

## Efecto de fungicidas sobre las características fisiológicas y sanitarias de semillas de arroz durante el almacenamiento

### Effect of fungicides on the physiology and health characteristics of rice seeds during storage

M. Morales, H. Moratinos, T. Gonzalez y P. Madriz

Instituto de Agronomía. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela (UCV). Maracay, Aragua.

#### Resumen

Para evaluar el efecto de dos fungicidas sobre la calidad fisiológica y sanitaria de semillas de arroz, de las variedades Cimarrón y FONAIAP 1, bajo condiciones de almacenamiento, fueron conducidos experimentos en laboratorio y campo. Se trataron muestras de semillas de cada variedad con los fungicidas fludioxonil 2 L.Tm<sup>-1</sup> de semillas (25 g i.a.L<sup>-1</sup>); carboxin+ thiram 250 mL.100 kg<sup>-1</sup> (200 g i.a.L<sup>-1</sup>) y como testigo se usó agua destilada. Dichas muestras se almacenaron bajo condiciones de 11°C y 76% humedad relativa (RH) durante 240 días. Las variables fueron medidas en un diseño de experimentos completamente aleatorizado, en un arreglo factorial formado por variedad a dos niveles (Cimarrón y FONAIAP 1), fungicida con tres niveles (fludioxonil, carboxin+thiram y testigo tratado con agua) y días de almacenamiento con 12 niveles (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días), con cuatro repeticiones. Se estimaron los porcentajes de germinación y de vigor por varias metodologías. Se determinó además, la incidencia de hongos, a través del método de papa dextrosa agar. Se encontró que la biomasa seca del epicótilo de las plántulas tratadas con fludioxonil fue superior a las tratadas con carboxin+thiram y el testigo. Las semillas tratadas con fludioxonil y carboxin+thiram presentaron menor incidencia del hongo *Fusarium moniliforme* que las semillas no tratadas. Durante el tiempo de almacenamiento, la germinación de las semillas fue mayor a 80%. El tratamiento de las semillas de arroz con fungicidas no afectó la calidad fisiológica y mejoró la sanitaria.

**Palabras clave:** *Oryza sativa*, variedades, fludioxonil, carboxin+thiram, hongos.

## Abstract

Laboratory and field test were carried out in order to evaluate the effect of two fungicides on physiology and health quality of Cimarron and FONAIAP 1 rice seeds varieties, under storage conditions. Samples of each cultivar were treated with fludioxonil at 2 L·Tm<sup>-1</sup> of seed (25 g a.i·L<sup>-1</sup>), carboxin+thiram at 250 mL·100 kg<sup>-1</sup> of seed (200 g a.i·L<sup>-1</sup>) and untreated control with distilled sterile water was used. The samples were stored at 11°C and 75% relative humidity (RH) for 240 days. The variables were measured in a completely randomized design, with four replications, in a factorial arrangement: where varieties were at two levels (Cimarrón and FONAIAP 1), the fungicides at three levels (fludioxonil, carboxin+thiram and the untreated control with distilled water) and twelve levels of storage (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days). There were estimated germination percentage and vigor throughout several methodologies. In addition, it was determined the seed fungal incidence with agar plate (potato-dextrose-agar) method. The epicotyls dry biomass of seedling treated with fludioxonil was higher than those treated with carboxin+thiram and untreated control. The seeds treated with fludioxonil and carboxin+thiram presented lower incidence of *Fusarium moniliforme* than untreated seeds. During storage conditions, the seed germination was greater than 80%. Among seeds treated with fludioxonil and carboxin+thiram, the incidence of *Fusarium moniliforme* decreased. The treatment of rice seeds with fungicides did not affect their physiology and increased the health quality.

