



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



TRABAJO DE TITULACIÓN

Perfil de Trabajo Experimental, presentado a la Unidad de Titulación, como requisito previo a la obtención del título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

TEMA:

Reacción de siete líneas avanzadas de arroz (*Oriza sativa* L. spp. japónica) a *Meloidogyne graminicola* en condiciones controladas en la zona de Babahoyo.

AUTOR:

Nilson Joel Osorio Peñafiel

ASESORA:

Ing. Agr. Carmen Triviño Gilces, PhD.

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

2019

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a DIOS, un pilar fundamental en mi vida, quien inspiró mi espíritu para la conclusión de este trabajo experimental.

A mis padres los cuales me dieron la existencia, la educación, el apoyo y los consejos.

A mis maestros quienes durante toda mi carrera me enseñaron, aun todas las veces que les consulte, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A las personas que me apoyaron y alentaron para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A todos ellos se los agradezco desde el fondo de mi alma. Para todos ellos hago esta dedicatoria, a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios infinitamente por bendecir mi vida, por guiarme a lo largo de esta existencia, por ser el apoyo y fortaleza en los momentos de dificultad y de debilidad, porque cuando quise renunciar su palabra me alentó y me fortaleció.

Gracias a mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por sus consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a mis docentes de la Escuela de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión como ingeniero, de manera especial, a mi tutora, quien me ha guiado con sus conocimientos y con su paciencia.

RESUMEN

El arroz (*Oriza sativa* L.) es el cultivo más extenso del Ecuador, ya que ocupa más de la tercera parte de la superficie de productos transitorios del país. El nemátodo agallador de raíces del arroz, *Meloidogyne graminicola* es considerado en las áreas arroceras del país como un gran problema fitosanitario y como uno de los factores limitantes de la producción de arroz en todos los ecosistemas que se desarrolla.

El presente trabajo se efectuó en los terrenos de la granja experimental “San Pablo”, que se encuentra ubicada en el km 7,5 de la vía Babahoyo-Montalvo. El objetivo de realizar este trabajo fue determinar la reacción de siete líneas avanzadas de arroz (*Oriza sativa* L. spp. japónica) a *M. graminicola* en condiciones de vivero en la zona de Babahoyo y establecer el índice de reproducción de *M. graminicola*. Las líneas estudiadas fueron: Puyón/JP002 (P8-32-P8), Puyón/JP002 (P8-30-P55), Puyón/JP002 (P8-29-P32), Puyón/JP002 (P8-28-P93), Puyón/JP002 (P11-10-P31), Puyón/JP002 (P8-29-P49), Puyón/JP002 (P8-32-P35) comparadas con la variedad comercial FL 011. A estas plantas se inocularon 2500 J2 por planta con cinco repeticiones. Las líneas fueron distribuidas en un diseño estadístico completos al azar. Para la evaluación y comparación de los tratamientos se realizó la prueba de Tukey al 95% de significancia. Se evaluó número de agallas por planta, densidad poblacional de *M. graminicola* en raíces e Índices de reproducción del nematodo.

Los resultados determinaron que las siete líneas probadas y la variedad comercial fueron altamente susceptibles al nematodo agallador de raíces *M. graminicola*. El nematodo presentó un alto índice de reproducción en las siete líneas, ya que, en tan solo 50 días después que ingresaron a la raíz, estos se reprodujeron de 111 a 33 veces más la población inicial.

Palabras clave: arroz japonico, nematodo agallador, *Meloidogyne graminicola*, resistencia,

SUMMARY

Rice (*Oriza sativa* L.) is the most extensive crop in Ecuador, since it occupies more than one third of the country's transitory product area. The rice root grater nematode, *Meloidogyne graminicola* is considered in the rice areas of the country as a major phytosanitary problem and as one of the limiting factors of rice production in all the ecosystems that develops.

This work was carried out on the grounds of the experimental farm "San Pablo", which is located at km 7.5 of the Babahoyo-Montalvo road. The objective of this work was to determine the reaction of seven advanced rice lines (*Oriza sativa* L. spp. Japan) to *M. graminicola* under nursery conditions in the Babahoyo area and establish the reproduction rate of *M. graminicola*. The lines studied were: Puyón / JP002 (P8-32-P8), Puyón / JP002 (P8-30-P55), Puyón / JP002 (P8-29-P32), Puyón / JP002 (P8-28-P93), Puyón / JP002 (P11-10-P31), Puyón / JP002 (P8-29-P49), Puyón / JP002 (P8-32-P35) compared to the commercial variety FL 011. These plants were inoculated 2500 J2 per plant with five repetitions. The lines were distributed in a randomized complete statistical design. For the evaluation and comparison of the treatments, the Tukey test was carried out at 95% significance. Number of gills per plant, population density of *M. graminicola* in roots and Nematode reproduction rates were evaluated.

The results determined that the seven lines tested and the commercial variety were highly susceptible to the root grater nematode *M. graminicola*. The nematode showed a high reproduction rate in the seven lines, since, in just 50 days after they entered the root, they reproduced 111 to 33 times the initial population.

