Ceballos**, que me ha apoyado con su cariño y palabras de aliento para culminar este trabajo de graduación.

Manuel Quintero Mendoza

EVALUACION DEL USO DE LAS FORMULACIONES BIOLÓGICAS Nano-Xtinger®10 GW, Nano-Steel® 10 GW, y Nano-Mix® 10 GW PARA EL CONTROL DE “*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* Sacc, EN EL CULTIVO DE ARROZ, *Oryza Sativa* L., VARIEDAD UP 80 FL”

Quintero Manuel M. 2019. Evaluación del uso de las formulaciones biológicas Nano-Xtinger 10 GW®, Nano-Steel 10 GW®, y Nano-Mix 10 GW® para el control de “*Gaeumannomyces graminis* var. *Graminis* Sacc, EN EL CULTIVO DE ARROZ, *Oryza Sativa* L., VARIEDAD UP 80 FL. Tesis. Ingeniería Agronómica en Cultivos Tropicales. Chiriquí. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Panamá.

Resumen

Este ensayo se realizó en los terrenos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en la parcela N°3. El ensayo se realizó en condiciones de secano favoreciendo utilizando la variedad UP 80 FL.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), para evaluar 5 tratamientos con 3 repeticiones. Los datos obtenidos fueron procesados con el programa SAS CA, 2008.

Esta investigación se enfocó en la evaluación de la eficacia de diferentes formulaciones biológicas, para el control de *Gaeumannomyces graminis* var. *Graminis* Sacc, agente causal de mal de pie en arroz.

Los nombres de los productos comerciales y sus ingredientes activos fueron: Nano – Xtinger®10 GW (*Trichoderma asperellum* y *T. viride*), Nano - Steel 10 GW ® (*Paecilomyces lilacinum*), Nano - Mix 10 GW ® (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*).

Los tratamientos fueron:(**T1**), (**T2**) Nano – Xtinger® 10 GW+Nano – Steel® 10 GW+ Nano – Mix® 10 GW, (**T3**) Nano-Xtinger® 10 GW+ Nano- Steel, (**T4**) Nano – Xtinger® 10 GW+ Nano – Mix® 10 GW y(**T5**) Nano – Xtinger® 10 GW.

El tratamiento N° 4(Nano-Xtinger 10 GW ® + Nano-Mix 10 GW ®) presento la incidencia más baja de 15.33% y también la severidad más baja de 9.9%.

El tratamiento que presento mayor rendimiento fue el (**T4**) que tiene los siguientes ingredientes activos) Nano-Xtinger 10 GW ® (*Trichoderma asperellum* y *T. viride*) + Nano-Mix 10 GW (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*).

Palabras claves: *Gaeumannomyces graminis*, *Oryza sativa*, ingrediente activo biológicos, gel en agua (GW), evaluación, incidencia, severidad, antagonista, entomopatógeno, *Trichoderma* y *T. viride*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinum*.

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL FORMULATIONS Nano- Xtinger ® 10 GW, Nano-Steel ® 10 GW , and Nano-Mix ® 10 GW FOR THE CONTROL OF “Gaeumannomyces graminis var. graminis Sacc, IN RICE CULTIVATION, Oryza Sativa L., VARIETY UP 80 FL”

Quintero Manuel M. 2019. Evaluation of the Biological Formulations Nano-Xtinger 10 GW ®, Nano-Steel 10 GW ®, and Nano-Mix 10 GW ® FOR THE CONTROL OF “Gaeumannomyces graminis var. graminis Sacc, IN RICE CULTIVATION, Oryza Sativa L., VARIETY UP 80 FL”. Thesis. Agricultural Engineering in Tropical Crops. Chiriqui. Faculty of Agricultural Sciences. University of Panama.

Summary.

This test was carried out on the grounds of the Faculty of Agricultural Sciences, plot N°3. The test was carried out under favoured rainfed conditions using the variety UP 80 FL.

A Complete Randomized Block Design (CRBD) was used to evaluate 5 treatments with 3 repetitions. The data obtained was processed with the SAS CA program, 2008.

This research focused on assessing the effectiveness of different biological formulations, for the control of Gaeumannomyces graminis var. graminis Sacc, a causal agent of “Take-all” in rice.

The names of the commercial products and their active ingredients are, Nano - Xtinger 10 GW ® (Trichoderma asperellum and T. viride), Nano - Steel 10 GW ® (Paecilomyces lilacinum), Nano - Mix 10 GW ® (Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae).

The treatments was: (T1), (T2) Nano - Xtinger 10 GW ® + Nano - Steel 10 GW ® + Nano - Mix 10 GW ®, (T3) Nano-Xtinger 10 GW ® + Nano - Steel, (T4) Nano - Xtinger 10 GW ® + Nano - Mix 10 GW ® and (T5) Nano - Xtinger 10 GW ®.

Treatment N°4 (Nano-Xtinger 10 GW ® + Nano - Mix 10 GW ®) has the lowest incidence of 15.33% and also the lowest severity of 9.9%.

The treatment that presented the highest yield was the (T4) (which has the following active ingredients) Nano-Xtinger 10 GW ® (Trichoderma asperellum and T. viride) + Nano-Mix 10 GW (Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae).

Keywords: Gaeumannomyces graminis, Oryza sativa, biological active ingredient, water gel (GW), assessment, incidence, severity, antagonist, entomopathogen, Trichoderma and T. viride, Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Paecilomyces lilacinum.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	lii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	Vi
ABSTRACT.....	Viii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	x
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Antecedentes.....	3
1.3. Justificación.....	5
1.4. Objetivos.....	6
1.4.1. Objetivo general.....	6
1.4.2. Objetivo específico.....	6
1.5. Hipótesis.....	6
1.6. Alcances y limitaciones.....	7
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
2.1. Características del cultivar UP 80 FL.....	8
2.2. Taxonomía y morfología de <i>Gaeumannomyces graminis</i> Sacc.....	9
2.3. Escala de severidad (Ospina, 2008).....	11
2.4. Microorganismos benéficos utilizados para la investigación.....	12
2.4.1. Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma asperellum</i>	12

2.4.2.	Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma viride</i>	13
2.4.3.	Clasificación taxonómica de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	14
2.4.4.	Clasificación taxonómica de <i>Beuveria Bassiana</i>	16
2.4.6.	Clasificación taxonómica de <i>Metarhizium anisopliae</i>	17
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1.	Ubicación geográfica	18
3.2.	Cultivar que se utilizó.....	18
3.3.	Actividades realizadas en campo.....	18
3.3.1.	Preparación del suelo.....	18
3.3.2.	Marcado del terreno.....	19
3.3.3.	Siembra.....	20
3.3.4.	Inoculación.....	22
3.3.5.	Fertilización.....	23
3.3.6.	Control de malezas.....	23
3.3.7.	Control de insectos y enfermedades.....	25
3.3.8.	Evaluaciones en el campo y el laboratorio.....	27
3.4.	Cosecha.....	33
3.5.	Rendimiento.....	35
3.6.	Prueba de patología de los granos.....	35
3.7.	Diluciones de suelo para determinar crecimiento de <i>Trichoderma spp</i>	37
3.8.	Diseño experimental.....	38
3.8.1.	Análisis estadístico.....	40

3.9.	Variables evaluadas.....	41
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.	Prueba de germinación.....	43
4.1.	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	43
4.2.	ANÁLISIS DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD.....	46
4.3.	RENDIMIENTO.....	47
V.	CONCLUSIONES.....	48
VI.	RECOMENDACIONES.....	49
4.	BIBLIOGRAFÍA.....	50
5.	ANEXO.....	54

ÍNDICE DE CUADRADOS

Nº	Pág
I. DENSIDAD DE SIEMBRA.....	21
II. FERTILIZACIÓN DEL ENSAYO.....	23
III. PRODUCTOS UTILIZADOS PARA EL CONTRO DE MALEZAS.....	24
IV. TRATAMIENTOS UTILIZADOS.....	39
V. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	43
VI. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS VARIABLES QUE MOSTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	45
VII. RESULTADOS DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD.....	46
VIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA RENDIMIENTO.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