**Key words:** *Oryza sativa*, cultivars, carboxin+thiram, fludioxonil, fungi.

## Introducción

El arroz es uno de los cultivos alimenticios más importantes en Venezuela y el mundo. Su producción es afectada por varios factores, entre los que destaca la presencia de patógenos en las semillas, lo cual causa daños y reducciones en la calidad fisiológica y producción del cultivo (Delgado *et al.*, 2002, Pineda *et al.*, 2007). El tratamiento de las semillas con fungicidas tiene como fin desinfectarlas y protegerlas de patógenos presentes en ellas o en el suelo, estimular la emergencia, el crecimiento de plántulas vigorosas y, en consecuencia, la formación de una población de plantas adultas productivas (Quirós y Carrillo, 2009).

## Introduction

Rice is one of the most important crop in Venezuela and worldwide. Its production is affected by different factor, among these the presence of pathogens in the seeds, which causes damages and reductions in the physiological quality and production of the crop (Delgado *et al.*, 2002; Pineda *et al.*, 2007). The treatment of seeds with fungicides has as objectives disinfect them and protect them from pathogens present on these or in the soil, to stimulate the emergency, the growth of vigorous seedlings and consequently, the formation of a population of productive adult plants (Quirós and Carrillo, 2009).

Se ha indicado que el almacenamiento de las semillas por largos periodos de tiempo es una forma de control de enfermedades fungosas, por inactividad del hongo. No obstante, esto no se cumple para algunos como es el caso de *Bipolaris oryzae* (Ojeda y Subero, 2004); por lo tanto, se hacen necesario de otros métodos de control como el químico.

Los fungicidas pueden actuar como preventivos, curativos y/o erradicantes; asimismo, se pueden aplicar, según el caso, antes o después de que ocurra la infección (Muñoz y Gamboa, 1998).

En el mercado de agroquímicos venezolano, existen fungicidas de uso frecuente en el tratamiento de semillas en varios cultivos, como la mezcla formulada de carboxin+thiram (Vitavax 200®), cuya acción es de contacto y sistémica, el cual se usa sólo o en combinación con protectores y/o soluciones sintéticas, para el control y/o prevención del desarrollo de enfermedades causadas por hongos que atacan las semillas y plántulas. Entre los organismos que controla se encuentran: *Rizoctonia* sp., *Phyitium* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Bypolaris oryzae*, *Antracnosis* sp., y *Rosellinia* sp. (Arsego *et al.*, 2006).

Otros fungicidas de introducción más reciente como el fludioxonil (Celest®), perteneciente a la clase química fenilpirrol, ha sido desarrollado para prolongar el período de control del tratamiento químico en la semilla. Este es un antibiótico producido por varias especies de *Pseudomonas* y posee amplio espectro de control de patógenos, especialmente hongos Ascomycetos y Deuteromicetos. El

It has been said that the seed storage for long periods is a way to control fungi diseases, by the inactivity of the fungi. Nevertheless, this is not the same for *Bipolaris oryzae* (Ojeda y Subero, 2004); therefore, it is necessary other control methods such as the chemical.

Fungicides might act as preventive, curative and/or eradivative, likewise, can be applied, according to the case, before or after occurs the infection (Muñoz and Gamboa, 1998).

In the market of agro-chemicals of Venezuela, there are fungicides of frequent use in the treatment of seeds in different crops, as the formulated mix of carboxim+thiram (Vitavax 200®), which action is of contact and systemic, and is used alone or in combination with other protectors and/or synthetic solutions for the control and/or prevention of the development of diseases caused by fungi that attack the seeds and seedlings. Among the organisms that control are: *Rizoctonia* sp., *Phyitium* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Bypolaris oryzae*, *Antracnosis* sp., and *Rosellinia* sp. (Arsego *et al.*, 2006).

Others fungicides of more recent introduction as fludioxonil (Celest®), belonging to the chemical class of Phenylpyrroles, has been developed to prolong the control period of the chemical treatment in the seed. This is an antibiotic produced by different species of *Pseudomonas* and has a wide spectrum in the control on pathogens, specially the ascomycete and deuteromycete fungi. The action mode of fludioxonil is related to the transport process of the cell membrane (Hilber *et al.*, 1995).

modo de acción del fludioxonil está relacionado con el proceso de transporte de la membrana celular (Hilber *et al.*, 1995).