Keywords: japan rice, Root-knot nematodes, *Meloidogyne graminicola*, resistance.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	2
1.1. Objetivo general	2
1.2. Objetivos específicos	2
II. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1. La biotecnología aplicada al mejoramiento de especies vegetales	3
2.2. Nematología en la agricultura.....	3
2.3. El arroz tipo japonica, indica y javanica	4
2.4. El nematodo agallador de raíces, <i>Meloidogyne</i>	4
2.4.1. Ciclo de vida de <i>M. graminicola</i>	5
2.4.2 Taxonomía del nematodo agallador (Cinco, 2001)	6
2.4.3. Síntomas de <i>M. graminicola</i> en arroz	6
2.4.4. Distribución de <i>M. graminicola</i>	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Ubicación y descripción del sitio experimental	9
3.2. Materiales y Equipos.....	9
3.3. Factores estudiados	10
3.4. Métodos	10
3.5. Tratamientos.....	10
3.6. Diseño experimental	10
3.7. Análisis funcional.....	10
3.8. Análisis de la varianza	11
3.9. Manejo del ensayo	11
3.9.1. Aislamiento de <i>M. graminicola</i>	11
3.9.2. Multiplicación masiva de <i>M. graminicola</i>	11
3.9.3. Semilleros de arroz	12

3.9.4. Trasplante del arroz.....	12
3.9.5. Inoculación con especímenes de <i>M. graminicola</i>	12
3.10. Datos evaluados.....	12
3.10.1 Número de agallas por planta.....	12
3.10.2 Densidad poblacional de <i>M. graminicola</i> en raíces	13
3.10.3 Índices de reproducción de <i>M. graminicola</i>	13
IV. RESULTADOS	14
4.1. Número de agallas por planta	14
4.2. Densidad poblacional de <i>M. graminicola</i> en raíces	15
4.3. Índices de reproducción de <i>M. graminicola</i>	16
V. DISCUSIÓN.....	17
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	18
VII. BIBLIOGRAFÍA	19
APÉNDICE	22

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Escala para evaluar grado de susceptibilidad de especies vegetales a <i>Meloidogyne</i> spp. (Taylor y Sasser (1983)).....	13
Cuadro 2. Número de agallas en las raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con <i>Meloidogyne graminicola</i>	14
Cuadro 3. Densidad poblacional de <i>M. graminicola</i> en raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con el nematodo.	15
Cuadro 4. Índice de reproducción de <i>M. graminicola</i> en siete líneas de arroz tipo japonico, inoculadas con el nematodo.	16
Cuadro 5. Promedios de la densidad poblacional de <i>M. graminicola</i> en raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con el nematodo.	22

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Siembra de arroz INIAP 15.....	23
Figura 2. Semillero de arroz INIAP 15	23
Figura 3. Germinación de Arroz INIAP 15.	23
Figura 4. Selección de semilla tipos japónica	23
Figura 5. Siembra de semilla tipo japónica.....	24
Figura 6. Sustratos para la siembra de semillas de arroz tipo japónica.	24
Figura 7. Establecimiento de las líneas de arroz tipo japónica en vivero.	24
Figura 8. Trasplante de arroz tipo japónica.	24
Figura 9. Riego de líneas de arroz.....	25
Figura 10.Extracción de raíces inoculadas con el nematodo <i>M. graminicola</i>	25
Figura 11. Observación de las agallas de <i>Meloidogyne graminicola</i>	25
Figura 12. Conteo de agallas en raíces de arroz.	25
Figura 13. Pesado de raíces de arroz.	26
Figura 14. Tamizado de nematodos.	26
Figura 15. Inoculación con el nematodo <i>M. graminicola</i>	26
Figura 16. Colocación de muestra para el conteo de nematodos.	26
Figura 17. Evaluación de población de nematodos en estereomicroscopio.	27

I. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oriza sativa* L.) es el cultivo más extenso e importante del Ecuador, ya que ocupa más de la tercera parte de la superficie de productos transitorios del país¹. Esta gramínea aporta alto contenido de calorías comparado con otros cereales y está presente en la mesa de la mayor parte de las familias a nivel mundial.

La provincia de Los Ríos cultiva una superficie significativa de la gramínea, ya que se considera al arroz como un producto de primera necesidad. Los sistemas de manejo de la producción arroceras dependen de la estación climática, zona de cultivo, disponibilidad de infraestructura de riego, ciclo vegetativo, tipo y clase de suelo niveles de explotación y tecnificación¹.

Los nematodos son un problema fitosanitario importante en la mayoría de los cultivos lo cual limitan los rendimientos. El nemátodo agallador de raíces, *Meloidogyne graminicola* es considerado un serio problema en las áreas arroceras del Ecuador, siendo éste uno de los factores limitantes de la producción de arroz en todos los ecosistemas que se desarrolla. Esto se debe a que al inyectar enzimas en las células cuando el nematodo se alimenta, la célula atacada y las que están a su alrededor reaccionan causándoles hipertrófia e hiperplasia que conduce a la formación de agallas o nódulos que destruyen a las raíces alterando el proceso metabólico de la planta. Al no tener la planta una buena nutrición por la destrucción de raíces, el rendimiento es bajo.

En la Provincia de Los Ríos se han registrado poblaciones muy altas del nemátodo en plantaciones de arroz ubicadas en la vía Vinces – Mocache, Montalvo, Babahoyo. En la Provincia del Guayas, está presente en Puerto Inca, Naranjal, el Triunfo, Mariscal Sucre, Yaguachi, Taura, Samborondón, Daule, Santa Lucía, Palestina, entre otros. Por el daño directo que causa el nemátodo en las raíces, las plantas no pueden absorber los nutrientes naturales del suelo, ni aprovechar los fertilizantes que se aplican.

¹Ecuador: El cultivo de arroz en la etapa invernal, 2017.

Es un endoparásito sedentario, ya que el nemátodo solamente se alimenta dentro de la raíz y permanece en un solo sitio. Se reproduce por partenogénesis, los huevos son expulsados en una masa gelatinosa o matriz, sobre la superficie de la corteza de la raíz; posee una tasa de reproducción que oscila entre 400 a 1200 huevos, durante su ciclo de vida y de cada uno sale un nematodo juvenil que es el segundo estadio (J2) que es el infectivo y el único que pasa parte de su vida en el suelo.