No		Pág
1	Marcación del terreno.....	19
2	Marcado de los surcos.....	20
3	Siembra de las unidades experimentales.....	21
4	Inóculo; planta con signos de <i>G. graminis</i>	22
5	inóculo en PDA.....	22
6	Inoculación del campo.....	22
7	Aplicación de herbicidas pos- emergente.....	24
8	Limpieza mecánica.....	25
9	Limpieza manual con azada.....	25
10	Planta afectada por el <i>Gaeumannomyces graminis</i>	26
11	Presencia de micelio con hifopodios	26
12	Ascosporas.....	26
13	<i>Pyricularia grisea</i>	27
14	<i>Ustilaginoidea virens</i>	27
15	<i>Rupella albinella</i>	27
16	Extracción de plantas completas para las evaluaciones.....	28
17	Tratamientos y repeticiones.....	28

18	Observaciones del sistema vascular de las plantas.....	28
19	Plantas de T1 con signos de <i>G.graminis</i>	28
20	Presencia de peritecios.....	28
21	Inoculación en PDA con el tejido afectado extraído del T1.....	28
22	Planta afectada categorizada en el valor IV de la escala.....	29
23	Planta con pudrición basal afectando el sistema vascular.....	29
24	Micelio oscuro y presencia de hifopodios	29
25	Medición de longitud de follaje y raíces.....	30
26	Pesado de follaje.....	31
27	Pesado de raíces.....	31
28	Rotulado de las bolsas con el material vegetal.....	31
29	Pesado de follaje y raíces ya como materia seca.....	31
30	Extracción de nematodos con el método de tamizada, centrifugado y flotación en azúcar.....	32
31	Fitonematodo <i>Criconemoides spp</i>	32
32	Fitonematodo <i>Helicotilenchus spp</i>	32
33	Fitonematodo <i>Praylenchus spp</i>	32
34	Cultivo con la madurez óptima para su cosecha.....	33
35	Cosecha del arroz.....	34
36	Arroz cosechado.....	34

37	Se colocó el arroz por tratamientos y repeticiones en sacos rotulados.....	34
38	Desgranado y limpieza del arroz.....	35
39	Los 5 tratamientos con sus tres repeticiones ya desgranados.....	35
40	Desinfestado de los granos con alcohol al 70%.....	36
41	Inoculación de los granos dentro del plato Petri.....	36
42	Patógeno <i>Fusarium spp</i> encontrado en la patología de granos..	36
43	Patógeno <i>Rhizoctonia solani</i> encontrado en la patología de granos.....	36
44	Disolución del suelo en agua destilada.....	37
45	Rayado en PDA.....	37
46	<i>Trichoderma spp</i> creciendo en PDA resultado de la dilución del suelo.....	38
47	Observación al microscopio de los conidióforos y las conidias de color verde.....	38
48	Diagrama de la distribución al azar de cada tratamiento.....	40

INDICE DE ANEXOS

Nº	Pág.
1. Descripción de los productos biológicos y sus dosis.....	54
2. Cronograma de actividades.....	55
3. Observación del ensayo a los 15 días de germinado.....	56
4. Ensayo con 23 días de germinado.....	56
5. Coordenadas del ensayo con el GPS.....	57
6. Etapa de floración del arroz.....	57
7. Aplicación de Microorganismos Eficientes (ME).....	58

I. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa L.*) es una planta monoica y anual, de crecimiento rápido y con gran capacidad reproductiva, adaptada a diversas condiciones. Además de ser un cultivo que se desarrolla en forma óptima bajo terrenos inundados, está entre los cuatro cereales más cultivados en el mundo, ya que de este cultivo se alimentan cerca de tres mil millones de personas, y actualmente es cultivado en 113 países; además de su importancia como alimento, el arroz proporciona empleo a una gran parte de la población rural del mundo (Somarriba, 1998).

El arroz es el segundo cereal más producido en el mundo, tras el maíz. Debido a que el maíz es producido con muchos otros muchos propósitos aparte del consumo humano, se puede decir que el arroz es el cereal más importante en la alimentación humana y que contribuye de forma muy efectiva al aporte calórico de la dieta humana actual; es fuente de una quinta parte de las calorías consumidas en el mundo.

En América Latina y el Caribe, se cultivaron 6.7 millones de hectáreas, con una producción total de 26.4 millones de toneladas, siendo los principales países productores: Brasil con 49,7% de la producción, seguido por Colombia (9,8%), Perú (9,3%), Argentina (3,9%) y Venezuela (3,6%)” (FAO, 2006).

En el año de 1994, en el campo experimental del Centro de Investigaciones Agropecuarias Portuguesa (CIAEP), en pruebas de rendimiento de líneas de arroz (*Oryza sativa* L.), conducida por el Departamento de Mejoramiento Genético de dicho centro, se observó la presencia alarmante de una enfermedad que ocasiono el acame de plantas.

Entre los patógenos capaces de causar el acame de las plantas de arroz se encuentra el hongo *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*(Sacc.) Arx & Oliver, habitante del suelo, parasito de raíces, la base del tallo y la hoja envainadora de las gramíneas. Se conocen tres variedades de *G. graminis*, diferenciadas por la longitud de las ascosporas y del tipo de hifopodio (Walker, 1980).

Pudrición negra del pie de arroz *Gaeumannomyces graminis*var. *graminis* es una enfermedad que es de interés económico en nuestro país desde el año 2017. Esta enfermedad puede afectar al productor de manera económica ya que si no se le da un buen manejo puede afectar gran parte del cultivo y reducir la producción.El hongosobrevive en residuos de plantas infectadas y se disemina principalmente por suelo infectado a través de la maquinaria, también en suelos con deficiencias nutricionales.

1.1 Planteamiento del problema

Panamá es uno de los países de América Latina en donde se consume la mayor cantidad de arroz *per-cápita*. En Panamá actualmente no se satisface la demanda de este importante grano, ya sea por los altos costos de producción, importaciones no controladas y la aparición de plagas y enfermedades que hacen cada vez más difícil el manejo del cultivo ya que por el uso indiscriminado de los plaguicidas las hacen resistentes y afectan las propiedades físicas y biológicas de los suelos. El problema parte de la necesidad de una investigación en el nuevo cultivar de arroz UP-80 FL, en cuanto a un fitopatógeno fúngico llamado *Gaeumannomyces graminis* agente causal de Mal de pie en los siguientes cultivos: (Arroz, avena, cebada, centeno, trigo) y se puede tener como hospedero un alto rango de plantas de la familia (Poaceae) lo que hace difícil su manejo. Este hongo ha venido tomando importancia en nuestro país en el cultivo de arroz, lo que lo hace motivo de investigación en esta nueva variedad utilizando productos biológicos (Antagonistas).

1.2 Antecedentes

La aparición de síntomas en Colombia de la enfermedad conocida como mal de pie, se registró en el año 2008 (Ospina e Higuera, 2008). Desde entonces, la incidencia y severidad han aumentado en el país, dispersándose especialmente en los departamentos del Tolima, Huila, Valle del Cauca y Llanos Orientales. En la Costa Norte existen pocos reportes y al parecer la sintomatología es menos

severa que en el resto de las regiones arroceras, por condiciones que aún se encuentran en proceso de investigación.

La enfermedad ha sido reportada en Estados Unidos, Japón, Colombia, Filipinas e India, etc. Aunque la ocurrencia de “Mal del pie”, cuyo agente causal es el hongo *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, se ha reportado desde 1944, en el trigo (Datnoff et al, 1997).

En Estados Unidos se estudió que esta enfermedad estaba asociada a suelos con pH de 5,5 ó más asociados con el exceso de lluvias durante varios años, estos factores fueron identificados como los que favorecen la alta incidencia del “Mal del pie” (Prestes, 1972).

En el año 2004, se reportó la presencia de este hongo *Gaeumannomyces graminis* en diferentes malezas del grupo de las Poaceae como: *Leptochloa* sp, *Cynodon* sp, *Chloris* sp, *Pennisetum* sp, *Stenotaphrum* sp, *Triticum* sp y *Axonopus* sp, las cuales pueden constituirse como hospederos alternativos de este patógeno en el cultivo de arroz.