Muchos hongos, especialmente aquellos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, afectan las semillas durante el almacenamiento, debido a que estos agentes patógenos están adaptados a vivir en sustratos en equilibrio con humedades relativas del aire, que oscilan entre 65 y 90% (Pacheco, 1988).

Con base a lo referido, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos fungicidas (fludioxonil y carboxin+thiram), sobre la calidad fisiológica y sanitaria de semillas de arroz, de las variedades Cimarrón y FONAIAP 1, bajo condiciones de almacenamiento.

## Materiales y métodos

El trabajo fue conducido en los laboratorios de semillas, patología de semillas y microbiología y en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Las variedades de arroz utilizadas fueron Cimarrón y FONAIAP 1. Los productos químicos empleados para la evaluación fueron los fungicidas fludioxonil (Celest<sup>®</sup>), 2 L.Tm<sup>-1</sup> de semillas, (25 g i.a.L<sup>-1</sup> y carboxin + thiram, (Vitavax 200<sup>®</sup>), a una dosis de 250 mL.100 kg<sup>-1</sup> (200 g i.a.L<sup>-1</sup>). Como testigo se usó agua destilada. Antes de aplicar los tratamientos, se tomaron 33 kg de semillas de cada variedad, las cuales se fraccionaron en tres muestras de 11 kg cada una. Las muestras de 11 kg

Many fungi, especially those belonging to the *Aspergillus* and *Penicillium* genre affect the seed during the storage, due to these pathogens agents are adapted to live in substrate in equilibrium with relative humidity of the air, that oscillate from 65 to 90% (Pacheco, 1988).

Because of the latter, the objective of this research was to evaluate the effect of two fungicides (fludioxonil and carboxin+thiram), on the physiological and sanitary quality of rice's seeds, of the varieties Cimarrón and FONAIAP 1, under storage conditions.

## Materials and methods

The research was carried out at the seeds, pathology of seeds and microbiology laboratories, and at the Experimental Field of the Agronomy Faculty of "Universidad Ventral de Venezuela", Maracay, Aragua state, Venezuela.

The varieties of rice used were Cimarrón and FONAIAP 1. The chemical products employed for the evaluation of fungicides were fludioxonil (Celest<sup>®</sup>), 2 L.Tm<sup>-1</sup> of seeds (25 g i.a.L<sup>-1</sup> and carboxin + thiram, (Vitavax 200<sup>®</sup>), at a dose of 250 mL.100 kg<sup>-1</sup> (200 g i.a.L<sup>-1</sup>), and as witness was used distilled water. Before applying the treatments, 33 kg of seeds of each variety were taken, which were fractioned in three samples of 11 Kg of each. The samples of 11 kg each were put in plastic bags and closed and stored in a cooler under controlled conditions of 11°C and 76% of HR from day 5 to day 240. To evaluate the effect

tratadas y no tratadas con los fungicidas fueron subdivididas en muestras de un kg cada uno, colocadas en bolsas de papel debidamente cerradas y almacenadas en una cava, bajo condiciones controladas de 11°C y 76% de HR desde los 5 hasta 240 días. Para evaluar el efecto de la aplicación de los fungicidas durante el almacenamiento, las variables medidas fueron evaluadas en un diseño de experimento completamente aleatorizado, en un arreglo factorial, donde los factores y niveles de estudio fueron: variedad a dos niveles (Cimarrón y FONAIAP 1), fungicida a tres niveles (fludioxonil, carboxin+thiram y el testigo (agua)) y los días de almacenamiento (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días), con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 100 semillas.

### **Determinación de la germinación**

Se utilizó la prueba de germinación estándar (ISTA, 1993), para todas las fechas de evaluación. Una vez retiradas de almacenamiento, se colocaron a pre germinar las semillas en agua destilada por un período de 24 horas. La prueba de germinación se realizó colocando en el fondo de cada envase una malla de 15 cm x 10 cm a una altura de 2 cm, se cubrió con dos capas de papel absorbente y sobre ellas se sembraron las semillas. Luego los envases y bandejas fueron llevados a un cuarto de germinación con temperatura media de 27°C y 90% HR. El primero y segundo conteo de plántulas normales se efectuó a los 7 y 14 días después de la siembra (dds), respectivamente.