Según investigaciones realizadas por el INIAP, hasta la actualidad todas las variedades comerciales e híbridos que se siembran en Ecuador y las líneas que mantiene el banco de germoplasma del Programa de Arroz de este Instituto de Investigación, son susceptibles a *M. graminicola* (Información personal de la Dra. Triviño, 2019).

Por lo antes dicho, se realiza este trabajo orientado a la evaluación de la sensibilidad de nuevas líneas de arroz tipo japonico a la inoculación de *M. graminicola*, obtenidas en la Universidad Técnica de Babahoyo.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo general

Buscar material genético de arroz con resistencia al nematodo agallador de raíces, *M. graminicola*.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar el nivel de resistencia de siete líneas avanzadas de arroz tipo japonico a *M. graminicola*, mediante inoculación.
- Establecer el índice de reproducción de *M. graminicola*, en siete líneas de arroz japonico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. La biotecnología aplicada al mejoramiento de especies vegetales

La biotecnología conceptualmente es el uso de organismos vivos para crear o modificar otros organismos vivos con fines utilitarios. En su versión más simple, la biotecnología es la tecnología basada en la ciencia de la biología.

El hombre ha usado la biotecnología desde hace miles de años. Con los avances en diversas áreas científicas en relación al funcionamiento del ADN, se pueden modificar los distintos organismos para obtener nuevos productos y procesos (Coelho, 2019). La biotecnología vegetal permite que se transfiera de manera selectiva un gen o unos pocos genes que son deseables. Con una gran precisión, la técnica permite que los mejoradores puedan desarrollar nuevas variedades con caracteres específicos deseables y sin incorporar aquellos que no son deseados.

Estos nuevos caracteres desarrollados en las nuevas variedades defienden a las plantas de insectos, enfermedades y malas hierbas que pueden devastar el cultivo, y que antes no resistían. Otros incorporan mejoras de calidad, tales como frutas y legumbres más sabrosas; ventajas para su procesado; y aumento del valor nutritivo entre otras características (Infoagro, 2019). Se puede considerar también como la aplicación de la ciencia y la tecnología a las plantas, sus partes, con el fin de alterar materiales vivos para el desarrollo de conocimientos, bienes y servicios (Pizarro, 2014).

2.2. Nematología en la agricultura

Las ciencias nematológicas se divide en tres ramas principales que incluyen: nematología vegetal, parasitología animal y nematología de vida libre.

La Nematología “vegetal” estudia a los nemátodos del suelo, las pérdidas o beneficios que éstos pueden o no producir en los cultivos y el manejo razonable de sus poblaciones (Enciso, Salmerón, & Talavera, 2017).

Los nematodos fitoparásitos infligen daños indirectos a los cultivos al predisponer a las plantas a otros agentes fitopatógenos como bacterias y hongos patógenos, u otros microorganismos que habitan conjuntamente (Rau, 2019).

2.3. El arroz tipo japónica, indica y javánica

En la especie *Oryza sativa* L. es considerado tres grupos de arroz, estos son: “Indica”, “Japónica” y “Javanica”. Su origen probable, puede ser el resultado de las selecciones hechas mediante los procesos de domesticación de arrozeros silvestres, bajo diferentes condiciones de ambientes. Los arroces “Indica” y “Japónica” fueron considerados como subespecies de *Oriza Sativa* L, y ahora son considerados como razas ecogeográficas (Espol, 2019).

Las características más relevantes de las plantas de arroz tipo japónicas, se mencionan a continuación: tamaño bajo, con color de hojas verdes oscuras estrechas y con macollos a media altura, resisten al volcamiento y responden mejor al nitrógeno en su rendimiento. Los granos son cortos y redondos, no se rompen con facilidad, tienen bajo contenido de amilasa, haciéndolos húmedos, pegajosos y de color brillante.

Otras características que tiene, son: La sensibilidad a la temperatura y posee tolerancia a la sequía; han demostrado que cultivares de arroz tipo japonico crecen predominantemente en regiones templadas, y que las temperaturas bajas de 15-20 °C no afectan la germinación ni el crecimiento vegetativo, lo contrario que ocurre con los cultivares de tipo indica (McDonald, 1994).

Las raíces son del tipo fasciculadas, posee dos tipos de raíces: raíces seminales, que se originan de la radícula y son de una naturaleza temporal, y las raíces adventicias, que tienen una libre ramificación y se forman en los nudos inferiores del tallo joven.

2.4. El nematodo agallador de raíces, *Meloidogyne*

Los nematodos fitoparásitos representan un riesgo para la producción de los cultivos. La mayoría de estos se alimentan de las raíces y unas pocas especies se alimentan de tallos y frutos (Seminis, 2017). Algunas especies de nematodos pueden atacar y parasitar animales y al hombre, pueden causar distintas enfermedades. El resto, según sus hábitos alimentarios se pueden clasificar en varios grupos tróficos, como: saprófagos, omnívoros, depredadores, y parásitos de plantas. Todos ellos pueden ejercer cierto impacto en la producción agrícola, los “nematodos fitoparásitos” constituyen el grupo más importante por su acción patogénica (Perdomo, 2019).

Los nematodos fitoparásitos se dividen según su tipo de ubicación a la hora de alimentarse y realizar su ciclo de vida. Estos pueden endoparásitos y ectoparásitos. Los nematodos endoparásitos pasan parte o todo su ciclo de vida en el interior del tejido vegetal y se alimentan de él. En el grupo de los endoparásitos los hay migratorios y sedentarios como *M. graminicola*, Golden y Birchfiel, 1968.