De la misma manera, se ha determinado que este hongo sobrevive en residuos de cosecha y puede ser diseminado por el agua y el viento. (Ospina, 2009)

Gaeumannomyces graminis requieren entre 15 °C y 35 °C de temperatura. Estas condiciones permiten que estos patógenos se encuentren en diferentes países como Colombia, Argentina, Brasil, Venezuela, Estados Unidos, Japón, Pakistán, Panamá, Nicaragua y Ecuador (Garrido, 2009).

1.3 Justificación

En Panamá, el consumo anual de arroz supera los 7,000,000 millones de quintales en cáscara, limpio y seco, manifestó Moisés Batista, director Nacional de Agricultura del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA), es decir, uno de los más altos del mundo. Mensualmente, se usan en el país para comer 626 mil quintales y diariamente se sitúa entre 1/2 y 1/4 de libra por persona, señaló Batista (FLAR 2016).

Después de ver el grado de importancia del patógeno *Gaeumannomyces graminis* decidimos implementar un estudio del mismo, utilizando algunos productos biológicos para su control. Actualmente en Panamá no se conoce aún de la existencia de trabajos de investigación que hayan utilizado productos de carácter biológico para el control del fitopatógeno *Gaeumannomyces graminis*, siendo esta una gran oportunidad para el desarrollo de esta investigación. Hay que tener en cuenta el impacto que representa la utilización de formulaciones biológicas en el cultivo de arroz, ya que se puede reducir las aplicaciones de pesticidas significativamente.

Gaeumannomyces graminis es un problema en el cultivo de arroz ya que baja los rendimientos y puede afectar en todo el ciclo del cultivo. La importancia de esta investigación es determinar su control con ingredientes activos biológicos, en forma preventiva y así proteger el medio ambiente, disminuyendo el uso de fórmulas sintéticas.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Evaluar el control biológico de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L) variedad UP 80 FL.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la incidencia y severidad del hongo *Gaeumannomyces graminis* bajo el control de productos biológicos.
- Determinar qué tratamiento con formulaciones biológicas se obtuvo mayor rendimiento al momento de la cosecha.

1.5 Hipótesis

- *H₀*: Las formulaciones biológicas no presentan diferencias significativas en el control de *Gaeumannomyces graminis* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L).
- *H_a*: Al menos una formulación biológica muestra diferencia significativa en el control de *Gaeumannomyces graminis* en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L).

1.6 Alcances y Limitaciones

➤ Alcances.

Con el presente estudio se pretende brindarles una respuesta diferente a los productores de arroz, y al sector agrícola en general. Este trabajo se realizó con la utilización de productos biológicos para el control de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, con el fin de brindar conocimiento a futuras generaciones sobre una agricultura más sana.

Este trabajo será una herramienta para nuevas investigaciones, ya que la producción orgánica cada vez toma más auge a nivel mundial y la aplicación de los productos biológicos, representando una excelente alternativa para un manejo fitosanitario.

➤ Limitaciones.

Actualmente en Panamá no existen muchas investigaciones con respecto al control biológico de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*.

La variedad que se utilizó fue UP-80 FL. Esta variedad es recomendada para un sistema de cultivo bajo riego, mientras que el sistema que se utilizó fue de secano favorecido.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Características del cultivar UP 80 FL.

Es de ciclo vegetativo intermedio, entre 112 y 119 días a cosecha. Se le observa un buen vigor inicial, con altura intermedia, entre 111 y 117 cm. Tiene tallo fuerte y flexible, lo que le da la resistencia moderada al acame, con un macollamiento entre 6 a 19 hijos por planta.

La panícula es intermedia, con una longitud entre 19 a 28 cm, con un desgranado predominantemente difícil. La inserción de la panícula va moderadamente emergida a parcialmente incluida.

El grano en cascara se presenta sin arista o arista corta (1 a 5 mm), su longitud está entre los 8 a 10 mm, con un ancho de 3 mm.

Hoy día la variedad UP 80 FL, es tolerante a las principales enfermedades del arroz de importancia en el país, como la *Pyricularia grisea*, a *Bipolaris oryzae*, al añublo de la vaina *Sarocladium oryzae*, es moderadamente tolerante al complejo de manchado de grano. Presenta tolerancia a los daños por ataques de ácaros y bacterias.

Esta variedad ha demostrado su capacidad de rendimiento en el sistema de secano 5.0 ton/ha mientras en el sistema de riego hasta 7.0 ton/ha (Jaén, 2015).

2.2. Taxonomía y morfología de (*Gaeumannomyces graminis* Sacc.) Von Arx & d. Olivervar. graminis:Agente causal de Mal del pie de los cereales.

Reino: Mycetae

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Sordariomycetidae

Familia: Magnaporthaceae

Género: *Gaeumannomyces*

Epíteto: *graminis*

Var: *graminis*

Morfología del patógeno (*Gaeumannomyces graminis* Sacc.)

Las plantas afectadas por *Gaeumannomyces graminis*, presentan puntos negros dentro de las vainas de las hojas afectados que son estructuras reproductivas del hongo llamadas (Peritecios). Manchas oscuras, irregulares y crecimiento de raíces adventicias.

Huéspedes: Arroz, avena, cebada, centeno, trigo, etc.

Sintomatología: Causa la podredumbre del pie del huésped. Ataca a las raíces en todos los estados del crecimiento del huésped. Causa enanismo y reducción del ahijamiento, plantas infectadas son de menor tamaño, las espigas son blancas estériles y cloríticas o con granos vanos, lesiones oscuras en los entrenudos y muerte de las vainas foliares, las raíces toman un color marrón oscuro a negro brillante con lesiones y secamiento de las mismas, que puede a veces confundirse con daños por sales acumuladas en el suelo (INIAP- 2012).

Descripción: Dentro de esta Epíteto, actualmente se incluyen tres variedades: graminis, avenae y tritici, todas ellas con un rango de huéspedes en gramíneas con solapamientos.

Teleomorfo: peritecios ovales y ligeramente aplastados en el sentido dorso-ventral. Ascas unitunicadas, ascosporas de color amarillo pálido, ligeramente curvadas, con los extremos redondeados y miden 80-100 x 2,5-3 μm .

Anamorfo: forma hifas pardas unidas en hebras, con hifas laterales que forman hifopodios desde los que se realiza la entrada en el huésped. Colonias de color marrónoliváceo a negro. Conidióforos ramificados, lisos y de color marrón, llevan en sus extremos conidias simples con uno o ningún septo, elipsoidales a oblongas, incoloras y de 5 x 2 μm de media.

2.3. Escala de severidad para evaluar la enfermedad mal de pie (*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*) en arroz (*Oryza sativa*) (Ospina, 2008).



0	1 (5%)	2 (25%)	3 (50%)	4 (75%)	5 (100%)
----------	---------------	----------------	----------------	----------------	-----------------

- Tabla que describe los niveles de severidad del fitopatógeno *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*.

Nivel 0:	<ul style="list-style-type: none"> • Ninguna lesión visible. Material sano.
Nivel 1:	<ul style="list-style-type: none"> • Lesiones incipientes de color oscuro en la vaina foliar únicamente. Material ligeramente enfermo.
Nivel 2:	<ul style="list-style-type: none"> • Necrosamiento considerable en las vainas con presencia de peritecios.
Nivel 3:	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de micelio oscuro acompañado de hifopodios generalmente entre la cara externa del tallo y la vaina de la hoja.
Nivel 4:	<ul style="list-style-type: none"> • Debilitamiento y marchitamiento del tallo por crecimiento micelial del hongo.
Nivel 5:	<ul style="list-style-type: none"> • Secamiento generalizado del tallo y hojas. Muerte de los tejidos

2.4. Microorganismos benéficos utilizados para la investigación.

2.4.1. Clasificación taxonómica de *Trichoderma asperellum*.

Reino: Mycetae
Filo: Ascomycota
Clase: Hipomicetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Trichoderma*
Epíteto: *asperellum*

Trichoderma asperellum como control biológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en el arroz es una alternativa biológica que juega un papel importante en su rendimiento. Este control biológico puede emplearse independiente o combinado con herbicidas e insecticidas químicos y así disminuir los costos ecológicos y económicos que implican las aplicaciones de estos (Meneses et al., 2008).