### **Determinación de vigor**

En esta prueba se varió el número de semillas por unidad experimen-

of the application of fungicides during the storage, the measure variables were evaluated in a plot randomized design, where factors and levels of study were: variety at two levels (Cimarrón and FONAIAP 1), fungicide at three levels (fludioxonil, carboxin+thiram and the witness (water)) and the storage days (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days), with four replications. The experimental unit was constituted by 100 seeds.

### **Determination of germination**

The test of standard germination (ISTA, 1993) was used for all the evaluation dates. Once retired from the storage, seeds were put to pre-germinate in distilled water for 24 hours. The germination test was done putting at the bottom of each jar a nest of 15 cm x 10 cm at a height of 2 cm, was covered with two layers of absorbent paper and on these were sowed the seeds. Later, the jars and trays were taken to a germination room with a medium temperature of 27°C and 90% HR. The first and second counting of normal seedlings were done within 7 and 14 days after the sow (dds) respectively.

### **Determination of the vigor**

In this test was varied the number of seeds per experimental unit, as detailed in each of the following methods:

A. Growth and evaluation of seedlings (Perry, 1977)

In this test, were used official germination towel paper (38.3 cm x 25.7 cm), wet with distilled water. 25 pre germinated seeds were used and were sowed putting them on a straight horizontal line at 6.5 cm

tal, como se detalla en cada uno de los siguientes métodos:

A. Crecimiento y evaluación de plántulas (Perry, 1977)

En esta prueba se usaron toallas de papel oficial de germinación (38,3 cm x 25,7 cm), humedecidos con agua destilada. Se utilizaron 25 semillas pre germinadas y se sembraron colocándolas sobre una línea recta horizontal a 6,5 cm, aproximadamente, del borde superior del papel. Se cubrieron con otra toalla del mismo papel, se enrollaron en forma de cilindro, para constituir la “muñeca”, y se dobló la parte inferior hacia arriba (2 a 3 cm aproximadamente), sujetando los cilindros en pareja con una goma elástica. Seguidamente, se colocaron en posición vertical en envases que fueron llevados a un cuarto de germinación, a una temperatura de 27°C y 90% de HR, aproximadamente.

Las variables medidas fueron:

1) Número de plántulas normales: expresado en porcentaje, siete días después de la siembra (dds).

2) Longitud de la parte aérea, desde la base del epicótilo hasta el extremo superior de la hoja más larga (cm) a los siete y 14 dds.

3) Longitud de la radícula (cm): se midió desde la base del epicótilo hasta el extremo de la radícula a los siete y 14 dds.

4) Biomasa seca de la parte aérea (mg) a los siete y 14 dds.

5) Biomasa seca de la parte radical (mg) a los siete y 14 dds.

B. Envejecimiento acelerado

El método empleado fue el propuesto por Delouche y Baskin (1973). Se utilizaron 100 semillas por unidad experimental y cada una fue sometida a estrés calórico de 42°C y 100% de HR,

aproximadamente, from the superior border of the paper. Were covered with other towel of the same paper, rolled in a cylinder shape to constituted the “doll”, and the inferior part was folded up (2 to 3 cm approximately), holding the cylinders in pairs with an elastic plastic tape. Later, were put in a vertical position in jars that were carried to the germination room, at a temperature of 27°C and 90% of HR, approximately.