2.4.1. Ciclo de vida de *M. graminicola*

En la variedad INIAP 415-Bolicho, el ciclo de vida del nemátodo fue de 34 días y en “Oryzica 1” de 30 días a temperatura de 27 a 30 °C (Triviño, C, 2007). Una temperatura de 22 a 29 °C, es adecuada para la prevalencia del nemátodo (Jain, Mathur, & Singh, 2007). El desarrollo de los nematodos está influenciado por el tipo de suelo, humedad, aireación y temperatura; además de la planta hospedante.

Según Lezaun (2016), las condiciones favorables para su desarrollo son: suelos ligeros con buena humedad, temperatura óptima de 25 a 30 °C son ideales para el crecimiento y desarrollo de *Meloidogyne*. Temperaturas inferiores a 15 °C o superiores a 33 °C interrumpen el desarrollo de las hembras que no llegan a completar su madurez.

Los nematodos del género *Meloidogyne* incuban sus huevos en las raíces de la planta; tienen cuatro etapas juveniles y cuatro mudas. El primer estadio juvenil se produce dentro del huevecillo, posteriormente sale e infecta a la planta. La etapa infectiva de este género es el juvenil dos “J2”, su apariencia es similar al nematodo

macho adulto, pero en menor tamaño. En la última muda, los nematodos se diferencian en hembras y machos adultos. La morfología del nematodo macho es vermiforme, móvil y no sé alimenta, la hembra tiene forma globosa y se vuelve sedentaria al momento de establecerse en la planta para de esta manera mantener una relación parásito-hospedero.

Los nutrientes que obtiene el nematodo hembra de la alimentación son destinados principalmente para la reproducción. Una característica de los nematodos hembra de este género es que pueden reproducirse mediante la partogénesis (Oxaca, 2018).

2.4.2 Taxonomía del nematodo agallador (Cinco, 2001)

La especie *M. graminicola* tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino:	Plantae
División:	Nematoda
Clase:	Secernentea
Orden:	Tylenchida
Superfamilia:	Tylenchoidea
Familia:	Heteroderidae
Género:	Meloidogyne
Especie:	<i>M. graminicola</i>

2.4.3. Síntomas de *M. graminicola* en arroz

El síntoma que causa el nematodo (J2) es la formación de agallas o nódulos en forma de gancho en las puntas de las raíces, esto se debe a la hipertrofia e hiperplasia que ocurre en las células cuando el nematodo inyecta sus enzimas al momento de alimentarse, los síntomas indirectos que provoca en las plantas es el

retraso del crecimiento y clorosis. En plantas muy infestadas hay maduración temprana de flores (Dutta, Powers, & Kerry, 2011).

En los campos de arroz de tierras altas y bajas infestadas por *M. graminicola*, cuando las plantas se encuentran en sus primeras etapas de desarrollo vegetativo, se pueden observar parches de plantas que muestran un crecimiento deficiente, pérdida de vigor, retraso del crecimiento, clorosis con sistemas de raíces afectados. Los síntomas pueden retroceder después de las inundaciones y la fertilización, ya que los parches son colonizados por la vegetación de las plantas en crecimiento y macollamiento. En esta etapa, los arrozales parecen ser más uniformes, pero las plantas infestadas muestran una pobre producción de cariopsis y espiguillas vacías. Estos síntomas se pueden observar más en los campos drenados que en los campos inundados. Las raíces infestadas pueden presentar hinchazones y agallas características en forma de gancho de diferentes formas y tamaños, se forman principalmente en las puntas de las raíces.

Se estima que *M. graminicola* puede disminuir el rendimiento del arroz en un 20 a 80%, dependiendo del modo de cultivo (inundado o seco), las condiciones ambientales y la estructura del suelo. La infestación severa y las agallas también pueden ser observadas en ciertas especies de maleza (Eppo, 2019).

2.4.4. Distribución de *M. graminicola*

Según Padgham et al (2004), *M. graminicola* es un nematodo de importancia económica en el cultivo de arroz en algunos países productores de la gramínea. Este nematodo es común en los trópicos y subtrópicos, donde infecta a numerosas gramíneas incluyendo al arroz (Vera, 2014).

También se menciona que *M. graminicola* fue encontrado en la Región de Piemonte en cultivos de arroz y en las siguientes especies de plantas silvestres: *Alisma plantago*, *Cyperus difformis*, *Echinochloa crus-gali*, *Heteranthera reniformis*, *Murdannia keisak* y *Panicum dichotomiflorum*. Por lo que se sabe, este es el primer informe de *M. graminicola* que parasita *C. rotundus* en Brasil, este registro tiene importancia para la producción de arroz, ya que la maleza *C. rotundus* podría

actuar como un reservorio potencial para *M. graminicola* en ausencia de cultivos hospedantes (Senasica, 2016). En Brasil hubo observaciones en plantas de *Cyperus rotundus* que mostraban muchas agallas en las raíces, con muestras representativas tomadas de áreas del condado de Santa María, Rio Grande do Sul, Brasil.

En el municipio de Buronzo (Provincia de Vercelli) y en otras dos localidades de la provincia de Biella (Mottalciata y Giffe) en Italia, *M. graminicola* se registró en campos de arroz. Éste nematodo también es un problema en arroz y trigo en Sudáfrica. Monitoreos efectuados en 33 campos arroceros de Sudáfrica determinaron que todos estuvieron infestados con esta especie de nematodo fitoparásito. También están causando pérdidas económicas en Brasil, Colombia, Filipinas, India, Indonesia, Tailandia, Bangladesh, Nepal, Pakistán, entre otros países (Pokhrel, 2007).