Trichoderma asperellum, hongo antagonista de amplio espectro con la capacidad de controlar hongos de follaje. Controla diversos hongos fitopatógenos entre ellos los que pertenecen a los géneros: *Rhizoctonia* ssp, *Pythium* ssp, *Phytophthora* ssp, *Fusarium* ssp, *Rhizopus* ssp, *Mucor* ssp, *Botrytis* ssp, *Colletotrichum* ssp y muchos más; además que puede reducir la incidencia de nematodos. La particularidad de las cepas de este epíteto de *Trichoderma* es que están potencializadas para el control biológico de patógenos resistentes a los

fungicidas de uso común. *Trichoderma asperellum* ha demostrado tener un comportamiento endofítico parecido a las micorrizas por lo que las plantas absorben mejor los nutrientes y elevan su niveles de ácidos jasmónico, salicílico y peroxidasas con lo que son más resistentes al ataque de enfermedades fúngicas y bacterianas (López et al., 2010).

2.4.2. Clasificación taxonómica de *Trichoderma viride*.

Reino: Mycetae

Filo: Ascomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Hipocreacea

Género: *Trichoderma*

Epíteto: *viride*

Es un hongo filamentoso que se distribuye en el suelo, plantas, vegetación muerta y madera, anaerobio facultativo. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales, son colonizadas rápidamente por estos microorganismos (Rifai M, 1969).

Características Macroscópicas

Las colonias crecen rápidamente y esporulan en 5 días a 30°C en Agar papa-dextrosa y Agar malta. Las colonias son algodonosas al inicio y luego se

compactan y esporulan tomando color verde de textura granular formando parches concéntricos.

Modo de Acción Es un hongo usado como fungicida biológico, de igual forma es estimulador de crecimiento en plantas y utilizado como agente de bioremediación ya que degrada algunos grupos de pesticidas de alta persistencia en el ambiente.

2.4.3. Clasificación taxonómica de *Paecilomyces lilacinus*.

Reino: Mycetae

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Eurotiomycetes

Género: *Paecilomyces*

Epíteto: *lilacinus*

Es el enemigo natural de muchos géneros de nematodos y algunos insectos como mosca blanca y chinches. Es efectivo para nematodos de los géneros *Meloydogine ssp*, *Pratelynchus ssp* y *Radophulus ssp*. El hongo parasita los huevos y hembras de los nematodos con la participación de enzimas líticas causando deformaciones, destrucción de ovarios y reducción de la eclosión. Produce toxinas que afectan el sistema nervioso y causan deformación en el estilete de los nematodos que sobreviven, lo que permite reducir el daño y sus poblaciones.

Modo de acción

El hongo *Paecilomyces lilacinus* al ser aplicado produce sustancias que actúan sobre los huevos y estados juveniles de los géneros: *Meloidogyne ssp*, *Pratylenchus ssp* y *Radopholus ssp*, provocando deformaciones, vacuolizaciones y pérdida de movimiento. Se puede observar vacuolizaciones internas de las larvas del primer estadio, segmentación y gastrulación atípicas. El hongo es capaz de penetrar el huevo, crecer dentro del mismo y destruir el embrión.

Efectividad: es utilizado para el control de los diferentes tipos de fitonematodos: *Radopholus ssp.*, *Helicotylenchus ssp.*, *Meloidogyne ssp*, *Scutellonema ssp.* *Pratylenchus ssp*, *Globodera ssp*; en los cultivos de Banano, café, flores, frutales, plátano, tomate, arroz, etc.

Ventajas:

- No contamina el ambiente.
- No es tóxico en humanos, animales y plantas.
- Al establecerse en el campo constituye un reservorio benéfico de inóculo.
- Puede usarse en la agricultura orgánica y convencional.
- Puede aplicarse con insecticidas, fertilizantes foliares, bacte

2.4.4. Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*.

Reino: Mycetae
División: Ascomycota
Clase: Sordariomycetes
Orden: Hypocreales
Familia: Clavicipitaceae
Género: *Beauveria*
Epíteto: *bassiana*

Es un hongo ascomicetomitospórico que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes Epítetos, causando la enfermedad blanca de la muscardina, Nombre por el cual se la conoce. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida biológico obiopesticida controlando un gran número de parásitos de las plantas como orugas, termitas, moscas blancas, áfidos, escarabajos e insectos del orden Thysanoptera (Aquino, 2005).

Morfología del hongo: en medios de cultivo específicos, el hongo *Beauveria bassiana* crece formando un moho blanquecino.

Modo de acción: el modo de acción de este hongo entomopatógeno consta de diferentes etapas. Cuando las esporas microscópicas del hongo entran en contacto con la epicutícula del insecto, estas se adhieren e hidratan, las esporas germinan y penetran la cutícula del insecto (Saen, 2000).

2.4.5. Clasificación taxonómica de *Metarhizium anisopliae*.

Reino: Mycetae
División: Eumycota
Clase: Hipomicetes
Subclase: Deuteromycotina
Familia: Moniliaceae
Género: *Metarhizium*
Epíteto: *anisopliae*

Espécimen de hongo que ataca a los insectos hasta eliminarlos, son efectivos contra el picudo negro del plátano entre otros.

Modo de acción: comienza por la adhesión del tegumento y la germinación de los conidios esporas sobre este. Luego se produce la penetración a través de la cutícula del insecto.

Sobreviene la muerte del insecto y el hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente, el micelio sale hacia el exterior pasando a través del tegumento, esporulas sobre la superficie del insecto y finalmente son diseminados al medio.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Ubicación geográfica

El ensayo fue establecido en la parcela número 2 en la finca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias ubicada en el corregimiento de Chiriquí, distrito de David, Panamá. POSICIÓN: 17P 0350912 UTM: 0929133 ALTURA: 37m.

3.2. Cultivar que se utilizó

Para realizar esta investigación se utilizó la variedad de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, UP-80 FL. Esta variedad fue lanzada en el año 2015.

3.3. Actividades realizadas en campo.

3.3.1 Preparación del suelo

Esta práctica agrícola se realizó con tres pases de rastra cruzada, después de 15 días se realizó una aplicación con Glifosato para el control de malezas emergentes en el campo, luego 4 días después se hizo un pase de rastra liviana para mejorar las condiciones del terreno. También se hizo necesario el uso de rastrillos y azadas para destruir algunas estructuras de suelo muy grades (terrones) que quedaron en la parcela.

3.3.2 Marcado del terreno

Se marcó cuatro puntos que representan el área total, equivalente a 120 metros cuadrados con 15 parcelas de 3 metros de ancho por 2.5 metros de largo lo que equivale a un área de 7.5 metros cuadrados cada unidad experimental. Se dejó un espacio de un metro entre cada parcela en todos los extremos.



Figura 1. Marcado del terreno.

3.3.3 Siembra

La siembra fue realizada el 11 de junio del 2018. Esta práctica agrícola consistió en marcar con la azada los surcos donde se sembraría posteriormente la semilla. La semilla antes de su siembra fue tratada por fungicida **VITAVAX® 400** (ia- carboxin + thiram) para la protección de la semilla y plántula los primeros 15 días después de siembra. Las parcelas contaban con 7 surcos, con un distanciamiento de 36 centímetros entre cada uno, los cuales fueron sembrados a chorrillo a una densidad de 60 gramos por parcela. Luego de sembrada se abonaron las parcelas al voleo, una vez ya culminada esta labor se procedió a tapar los surcos con la azada. Dos días después de la siembra se hizo una aplicación del herbicida Paraquat para el control de malezas y permitir que el arroz naciera libre de las mismas.