The variables measured were:

1) Number of normal plants: expressed in percentage, seven days after the sow (dds)

2) Longitude of the air part from the epicotyls until the superior extreme of the longest leave (cm) within 7 and 14 dds

3) Longitude of the radicle (cm): was measured from the base of the epicotyls to the extreme of the radicle within 7 to 14 dds

4) Dry biomass of the air part (mg) within 7 and 14 dds

5) Dry biomass of the radicle part (mg) within 7 and 14 dds

B. Accelerated elderly process

The employed method was the one proposed by Delouche and Baskin (1973). 100 seeds were used per experimental unit and each of them was submitted to caloric stress of 42°C and 100% of HR for 96 hours. Every experimental unit was put in a jar with 300 mL of distilled water, inside of which was introduced a wire based that was the support of the tulle bag that content the seeds, in a way that these were not in contact with the liquid. Later, the jars were sealed hermetically to avoid escapes of humidity and were put inside the

durante 96 horas. Se colocó cada unidad experimental en un frasco con 300 mL de agua destilada, dentro del cual se introdujo una base enrejada de alambre, que servía de soporte a la bolsa de tul que contenía las semillas, de manera que éstas no estuvieran en contacto con el líquido. Posteriormente los frascos se taparon herméticamente para evitar fugas de humedad y fueron colocados dentro de la estufa. Concluida la prueba, las semillas se colocaron a germinar usando la prueba de germinación estándar y se evaluaron a los siete y 14 dds.

#### C. Emergencia en campo

Previo a esta prueba, las semillas fueron colocadas a pre germinar en placas de petri con agua destilada, durante 24 horas. La prueba de campo se realizó en un cantero de 1,2 m x 16 m, el cual se preparó mediante cuatro pases de rotocultor. Además, se aplicó dazomet (Basamid®), a razón de 20 g.m<sup>-2</sup>, esparcido uniformemente. La unidad experimental estuvo conformada por tres hilos sembrados a 0,15 m entre ellos y constituyendo parcelas de 0,54 m<sup>2</sup>; cada hilera se sembró a chorro corrido con 2,25 g de semillas, el equivalente a 125 kg.ha<sup>-1</sup>.

La emergencia de las plántulas se estimó mediante el conteo de las plántulas emergidas a los 14 y 21 dds. En la última evaluación, se seleccionaron al azar 10 plántulas por unidad experimental, para evaluar biomasa seca del epicótilo.

#### Determinación de la incidencia de hongos

Se detectaron los hongos presentes en las semillas evaluadas utilizando el método de papa dextrosa agar (PDA). Antes de la evaluación de las

stove. Once finished the test, the seeds were put to germinate using the standard germination test and were evaluated within 7 and 14 days.

#### C. Emergency in field

Prior to this test, seeds were put to pre germinate in Petri plates with distilled water for 24 hours. The field test was done in a flowerbed of 1.2 m x 16 m, which was prepared with four phases of the rolling. Also, dazomet (Basamid®) was applied at a reason of 20 g.m<sup>-2</sup>, deluded uniformly. The experimental unit was formed by three rows sowed at 0.15 m among and constituting plots of 0.54 m<sup>2</sup>; each row was sowed with 2.25 g of seeds, equal to 125 kg.ha<sup>-1</sup>.

The emergency of seedlings was estimated with the counting of seedlings emerged within 14 to 21 dds. In the last evaluation, were selected at random 10 seedlings per experimental unit to evaluate the dry biomass of the epicotyls.

#### Determination of the incidence in fungi

The fungi presented in the evaluated seeds were detected using the method of "papa dextrose aga" (PDA). Prior to the evaluation of the treated seeds, was determined the incidence of the fungi through the method of absorbent paper (AP). For AP, each experimental unit was formed by 100 seeds and four replications, while for the PDA the experimental unit was of 25 seeds. The presence of fungi was evaluated within 60 and 240 days of storage for AP and 60 and 90 days in PDA (ISTA, 1993).

In the method of PDA, were used the Petri plates of 10 cm of diameter with PDA, were sowed the disinfected



semillas tratadas, se determinó la incidencia de hongos mediante el método de papel absorbente (PA). Para PA, cada unidad experimental estaba conformada por 100 semillas y cuatro repeticiones, mientras que para el método PDA la unidad experimental fue de 25 semillas. La presencia de los hongos se evaluó a los 60 y 240 días de almacenamiento para PA y a los 60 días y 90 días en PDA (ISTA, 1993).