En Ecuador, *M. graminicola* se lo identificó por primera vez en el año 1987, en la hacienda “Sausalito” ubicada en el cantón Puerto Inca de la Provincia del Guayas en una plantación de arroz variedad “Oryzica 1”. En este mismo año, El INIAP, realizó monitoreos en las Provincias de Manabí, Guayas y Los Ríos y no hubo presencia del nematodo, en ninguna otra plantación sembrada con la gramínea.

Por el año 2000 ya se había diseminado en todas las zonas arroceras de la Provincia del Guayas, y en el 2002, se encontraba presente en la Provincia de Los Ríos. En el Oro, las densidades poblacionales del nemátodo fueron bajas y en Manabí no había presencia de este problema (Triviño & velasco, 2013). Actualmente, *M. graminicola* ya está presente en las plantaciones de arroz de Manabí (cantones sucre y Rocafuerte) y provincia de Loja (Zapotal y Macará) (Triviño, Navia-Santillán y Velasco, 2016).

Otros hospederos de *M. graminicola* son maíz (*Zea mays*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), las malezas caminadora, arroz rojo, *Echinochloa colona*, *E. crusgalli*, entre otras especies vegetales (Triviño, Navia y Velasco, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación y descripción del sitio experimental

Este Trabajo experimental se realizará en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el kilómetro 7 ½ de la vía Babahoyo-Montalvo. Las características geo-referenciadas del área son: provincia Los Ríos, cantón Babahoyo, parroquia Clemente Baquerizo, sitio San Pablo; altitud 8 msnm; Latitud 9 801.116 UTM, Longitud 668.673 UTM.

La zona presenta un clima tropical húmedo, con temperatura media anual de 25,7 °C, la precipitación media anual es de 1845 mm, humedad relativa 76 % y 804,7 horas de heliofanía promedio anual.

3.2. Materiales y Equipos

Materiales de laboratorio

Licuada

Bandejas plásticas

Ducha tipo teléfono

Picetas y pipetas

Vasos de precipitación de 100 y 250 ml

Cámaras contadoras de nematodos

Bomba de aire, Contadores – chequeadores

Tijeras, cuchillos y servilletas

Equipos de laboratorio

Estéreo microscopio

Tamices No.- 60 (250 µm), 100 (150 µm), 400 (25 µm).

Balanza

Materiales de vivero

Fundas de polietileno y regadera

Marcadores permanentes y etiquetas

Plantas de arroz

Suelo solarizado

3.3. Factores estudiados

Variables independientes: el nematodo *M. graminicola*.

Variable dependiente: siete líneas de arroz tipo japonico

3.4. Métodos

Se utilizarán los métodos: deductivo-inductivo, inductivo-deductivo y el diseño experimental.

3.5. Tratamientos

Los tratamientos estudiados son ocho, siete líneas avanzadas de arroz de la subespecie japónica y un testigo (var. comercial), como se detalla a continuación.

Tratamientos		Inóculo (Pi)
Líneas	Origen	<i>M. graminicola</i> (J2)/planta
1. PUYON/JP002	(P8-32-P8)	2500
2. PUYON/JP002	(P8-30-P55)	2500
3. PUYON/JP002	(P8-29-P32)	2500
4. PUYON/JP002	(P8-28-P93)	2500
5. PUYON/JP002	(P11-10-P31)	2500
6. PUYON/JP002	(P8-29-P49)	2500
7. PUYON/JP002	(P8-32-P35)	2500
8. FL 011	FLAR	2500

3.6. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó en este trabajo fue el completo al azar, con 8 tratamientos y 5 repeticiones.

3.7. Análisis funcional.

Para la evaluación y comparación de la media de tratamientos se utilizó la prueba de Tukey al 5 % de significancia.

3.8. Análisis de la varianza

Para determinar la diferencia estadística entre las líneas probadas y el testigo, se realizó el análisis de varianza, para ello, los datos originales se transformaron a Log x. El análisis se basó en el siguiente esquema:

Fuente de variación	Grados de libertad
Repeticiones	4
Tratamientos	7
Error experimental	28
Total	39

3.9. Manejo del ensayo

Se realizaron todas las actividades que se requiere para el desarrollo de este trabajo como se describe a continuación:

3.9.1. Aislamiento de *M. graminicola*

En campos de producción se colectaron plantas de arroz con las raíces infestadas con *M. graminicola*. De estas se tomaron los pedazos de raíces que presentaron agallas, síntoma de presencia del nematodo. Se licuaron a baja velocidad y se extrajeron los nematodos para proceder a la multiplicación masiva y disponer de suficientes especímenes del nematodo (J2) para la inoculación de los ocho materiales.

3.9.2. Multiplicación masiva de *M. graminicola*

A 20 plántulas de arroz de la variedad INIAP 15, de 15 cm de altura, previamente sembradas en fango, se le colocó alrededor de las raíces 20 ml de la solución agua-nematodos obtenida en el punto anterior. A estas plantas se las mantuvo en macetas durante 45 días, para después extraer los nematodos y realizar el proceso de inoculación en los tratamientos.

3.9.3. Semilleros de arroz

Se hizo pequeños semilleros de los ocho materiales de arroz en bandeja germinadora en suelo solarizado, durante este tiempo se las regó según la exigencia de las plantas.

3.9.4. Trasplante del arroz.

El trasplante de los materiales de arroz se realizó aproximadamente a los 25 días de emergidas las plántulas. Se llenaron 40 fundas de polietileno con suelo agrícola solarizado, las dimensiones de las fundas fueron de 25 x 30 cm.