Figura 2. Marcado de los surcos

F



S

siembra de las unidades experimentales

CUADRO I. DENSIDAD DE SIEMBRA DEL ENSAYO EXPERIMENTAL.

qq/ha	Kg/ ha	g/ 112.5 m2	g/ 7.5 m2
1.77	80	896	60

En el cuadro N^o1 se presenta la densidad de siembra utilizada en el ensayo. Se recomendó esta baja densidad por la razón que esta variedad (UP-80 FL.) es recomendada para un sistema bajo riego, y en este trabajo de tesis se utilizó el sistema de secano favorecido.

3.3.4 Inoculación

El campo fue inoculado previamente antes de sembrar con suelo contaminado con el hongo *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* obtenido de la finca de la productora Maritza Sánchez, ubicada en la Brqueta, distrito de Alanje. Luego a los 18 días después de establecido el cultivo se aplicó nuevamente el inóculo. Para determinar que el fitopatógeno se encontraba en el material se realizaron inoculaciones en medios de cultivo PDA.



Figura 4. Inoculo; planta con signos de *G. graminis*.



Figura 5. Inoculo en PDA.



Figura 6. Inoculación del campo.

3.3.5 Fertilización

La fertilización fue realizada en base a las que se hacen en los campos de arroz de la FCA.

CUADRO II. FERTILIZACION DEL ENSAYO.

Fases del cultivo	Fertilizante	Dosis en qq/ha	Dosis en Kg/ha	Dosis en g/120 m2
Siembra	N-P-K 12-24-12	2	90.72	1,080
15 dds	Urea 46%	2	90.72	1,080
25 días dds	N-P-K-Foliar 20-20-20		0.30	3.6
45 días/ dds	Urea 46%	3	136.08	1,630

3.3.6 Control de malezas.

Para el control de malezas se usaron los sistemas químicos, manual y mecanizado.

Control químico: para el control de malezas una vez se preparó el suelo en su totalidad se utilizó como primer herbicida el Glifosato a una dosis de 3 L/ha para bajarlas el complejo de malezas. Después que se sembró el terreno se procedió a aplicar el herbicida de contacto Gramoxone a razón de 3 L/ ha. Para el control Pos-emergente se utilizaron los productos: Pendimetalina (Prowl), Panius (Propanil, Pirosulfuron-etil).

CUADRO III. PRODUCTOS UTILIZADOS PARA EL CONTRO DE MALEZAS.

Producto comercial	Ingredientes activos	Dosis/ha/ 200 L H2O	Dosis / 20 L H2O
Roundup	Glifosato	3 L/ ha	300 cc
Gramoxone	Paraquat	3 L/ ha	300 cc
Prowl 400 EC	Pendimetalina	1.8 L/ha	18 cc
Propanil 48% CE	Propanil	5 L/ ha	500cc
Panius	Pirasulfuron-etil	250 g/ ha	25 g



Figura 7. Aplicación de herbicidas pos-emergente.

- **Control manual de malezas:** se realizó con el uso de azadas cuando quedaban malezas que los herbicidas no controlaban.
- **Control de malezas mecanizado:** se utilizó la lira para cortar las malezas en las calles que estaban entre las parcelas y los alrededores del ensayo.



Figura 8. Limpieza mecánica



Figura 9. Limpieza manual con azada.

3.3.7 Control de insectos y enfermedades.

Para el control de enfermedades e insectos se dio inicio desde la preparación de la semilla, la cual se trató con del fungicida VITAVAX 400 (i.a. Carboxim + Thiram) para mantenerla protegida desde su siembra hasta sus primeros 15 días de germinadas las plántulas. Cabe destacar que en este trabajo de investigación las aplicaciones para el control de insectos y enfermedades después de los primeros 11 días hasta la salida de la panícula fueron completamente biológicos,

utilizandolos productos comerciales: fungicida NANO-XTINGER 10 GW, insecticida NANO-MIX 10 GW y el nematicida NANO-STEEL 10 WG.

En el ensayo se pudieron observar los siguientes patógenos: *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, *Pyricularia grisea*, *Bipolaris oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Ustilaginoidea virens*. En cuanto a plagas insectiles, estuvieron presente: la novia del arroz *Rupella albinella*, gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* y el chinche del arroz *Oebalus insularis* que afecta en la etapa de grano lechoso. Se aplicó el insecticida químico IXUS® 200 EC (i.a-Fipronil) a razón de 1 L/ 200 L de agua, 100cc/20 L de agua.



Figura 10. Planta afectada por *G. graminis*.



Figura 11. Presencia de micelio con hifopodios.



Figura 12. Ascosporas.



Figura 13. *Pyricularia grisea*



Figura 14. *Ustilaginoidea virens*



Figura 15. *Rupella albinella*

3.3.8 Evaluaciones en el campo y en el laboratorio.

En esta evaluación se tomaron 15 plantas de los tres surcos centrales de cada unidad experimental; en total fueron 225 plantas que se sacaron del campo para hacerles los análisis de laboratorio para determinar la presencia de ***Gaeumannomyces graminis var. graminis***, con el fin de obtener la incidencia y severidad de la enfermedad. Del suelo extraído de las raíces se tomaron muestras de 100 g por cada tratamiento, para hacer extracciones de fitonemátodos por el método de tamizado y posteriormente realizar los conteos.

Cuando se realizó esta evaluación el arroz contaba con 45 días; etapa de máximo macollamiento (ahijamiento). Esta evaluación se hizo en esta fase fisiológica de cultivo ya que es la óptima para hacer el conteo de hijos, medir el

tamaño de las plantas, pesado de follaje y raíces y también hacer el análisis de materia verde y materia seca.



Figura 16. Extracción de plantas completas para las evaluaciones



Figura 17. Tratamientos y repeticiones



Figura 18. Observación del sistema vascular de las plantas



Figura 19. Planta del T1 con signos de *G. graminis*



Figura 20. Presencia de peritecios



Figura 21. Inoculación en PDA con el tejido afectado

extraído de T1.



Figura 22. Planta afectada en una escala IV



Figura 23. Planta con pudrición basal afectando el sistema vascular en una escala II



Figura 24. Micelio oscuro y presencia de hifopodios

➤ **Medición de la longitud de follaje y las raíces.**

Esta práctica se realizó con el fin de analizar el tratamiento que presentaba mayor longitud tanto en follaje como en raíces. Para medir el follaje, se colocó una cinta métrica en la base de las plantas hasta el extremo de la última hoja. Para esta evaluación solo se tomó como referencia la planta madre o planta principal. Para la medición de las raíces se colocó la cinta desde la base de la planta hasta la punta de la raíz más larga.



Figura 25. Medición de longitud de follaje y raíces.

➤ **Pesado del follaje y de la materia seca.**

El pesado del material se hizo con respecto a las 15 plantas sacadas de cada tratamiento y repetición. Luego que se evaluara la incidencia y severidad de la enfermedad se procedió a pesar el follaje y las raíces por separado, después se colocaron dentro del horno en bolsas de papel y se pesaron varias veces hasta que repitiera el peso. Este análisis se hizo para determinar que tratamiento presentaba mayor vigorosidad y biomasa.



Figura 26. Pesado del follaje.



Figura 27. Pesado de las raíces.



Figura 28. Rotulado de las bolsas con el material vegetal



Figura 29. Pesado del follaje y raíces ya como materia seca.

- **Extracción de nematodos:** Este análisis se realizó con el fin de tener una referencia de las poblaciones de nematodos en cada uno de los tratamientos, y como estudio adicional conocer la eficacia del producto comercial **Nano-Steel** (*Paecilomyces lilacinum*) ya que los fitonematodos son una plaga de interés en el cultivo del arroz. Los fitonematodos cuantificados fueron: (*Pratylenchus spp*, *Helicotylenchus spp*, *Criconemoides spp*).



Figura 30. Extracción de nematodos con el método de tamizada, centrifugado y flotación en azúcar.



Figura 31. Fitonematodo (*Criconemoides* spp).

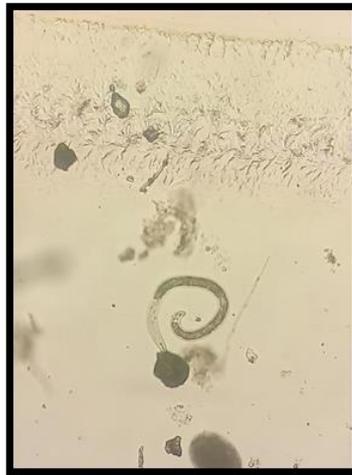


Figura 32. Fitonematodo (*Helicotylenchus* spp).