En el método de PDA se utilizaron placas de petri de 10 cm de diámetro con PDA, se sembraron las semillas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% por 30 s y seguidamente fueron colocadas en un lugar iluminado con fotoperiodo de 12 horas luz, por siete días, para después identificar los hongos por el crecimiento de sus colonias, con la ayuda de un microscopio y lupa estereoscópica. En ambos métodos los resultados fueron expresados en porcentaje de incidencia de hongos.

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza por el procedimiento PROC GML del programa estadístico SAS (2005). Cuando se presentaron datos perdidos para algunas observaciones de germinación o vigor, tanto de campo como en el laboratorio, los resultados fueron ajustados a los rangos de tolerancia y desviaciones máximas permitidas entre observaciones, como lo señalan las reglas de la A.O.S.A (1965). Se realizó para cada una de las variables, un análisis de varianza combinado, considerando cada uno de los factores evaluados. En aquellos casos en los que hubo interacción significativa entre factores, se presentan los resultados mediante cuadros de doble entrada.

seeds with sodium hypochlorite at 2% for 30 s and later were put in an illuminated place with photo period of 12 hours of light, for 7 days, in order to identify the fungi by the growth of their colonies with the help of the microscope and the stereoscope magnifying glass. In both methods, the results were expressed in percentages of incidence of fungi.

### **Statistical analysis**

The results obtained were submitted to the variance analysis for the PROC GML procedure of the statistical software SAS (2005). When presented lost information for some observations of germination or vigor, in both the field or in the laboratory, the results were adjusted to the tolerance ranks or maximum deviations allowed between observations, as mentioned in the A.O.S.A rules (1965). For each of the variables, was done a combined variance analysis, considering each of the evaluated factors. In those cases where there was significant interaction among factors, the results are presented through double entrance tables. When there were significant differences for the simple effects, the Duncan Rank Mean test was done.

## **Results and discussion**

### **Determination of germination**

In the variance analysis (non shown data) resulted that the double interaction (days\*fungicide and variety\*fungicide= were highly significant. It was found that during 240 days of storage the germination values of the witness were statistically



Cuando hubo diferencias significativas, para los efectos simples, se realizó la Prueba de Medias de Rango Múltiple de Duncan.

## Resultados y discusión

### Determinación de germinación

En el análisis de varianza (datos no mostrados) resultó que las interacciones dobles (Días\*Fungicida y Variedad\*Fungicida) fueron altamente significativas. Se encontró que durante los 240 días de almacenamiento los valores de germinación del testigo fueron estadísticamente similares a los de los tratamientos fungicidas; por lo cual, se infirió que los tratamientos fungicidas no mejoraron la germinación. En general, el porcentaje promedio de germinación estuvo por encima de 80%, valor mínimo de comercialización requerido para la semilla de arroz clase certificada en Venezuela (FONAIAP-SENASEM, 1995). Estos resultados coincidieron con los obtenidos por Azizul *et al.* (1973), quienes concluyeron que el deterioro de las semillas de arroz no se reflejó en la disminución del porcentaje de germinación, ya que la pérdida de la viabilidad fue la consecuencia final del deterioro. Las semillas de arroz de alto vigor presentaron pequeñas respuestas a los tratamientos con fungicidas.

Para la interacción Variedad\*Fungicida la respuesta de las semillas no tratadas y tratadas con fludioxonil y carboxin+thiram de Cimarrón siempre fue su germinación superior (90, 93, 93%) con respecto a la variedad FONAIAP 1 (85, 84, 88%), respectivamente.

similar to the ones of the fungicide treatments, therefore, it was inferred that the fungicide treatments did not improve the germination. In general, the average percentage of germination was over 80%, minimum value of commercialization required for rice's seed certified class in Venezuela (FONAIAP-SENASEM, 1995). These results agreed to those obtained by Azizul *et al.*, (1973), who concluded that the deterioration of rice's seeds was not shown in the reduction of the germination percentage, since the lost in the viability was the final consequence of the deterioration. The rice's seeds of high vigor presented small responses to the treatment with fungicides.