3.9.5. Inoculación con especímenes de *M. graminicola*.

La inoculación de los ocho materiales de arroz se realizó a los 5 días de trasplante. Alrededor de las raíces de las plantas en cada funda se colocó 2500 juveniles del segundo estadio (J2). Durante las dos primeras semanas se mantuvo el suelo con humedad en capacidad de campo, posteriormente se las regó en forma normal. A los 50 días se extrajeron las plantas para evaluar los datos que midieron la resistencia y/o susceptibilidad de los cultivares de arroz.

3.10. Datos evaluados

Los datos que se evaluaron para determinar la susceptibilidad de los materiales de arroz al nematodo fueron los siguientes:

- Número de agallas por planta
- Densidad poblacional de *M. graminicola* en las raíces
- Índices de reproducción de *M. graminicola*.

3.10.1 Número de agallas por planta

A los 50 días de inoculados los nematodos, se extraerán las plantas con todas las raíces, se lavaron con cuidado utilizando agua común, se contó el número de agallas o nódulos. Los resultados fueron comparados con la escala de Taylor y Sasser (1983) como se indica en Cuadro 1.

Cuadro 1. Escala para evaluar grado de susceptibilidad de especies vegetales a *Meloidogyne* spp. (Taylor y Sasser (1983).

Grados	Agalla/planta	Nivel de Susceptibilidad
0	0	Inmune (I)
1	1-3	Resistente (R)
2	4-10	Moderadamente Resistente (MR)
3	11-30	Moderadamente Susceptible (MS)
4	31-100	Susceptible (S)
5	➤ 100	Altamente Susceptible (AS)

3.10.2 Densidad poblacional de *M. graminicola* en raíces

Después de evaluado el número de agallas en las raíces, éstas se cortaron en pedazos de 1 cm y se pesaron para la extracción de los nematodos. Se utilizó el método de “Licuado - Tamizado” (Triviño, Navia-Santillán y Velasco, 2013). Consistió en colocar las raíces en una licuadora con 100 ml de agua común, se licuaron a velocidad baja en dos etapas de 10 segundos cada una, con cinco segundos de intermitencia entre ellas.

El licuado se pasó por tres tamices sobrepuestos, de arriba hacia debajo de números 60 (250 µm), 100 (150 µm) y 400 (25 µm). El primer y segundo tamiz se lavó por un minuto cada uno, el sedimento contenido en el tamiz No. 500 se recolectó en un vaso de precipitación para el cual se lavó con una piceta y se aforó en 100 ml, se homogenizó con una bomba de aire (usada en peceras) y se tomó una alícuota de 2 ml para el conteo de nematodos en un estereomicroscopio con ayuda de contadores - chequeadores. Por cálculo matemático, el valor obtenido se lo llevó a 10 g de raíces.

3.10.3 Índices de reproducción de *M. graminicola*.

El índice de reproducción (IR) de *M. graminicola* en los materiales de arroz se determinó dividiendo la densidad poblacional final (Pf) del nematodo obtenida en las raíces entre la población inicial que fueron los 2500 J2 inoculados (Pi), es decir que $IR = \text{población final}/2500$.

IV. RESULTADOS

4.1. Número de agallas por planta

Según los resultados presentados en el Cuadro 2, las siete líneas de arroz provenientes del cruzamiento de los cultivares Puyón & Japónica, son altamente susceptible (AS) al nematodo agallador de raíces *M. graminicola*, esto en función de la escala de Taylor y Sasser (1978) calificada de 0 a 5 ya que el valor de número de agallas/planta está sobre 100.

Cuadro 2. Número de agallas en las raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con *Meloidogyne graminicola*.

No.	Cultivares	Número de agallas/planta					Promedio	Susceptibilidad
		I	II	III	IV	V		
1.	Puyon/JP002- P8-28-P93	152	123	215	176	248	183	AS
2.	Puyon/JP002 P8-29-P32	106	128	114	90	110	110	AS
3.	Puyon/JP002 P8-29-P49	138	177	119	223	100	151	AS
4.	Puyon/JP002- P8-32-P8	790	380	579	118	237	421	AS
5.	Puyon/JP002 P8-32-P35	179	158	283	148	170	188	AS
6.	Puyon/JP002 P8-30-P55	353	228	233	294	320	286	AS
7.	Puyon/JP002 P11-10-P31	127	126	93	111	106	113	AS
8.	FL 011 (Testigo)	300	243	120	150	105	184	AS

Escala de Taylor y Sasser: 0 gallas/planta = Inmune (I); 1-3 agallas/planta = Resistente (R); 4 -10 agallas = Moderadamente resistente (MR); 11-30 agallas/planta = Moderadamente susceptible (MS); 31 - 100 agallas/planta = Susceptible (S); > 100 agallas/planta = Altamente susceptible (AS).

4.2. Densidad poblacional de *M. graminicola* en raíces

Según los resultados presentados en el Cuadro 3, las líneas Puyon/J002 (P8-32-P8) es estadísticamente igual al testigo FL 011 con las densidades poblaciones más altas en las raíces entre todos los cultivares estudiados y solo fueron estadísticamente diferentes de las líneas Puyon/JP002 (P8-32-P35) y Puyon/JP002 (P11-10-P31) con las densidades poblaciones más bajas. Las otras líneas se presentaron estadísticamente igual a estos dos grupos.

Cuadro 3. Densidad poblacional de *M. graminicola* en raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con el nematodo.