Figura 33. Fitonematodo (*Pratylenchus* spp)

3.4 Cosecha

La cosecha se realizó cuando el cultivo presentaba una humedad del 26 %. Para realizar la cosecha se tomaron los 3 surcos centrales y se dejaron 2 surcos de cada lado para evitar el “efecto de borde”, luego se cosechó a partir de un pie hacia adentro de cada frente de las parcelas, siendo el área efectiva de 5 m² la cosecha fue de forma manual con la ayuda de cuchillas y machetes. La cosecha de cada parcela fue ensacada y rotulada individualmente con sus tratamientos y repeticiones. Al día siguiente se colocaron todos los tratamientos en una lona para que se secara al sol. Luego de la primera secada, el arroz se desgranó dentro del saco con la ayuda de una tabla. Ya desgranado se le dio otra asoleada al día siguiente. Cuando el arroz presentó una humedad de 14% se procedió a pesarlo en una pesa romana.



Figura 34. Cultivo con la madurez óptima para su cosecha.



Figura 35. Cosecha del arroz.



Figura 36. Arroz cosechado.



Figura 37. Colocación del arroz por tratamientos y repeticiones en sacos rotulados.



Figura 38. Desgranado y limpieza del arroz.



Figura 39. Los 5 tratamientos con sus 3 repeticiones ya desgranadas.

3.5. Rendimiento

Los rendimientos se evaluaron por repetición y luego se promediaron por tratamientos. Para tener el dato de rendimiento se tomó el arroz cosechado de un área efectiva de 5 m² dentro de un área total de unidades experimentales de 7.5 m².

3.6. Prueba de patología de los granos.

Para esta prueba se tomaron muestras de cada uno de los tratamientos y repeticiones. Se hicieron 30 platos Petri (2 platos para cada repetición). Esto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar y se desinfectó la semilla con alcohol la cual estaba dentro de una gasa; esto se hace con la finalidad de eliminar superficialmente algún contaminante en el grano. La prueba patológica de la semilla se hizo con el fin de descartar la posibilidad que el hongo

Gaeumannomyces graminis* var. *graminis. Se encontrara en los granos, sin embargo, hubo crecimiento de los patógenos (***Fusarium spp*** y ***Rhizoctonia spp***).



Figura 40. Desinfestado del grano con alcohol al 70 %.



Figura 41. Inoculación de los granos dentro del plato Petri.



Figura 42. Patógeno *Fusarium*



Figura 43. Patógeno *Rhizoctonia*

spp encontrados en la patología de granos.

solani encontrado en la patología de granos.

3.7. Diluciones de suelo para determinar crecimiento de *Trichoderma spp.*

Este análisis se hizo con la finalidad de poder ver en campo la capacidad del hongo biológico de adaptarse al suelo. Cabe resaltar que este análisis se hizo en el mes de diciembre, a dos meses después de la cosecha; esto nos indica una gran adaptabilidad, establecimiento y colonización del suelo.

Se hicieron varias diluciones del suelo para determinar en cual se observaba mayor crecimiento de los microorganismos eficientes.



Figura 44. Disolución del suelo en agua destilada.

Figura 45. Rayado en PDA.

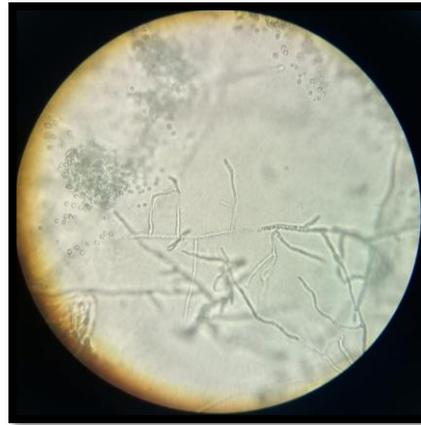
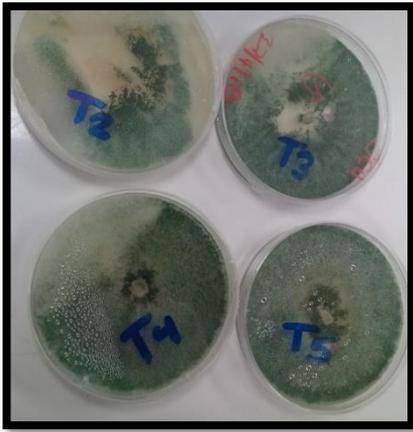


Figura 46. *Trichoderma spp.* Creciendo en PDA resultado de las diluciones. **Figura 47.** Observación al microscopio de los conidióforos y las conidias de color verde.

3.8. Diseño experimental, tratamientos y descripción de las unidades experimentales.

Para este trabajo de tesis se utilizó un área efectiva de 112.5 m², las áreas adyacentes que se mantuvieron limpias de malezas.

Se utilizaron 5 tratamientos con 3 repeticiones en donde se evaluaron los siguientes productos biológicos: **Nano-Xtinger 10 GW, Nano- Steel 10 GW, Nano-Mix 10 GW.**

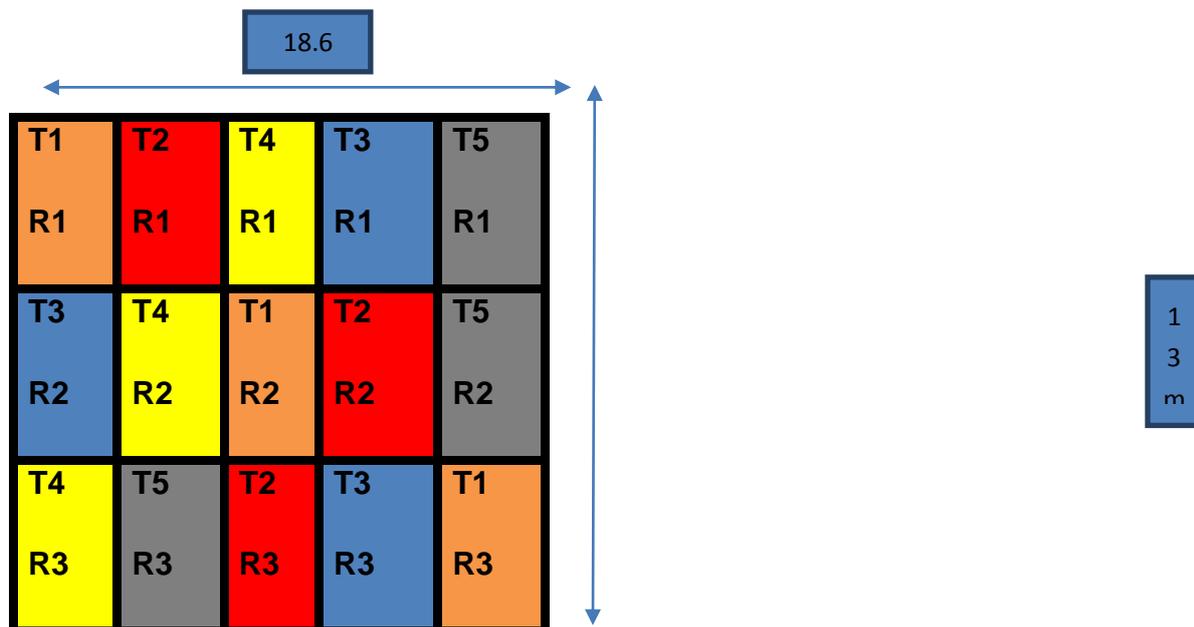
CUADRO IV. TRATAMIENTOS UTILIZADOS.