No.	Cultivares	<i>M. graminicola</i> (J2) 10 g raíces					Promedio
		I	II	III	IV	V	
1.	Puyon/JP002 -P8-32-P8	892000	217500	100000	28571	156667	278 948 a
2.	Puyon/JP002 -P8-28-P93	51333	30000	73846	151087	186667	98 587 ab
3.	Puyon/JP002 P8-29-P49	213000	237097	208378	275000	81429	202 981 ab
4.	Puyon/JP002 P8-29-P32	287234	34054	143000	322642	400000	237 386 ab
5.	Puyon/JP002 P8-32-P35	57500	52500	64286	195833	42000	82 424 b
6.	Puyon/JP002 P11-10-P31	20000	72000	63333	69841	158571	76 749 b
7.	Puyon/JP002 P8-30-P55	201875	84000	34000	163888	89545	114 662 ab
8.	FL 011 (Var. Comercial)	437500	111364	291667	187273	370000	279 561 a
C.V. (%)							7.06
Significancia estadística							*

Para el análisis estadístico, los datos originales se transformaron a Log x

4.3. Índices de reproducción de *M. graminícola*.

En el Cuadro 4 se evidencia que *M. graminícola* tiene un alto índice de reproducción en las siete líneas de arroz probadas. Los materiales con el nivel de reproducción más alto son Puyon/JP002-P8-32-P8 y la variedad comercial FL-009 (testigo), en las que el nematodo se multiplicó 111 y 112 veces más respectivamente a la población inoculada (2500 J2). Los materiales con el menor índice de reproducción son Puyon/JP002P8-32-P35 y Puyon/JP002 P11-10-P31, sin embargo es importante indicar que estos IR en la práctica son muy altos, toda vez que en el siguiente ciclo del cultivo cada individuo será una hembra que reproducirá 1200 individuos más.

Cuadro 4. Índice de reproducción de *M. graminícola* en siete líneas de arroz tipo japonico, inoculadas con el nematodo.

No.	Cultivares	Población de <i>M. graminícola</i> (J2)		IR
		<i>P_f</i>	<i>P_i</i>	
1.	Puyon/JP002- P8-32-P8	278 948	2500	111
2.	Puyon/JP002- P8-28-P93	98 587	2500	39
3.	Puyon/JP002- P8-29-P49	202 981	2500	81
4.	Puyon/JP002- P8-29-P32	237 386	2500	95
5.	Puyon/JP002- P8-32-P35	82 424	2500	33
6.	Puyon/JP002- P11-10-P31	76 749	2500	31
7.	Puyon/JP002- P8-30-P55	114 662	2500	46
8.	FL 011 (Var. Comercial)	279561	2500	112

IR = P_f/P_i (Índice de reproducción) = Población final/Población inicial.

V. DISCUSIÓN

En este trabajo experimental se esperaba al menos un cultivar con resistencia al nematodo *M. graminícola*, ya que estas nuevas líneas fijan las características más relevantes provenientes del cruzamiento de los cultivares Puyón & Japónica, toda vez que el Puyón es una especie silvestre con particulares características. No obstante, estos resultados siguen el mismo patrón obtenido en varios estudios similares realizados con las variedades comerciales y líneas promisorias del germoplasma del Programa de Arroz del INIAP, la mayoría correspondientes al grupo “Indica” (Triviño, 2016).

La necesidad de una variedad resistente se da, ya que *Meloidogyne* es un nematodo que puede provocar pérdidas económicas bastantes considerables, como lo indica Eppo (2019). Se estima que *M. graminicola* puede disminuir el rendimiento del arroz en un 20 a 80%, dependiendo del sistema de siembra del cultivo (inundado o seco), las condiciones ambientales y la estructura del suelo.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados se concluye:

- Las siete líneas de arroz que provienen del cruzamiento de los cultivares Puyón & Japónica: Puyón/JP002 (8-32-P8); Puyón/JP002 (P8-30-P55); Puyón/JP002 (P8-29-P32); Puyón/JP002 (P8-28-P93); Puyón/JP002 (P11-10-P31); Puyón/JP002 (P8-29-P49); Puyón/JP002 (P8-32-P35) tienen alta susceptibilidad al nematodo agallador de raíces, *M. graminicola*.
- *M. graminicola* tiene un alto índice de reproducción en las siete líneas de arroz probadas, en tan solo 50 días después que el nematodo ingresa a la raíz, este fluctúa de 111 a 33 veces más la población inicial.

De acuerdo a las conclusiones se recomienda:

- Tomar en consideración estos resultados en trabajos futuros en la que se utilicen a estos materiales ya sea como líneas avanzadas o como variedad.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Cinco, L. (2001). Especies Importantes del Género *Meloidogyne* . *Division de Agronomia* , 84.
- Coelho, F. (29 de 08 de 2019). *Todamateria*. Obtenido de Todamateria:
<https://www.todamateria.com/biotecnologia/>
- Coyne , D., Nicol, M., & Cole, B. (2009). Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio. *Instituto Internacional de Agricultura*, 1.
- Dutta, T., Powers, S., & Kerry, B. (2011). Comparison of host recognition, invasion, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* and *M. Incognita* on rice and *M. Incognita* on rice and tomato. *Journal of Nematology*, 509-520.
- Enciso, A., Salmerón, T., & Talavera, M. (2017). *Iniciacion en la nematologia*. Murcia.
- Eppo. (31 de 08 de 2019). Obtenido de Eppo:
https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/alert_list_nematodes/meloidogyne_graminicola
- Espol. (09 de 07 de 2019). Obtenido de
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/3093/1/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000021.pdf>
- Infoagro. (09 de 07 de 2019). *Http://www.infoagro.com*. Obtenido de
<http://www.infoagro.com>:
http://www.infoagro.com/semillas_viveros/semillas/biotecnologia.htm
- Jain, R., Mathur, K., & Singh, R. (2007). Estimation of losses due to plant parasitic nematodes on different crops in India. *Ind. J. Nematol*, 219-220.
- Lezaun , J. (04 de 2016). *Croplifela*. Obtenido de croplifela:
<https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos>