TRATAMIENTOS	MEZCLAS COMERCIALES	i.a	Dosis/ha
(T1)	Ningún producto		
(T2)	Nano-Xtinger 10 GW + Nano-Steel 10 GW, Nano-Mix 10 GW	<i>Trichoderma asperellum y T. viride, Paecilomyces lilacinum, Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae</i>	500 cc/ c/u.
(T3)	Nano-Xtinger 10 GW + Nano- Steel 10 GW	<i>Trichoderma asperellum y T. viride, Paecilomyces lilacinum</i>	500 cc/ c/u.
(T4)	Nano-Xtinger 10 GW + Nano-Mix 10 GW	<i>Trichoderma asperellum y T. viride, Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae</i>	500 cc/ c/u.
(T5)	Nano-Xtinger 10 GW	<i>Trichoderma asperellum y T. viride</i>	500 cc

- **El diseño experimental utilizado fue de Bloques Completamente al Azar (DBCA) y los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SAS CA, USA 2008 con un alfa al 5 %.**

Cada unidad experimental contaba con un área de 7.5 m² (2.5m x 3m); la parte frontal tenía 5 metros de distancia de la calle, 1 m entre unidad experimental el distanciamiento entre hilera era de 0.35 m, con 3 metros de largo. El área efectiva al cosechar de cada parcela fue de 5 m² (**Figura 53**).

Figura 48. DIAGRAMA DE LA DISTRIBUCIÓN AL AZAR DE CADA TRATAMIENTO (área total de 240.5 m²).



3.8.1. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa estadístico SAS Versión Ocho corriéndose los siguientes análisis:

- Análisis de varianza (ANOVA)
- Contraste de medias (PRUEBA DE DUNCAN)
- Modelo lineal aditivo

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \text{ con } i=1,\dots,a \text{ y } j=1,\dots,n$$

Y_{ij}	Es la j-ésima observación de la i-ésima población.
μ	Es la media general.
τ_i	Es el efecto de la i-ésima población.
ε_{ij}	Es una componente aleatoria que representa el error experimental asociado a la observación ij. Usualmente se supone que este término de error es independiente de los otros, y distribuido como una normal con esperanza 0 y varianza σ ² para todo i,j.

3.9. Variables evaluadas.

1. Conteo de ahijamiento.

Esta variable se evaluó para determinar cuál tratamiento presentó mayor número de hijos.

2. Longitud de follaje y raíces

Esta variable fue evaluada en la etapa de máximo macollamiento ya que era el mejor momento para realizar todos los demás análisis. Se midió la longitud tanto en follaje como en el sistema radicular de las plantas.

3. Incidencia y severidad de la enfermedad por tratamiento.

La incidencia y severidad de la enfermedad se basó en las 15 plantas extraídas de cada unidad experimental para determinar cuántas plantas presentaban signos de *Gaeumannomyces graminis*.

4. Peso de materia seca.

Para pesar las muestras las plantas se separaron de las raíces se pesaron individualmente como materia verde, luego se rotularon y se colocaron en el horno hasta que estuvieran completamente secas.

5. Rendimientos por hectárea.

Se cosechó cada parcela por separado, se pesaron por repetición y luego se promediaron por tratamiento para determinar que tratamiento logró mayor rendimiento y los datos se corrieron en el programa SAS.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Prueba de germinación

El porcentaje de germinación de la variedad UP-80 FL fue de 94 %. Esta prueba fue realizada en el invernadero de la FCA. Se hicieron 3 repeticiones en bandejas de 100 orificios, y a los 10 días de germinadas se contaron y se promediaron para determinar el porcentaje de germinación.

4.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).

CUADRO V. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).

VARIABLE/ANOVA	Pr > F	R ²	C.V.
1.% incidencia	0.0001 **	0.93	19.63
2.Largo de raíces	0.0054 **	0.82	21.87
3.Ahijamiento	0.7135 n.s.	0.31	11.97
4.Altura de planta	0.7505 n.s	0.21	8.33
5.Materia seca/hojas	0.0270 *	0.77	14.44
6.Materia seca/raíces	0.1748 n.s.	0.54	55.07

n.s.= no significativo, **=altamente significativo al 1% de probabilidad, *=diferencia significativa al 5% de probabilidad.

En el cuadro V se observa el análisis de varianza, donde se evaluaron las variables: porcentaje de incidencia de la enfermedad, largo de raíces, ahijamiento, altura de planta, materia seca (hojas), materia seca (raíces). Para este análisis, el cultivo se evaluó en la etapa de máximo macollamiento, ya que en esta etapa fisiológica el cultivo está totalmente desarrollado.

Nota: el Cuadro V evidencia que existen diferencias significativas (*) para la variable de materia seca de las hojas y para las variables largo de las raíces y porcentaje (%) de incidencia; diferencias altamente significativas (**).

El coeficiente de variación para cada variable es bajo, esto nos permite inferir sobre la buena acción benéfica que las formulaciones biológicas tienen sobre el cultivo de arroz, para el caso de las variables altura de planta, ahijamiento y materia seca en raíces no se observa diferencias significativas (n.s.) ya que la variedad de arroz UP-FCA 080 es certificada y estas características muestran homogeneidad varietal.

**CUADRO VI.RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS
VARIABLES QUE MOSTRARON DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.**

Variable	Prueba de Tukey	Valor de la media	Tratamiento
1.Incidencia	a a b b b	59.767 59.767 26.333 24.000 15.333	T3 – Stxt T1 – Testigo T2 – Stxtmx T5 – Xt T4 – Xtmx
2.Largo de raíces	a ab abc bc c	2.6667 2.3333 2.0000 1.3333 1.0000	T2 – Stxtmx T3 – Stxt T4 – Xtmx T5 – Xt T1 – Testigo
3.Materia seca/ hojas	a ab ab ab b	33.467 30.500 26.000 23.000 21.700	T2 – Stxtmx T3 – Stxt T4 – Xtmx T5 – Xt T1 – Testigo
4.Materia seca / raíz	ab ab ab a a	17.600 16.767 13.900 9.637 4.000	T4 – Xtmx T5 – Xt T2 – Stxtmx T3 – Stxt T1 – Testigo

Nota: Una de las variables de mayor importancia en el cuadro VI, es la incidencia de la enfermedad, la cual muestra que los tratamientos (T1 Y T3) tuvieron una mayor incidencia (59.767%), mientras que el tratamiento (T4) mostro una menor incidencia de la enfermedad (15.333%).

4.2. ANÁLISIS DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

Para medir la severidad de la enfermedad se utilizó la escala de severidad en arroz para *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* (Ospina, 2008).

CUADRO VII. RESULTADOS DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

➤ La escala de severidad se mide de la siguiente manera.

Tratamiento	Nº de plantas con severidad de 15 evaluadas	Escala de severidad: 1,2,3,4,5	Total de severidad en (%)	IS= $\sum nb / (N-1) T \times 100$
(T1) Test	2 4	5 2	16.6	Donde : IS= Índice de severidad n=Número de planta en cada grado. b= Grado. N= Números de grados empleados en la escala. T= Número total de plantas evaluadas.
(T2) Stxtmx	1 2	3 2	6.6	
(T3) Stxt	1 2	3 2	6.6	
(T4) Xtmx	1 1	2 3	4.9	
(T5) Xt	2 2	2 3	9.9	

Nota: en el cuadro VII se observan los resultados del porcentaje de severidad en donde el tratamiento N° 1 (Testigo) presento la severidad más alta con un 16.6% y el más bajo fue el tratamiento (T4) con una severidad de 4.9% en donde se aplicaron los productos **Nano-Xtinger 10 WG + Nano-Mix 10 WG**.

4.3. RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO

➤ Rendimientos (análisis practico)

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5
Rendimiento/Kg/ 5 m2	2.02	2.09	2.49	2.52	2.21
Rendimiento/Kg/ ha	4040	4180	4980	5040	4420
Rendimiento/ qq / ha	89.77	92.88	110.6	112	98.22

CUADR VIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA RENDIMIENTO

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F
Modelo	6	0.47800000	0.71	0.6548	
Error	8	0.90284000			
Total	14	1.38084000			

R-Cuadrado C.V. MEDIA REND

0.346166 **16.32** 2.05800000

N.S: no existen diferencias significativas.

Nota: según el análisis de varianza para rendimiento, el cuadro muestra que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

V. CONCLUSIONES

• Los resultados obtenidos nos permiten concluir que los microorganismos que constituyen los productos biológicos evaluados, lograron establecerse en el ecosistema donde se realizó el ensayo, disminuyendo la incidencia y severidad del hongo *Gaeumannomyces graminis* en la mayoría de los tratamientos en donde se aplicaron.

• Se determinó que la formulación biológica Nano-Xtinger® 10 GW + Nano-Mix® 10 GW, que correspondía al tratamiento T4, obtuvo un mayor rendimiento pero desde el punto de vista estadístico no fue significativo, mientras que el testigo (T1), obtuvo los rendimientos más bajos.

VI. RECOMENDACIONES

- De acuerdo con el aprendizaje de esta investigación recomiendo que los suelos sean tratados con los microorganismos eficientes, que se trate la semilla a utilizar ya que estos brindan una mayor protección de la semilla apenas germina, mantienen la humedad en el suelo, y descomponen la materia orgánica.
- Recomiendo el uso de formulaciones biológicas para el control preventivo de fitopatógenos en el cultivo de arroz, durante varios ciclos de cultivo, debido a que estos al ser aplicados en los suelos tienen la posibilidad de adaptarse, y de esta manera, en años posteriores a su aplicación, los costos de producción pueden disminuir.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aquino-de-Muro, M., S. Elliott, D. Moore, B. L. Parker, M. Skinner, W. Reid y B. El Bouhssini. 2005. Molecular characterization of *Beauveria bassiana* isolates obtained from overwintering sites of sun pests (*Eurygaster* and *Aelia* species). *Mycol. Res.* 109: 294–306. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2707/1/1080227494.pdf>
2. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO). 2006. Seguimiento del mercado del arroz (en línea). Roma, IT, FAO. Consultado 17 de oct. 2006. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/ag068s/ag068s00.pdf>.
3. Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego(FLAR), 2016. Panamá – El consumo de arroz en panamá supera los 7,000,000 de quintales anualmente. Disponible en: <https://flar.org/panama-el-consumo-de-arroz-en-panama-supera-los-7000000-de-quintales-anualmente/>
4. Garrido, R. M. 2009 Manejo de pudrición de la pudrición de tallos y vainas del arroz. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/39803/1/7711007.2014.pdf>.
5. González, H. 1981. Origen y morfología de la planta de arroz. In: Curso de adiestramiento en producción de arroz. Instituto Nacional de Investigación y Promoción Agropecuarias (INIPA), Chiclayo, Perú. p. 1-29. Disponible en: <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/82462/origen->

ff4737f6.pdf?sequence=1

6. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.(INIAP). 2012. Leticia Vivas Vivas, Diana Intriago Mendoza. Departamento Nacional de Protección Vegetal, sección Fitopatología. Boletín Divulgativo no. 426. Guía para el reconocimiento y manejo de las principales enfermedades en el cultivo de arroz en Ecuador. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/266794883_GUIA_PARA_EL_RECONOCIMIENTO_Y_MANEJO_DE_LAS_PRINCIPALES_ENFERMEDADES_EN_EL_CULTIVO_DE_ARROZ_EN_ECUADOR
7. Jaén S, Ariel E. (20 de Noviembre 2015). Nuevo cultivar de arroz UP 80 FL. Chiriquí Panamá.
8. López, Y.; Pineda, J.; Hernández, A.; Ulacio, D. 2010. Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. Bioagro. 22(1):37-42. Disponible en: https://www.ecured.cu/Trichoderma_asperellum
9. Meneses, R.; Gutiérrez, A.; García, A.; Antigua, G.; Gómez, J.; Correa, F.; Calvert, L.; Hernández, J. 2008. Guía para el trabajo de campo en el manejo integrado de plagas del arroz. Quinta Edición. Instituto de Investigaciones del Arroz. Sancti Spiritus, Cuba. 63p. Disponible en: https://www.ecured.cu/Trichoderma_asperellum.

10. Ospina, 2008. Escala de severidad en arroz para evaluar *Gaeumannomyces graminis*. Disponible en PDF: <file:///E:/arroz524.pdf>
11. Ospina, J.O., Higuera, A, O., Anaranjamiento asociado al cultivo del Arroz. En: Colombia Arroz. Fedearroz F.N.A v55 p28-37. 2008. Disponible en: <file:///E:/arroz524.pdf>.
12. Ospina, G. J. Ó. 2009. Alternativas de control de la mancha naranja (*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* REVISTA ARROZ - VOL. 57 No. 479 pág.13-21) Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/39803/1/7711007.2014.pdf>.
13. Prestes, A.M.1972. Acerca do mal do pé do trigo (*Ophiobolus graminis*) no Rio Grande do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia 5:169-170. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/39803/1/7711007.2014.pdf>
14. Rifai. M. A 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers, 116: 1156. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/11759/38368>
15. Saen, C. 2000. Uso biológico del *Metarhizium anisopliae* (METCH) SOROK, como estrategia para el control de salivazo (Hom.:

Cercopidae), en la caña de azúcar. DIECA-LAICA. Costa Rica. p. 1-2. Disponible en: <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Producci%C3%B3n-Metarhizium-anisopliae-Publicaci%C3%B3n-T%C3%A9cnica-N%C2%B05.pdf>.

16. Somarriba, C. 1998. Granos básicos. Arroz. Universidad Nacional Agraria. 49 pág. Disponible en: https://agritrop.cirad.fr/528569/1/document_528569.pdf

17. Walker, J. 1980. Gaeumannomyces, Linocarpon, Ophiobolus and several other genera scolecospored Ascomycetes and Phialophora conidial states, with a note on hyphopodia. Mycotaxon 11: 1- 129

5. ANEXOS

Anexo 1. Descripción de los productos biológicos y sus dosis.

Nombres	Nombre comercial	Ingrediente activo	Mecanismo de acción	Dosis/ha
Fungicida	Nano Xtinger 10 GW	<i>Trichoderma asperellum</i> y <i>T. viride</i>	Este producto endófito y antagonista actúa a través del mico parasitismo la antibiosis, la competencia por espacio, que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógenos. Estos modos de acción se ven favorecidos por la habilidad del ingrediente activo de NANO-XTINGER para colonizar las plantas.	1 litro/200 litros de H ₂ O
Nematicida	Nano- Steel 10 GW	<i>Paecilomyces lilacinum</i> .	Su modo de acción está basado en que parasita con sus hifas los huevos, juveniles y hembras de los nematodos; mediante enzimas líticas causa destrucción de ovarios y reducción de la eclosión bajando sus poblaciones eficazmente por gramo de suelo.	500 mL en 200 Ltrs de H ₂ O
Insecticida	Nano-Mix 10 GW	<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i>	La primera fase de germinación de esporas y penetración de hifas al cuerpo de la plaga, causándole parálisis y puede durar de 1 a 3 días. La segunda fase es la invasión de los tejidos internos por desarrollo del micelio del hongo hasta causar la muerte, dura de 2 a 3 días. La tercera etapa, la esporulación y el inicio de un nuevo ciclo de patogenización.	500 mL / 200 ltrs de H ₂ O

Anexo 2. CRONOGRAMAS DE ACTIVIDADES.

DESCRIPCIÓN	MESES						
	1	2	3	4	5	6	7
Formulación, Levantamiento e Impresión Del Proyecto	X						
Limpieza del área.		X					
Preparación del terreno y marcado del terreno.		X					
Sembrado de la Semilla.		X					
Control de malezas.		X					
Inoculación del hongo.		X					
Fertilización 12-24-12 (15 días después de siembra)		X					
Aplicación de Productos a Evaluar.		X					
Control de malezas.			X				
Fertilización Urea (35 días después de siembra)			X				
Cosecha.				X			
Ordenación y digitalización de datos de campo.				X			
Análisis, interpretación y redacción Del Documento Científico.					X		
Escritura del Artículo Científico.						X	X



Anexo 3. Observación del ensayo a los 15 días de germinado.



Figura 4. Ensayo con 23 días de germinado.



Anexo 5. Coordenadas del ensayo con el GPS.



Anexo 6. Etapa de floración del arroz.



Anexo 7. Aplicación de Microorganismos Eficientes (ME).