- Mcdonald, D. (1994). Temperate rice technology for the 21st century: an Australian example. *Australian Journal of experimental Agriculture*, 877-888.
- Oxaca, O. (11 de 09 de 2018). *Fertilab*. Obtenido de fertilab: <https://www.fertilab.com.mx/blog/281-importancia-del-genero-meloidogyne/>
- Padgham, J.L., Duxbury, J.M., Mazid, A. M., Abawl, S., and Hossain, M. 2004. Yield losses by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. *Journal of Nematology* 36:42-48.
- Perdomo, J. (31 de 08 de 2019). *Croplifela*. Obtenido de croplifela: <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos>
- Pizarro, j. (25 de 11 de 2014). *Agriculturers*. Obtenido de agriculturers: <http://agriculturers.com/que-es-la-biotecnologia-vegetal-y-su-importancia/>
- Pokhrel, R. (2007). Characterization of Isolates of *Meloidogyne* from Rice-Wheat Production Fields in Nepal. *Journal of Nematology*, 221-230.
- Rau, U. (09 de 01 de 2019). *Iari*. Obtenido de iari: https://www.iari.res.in/index.php?Option=com_content&view=article&id=321&Itemid=1226
- Seminis. (17 de 10 de 2017). <https://www.seminis.mx>. Obtenido de <https://www.seminis.mx>: <https://www.seminis.mx/blog-que-son-los-nematodos/>
- Senasica. (1 de 12 de 2016). Obtenido de senasica: <http://sinavef.senasica.gob.mx/ALERTAS/inicio/pages/single.php?Noticia=2245>
- Senasica. (21 de 04 de 2019). Obtenido de senasica: <http://sinavef.senasica.gob.mx/ALERTAS/inicio/pages/single.php?Noticia=3863#>
- Triviño, & velasco. (2013). Problemas afectan producción de arroz. *Revista Informativa INIAP*, 17.

- Triviño, C.G, Navia-Santillán. D.F., Velasco, L.A. 2013. Guía para reconocer daño en raíces y métodos de muestreo y extracción de nemátodos en raíces y suelo. Yaguachi, EC. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Litoral Sur Dr. Enrique Ampuero Pareja. Boletín Divulgativo No. 433. 17pp.
- Triviño, C. (2007). Manejo de los principales nemátodos fitoparasitos en el cultivo de arroz. *Manual del Cultivo de Arroz*, 115-118.
- Triviño, C., Navia-Santillán D. & Velasco, L. (2016). Plant -parasitic nematodes associated with rice in Ecuador. *NEMATROPICA*, 46 (1): 45-53.
- Vera, G. (2014). Eficacia de Nematon y Paecilomyces lilacinus en el desarrollo vegetativo de la planta de arroz y manejo de Meloidogyne graminicola en condición de invernadero. *FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO*, 6.

APÉNDICE

Cuadro 5. Promedios de la densidad poblacional de M. graminicola en raíces de siete líneas de arroz tipo japonico inoculadas con el nematodo.

No.	Cultivares	<i>M. graminicola</i> (J2) 10 g raíces					Promedio
		I	II	III	IV	V	
1.	Puyon/JP002- P8-32-P8	892000	217500	100000	28571	156667	278 948
2.	Puyon/JP002- P8-28-P93	51333	30000	73846	151087	186667	98 587
3.	Puyon/JP002 P8-29-P49	213000	237097	208378	275000	81429	202 981
4.	Puyon/JP002 P8-29-P32	287234	34054	143000	322642	400000	237 386
5.	Puyon/JP002 P8-32-P35	57500	52500	64286	195833	42000	82 424
6.	Puyon/JP002 P11-10-P31	20000	72000	63333	69841	158571	76 749
7.	Puyon/JP002 P8-30-P55	201875	84000	34000	163888	89545	114 662
8.	FL 011	437500	111364	291667	187273	370000	279561

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
<i>M. graminicola</i> (J2)	40	0,30	0,14	7,06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	1,72	7	0,25	1,91	0,1000
CULTIVARES	1,72	7	0,25	1,91	0,1000
Error	4,10	32	0,13		
Total	5,82	39			



Figura 1. Siembra de arroz INIAP 15



Figura 3. Germinación de Arroz INIAP 15.



Figura 2. Semillero de arroz INIAP 15



Figura 4. Selección de semilla tipos japónica



Figura 5. Siembra de semilla tipo japónica.



Figura 7. Establecimiento de las líneas de arroz tipo japónica en vivero.



Figura 6. Sustratos para la siembra de semillas de arroz tipo japónica.



Figura 8. Trasplante de arroz tipo japónica.



Figura 9. Riego de líneas de arroz



Figura 11. Observación de las agallas de Meloidogyne graminicola.



Figura 10. Extracción de raíces inoculadas con el nematodo M. graminicola.



Figura 12. Conteo de agallas en raíces de arroz.



Figura 13. Pesado de raíces de arroz.



Figura 15. Inoculación con el nematodo *M. graminicola*



Figura 14. Tamizado de nematodos.



Figura 16. Colocación de muestra para el conteo de nematodos.



Figura 17. Evaluación de población de nematodos en estereomicroscopio.