For the interaction variety\*fungicide the response of the non treated and treated seeds with fludioxonil and carboxin+thiram of Cimarrón was always its superior germination (90, 93, 93%) in relation to the FONAIAP 1 variety (85, 84, 88%) respectively.

### Determination of the vigor

The results of vigor evaluated through the first counting of the seeds' germination of rice during storage (table 1), showed a differential response of the treatment in relation to the lost of vigor in the time. It was found that the vigor percentage for the un-treated and treated seeds with Carboxin +Thiram presented a reduction while the treated seeds with Fludioxonil kept their vigor. Some authors (Delouche, 1968; Azizul, 1973; Delouche and Baskin, 1973) agreed in affirming that the deterioration of the seed during the storage was more evident in the lost of vigor than in

### Determinación de vigor

Los resultados de vigor, evaluados mediante el primer conteo de la germinación de semillas de arroz durante almacenamiento (cuadro 1), mostraron una respuesta diferencial de los tratamientos en cuanto a la pérdida de vigor en el tiempo. Se encontró que el porcentaje de vigor para las semillas no tratadas y las tratadas con Carboxin +Thiram presentaron una disminución, mientras que las semillas tratadas con Fludioxonil mantuvieron su vigor. Varios autores (Delouche, 1968; Azizul, 1973; Delouche y Baskin, 1973) coincidieron en afirmar que el deterioro de la semilla durante el almacenamiento, se hizo más evidente en la pérdida del vigor que en la germinación. Estos resultados fueron similares con los encontrados en esta investigación, excepto para los porcentajes de vigor de las semillas tratadas con fludioxinil; lo que permite inferir que este fungicida, tuvo un efecto positivo en el mantenimien-

germination. These results were similar than those found in this research, except for the vigor percentage of seeds treated with fludioxinil; which allows inferring that this fungicide had a positive effect in the vigor maintenance of the seed during the storage.

Regarding the interaction variety\*fungicide in relation to the vigor of seeds by the method already mentioned, as well as the germination, it was found that the variety Cimarrón was superior to FONAIAP 1. If it is considered that the vigor of the seed depends of the genetic capacity of the variety, the adequate handle in the field and the storage (González *et al.*, 2007) was inferred that the best behavior of vigor exhibited by Cimarrón was maybe due to the genetic of the material and/or the most adequate handle of the seed at the field level.

A. Determination of vigor after the longitude (cm) of the epicotyls and the radicle

**Cuadro 1. Efecto de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el porcentaje de vigor, evaluado mediante el primer conteo de la germinación de semillas de arroz en almacenamiento.**

**Table 1. Effect of fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram on the vigor percentage, evaluated through the first counting of the seeds' germination in storage**

	Días de almacenamiento									
	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Testigo	94 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>	88 <sup>ab</sup>	75 <sup>bc</sup>	80 <sup>b</sup>	88 <sup>a</sup>	79 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>	82 <sup>a</sup>	86 <sup>a</sup>
Fludioxonil	85 <sup>b</sup>	92 <sup>a</sup>	92 <sup>a</sup>	77 <sup>b</sup>	85 <sup>ab</sup>	89 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>
Carboxin+Thiram	98 <sup>a</sup>	89 <sup>bc</sup>	93 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	78 <sup>a</sup>	91 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

to de vigor de la semilla durante el almacenamiento.

Con respecto a la interacción Variedad\*Fungicida con relación al vigor de las semillas, por el método señalado anteriormente, al igual que para la germinación, se encontró que la variedad Cimarrón fue superior a FONAIAP 1. Si se considera que el vigor de la semilla depende de la capacidad genética de la variedad, del manejo adecuado en campo y del almacenamiento (González *et al.*, 2007), se infirió que el mejor comportamiento de vigor exhibido por Cimarrón se debió probablemente a la genética del material y/o a un manejo más adecuado de la semilla a nivel campo.

A. Determinación de vigor a partir de la longitud (cm) del epicótilo y radícula

1) Longitud (cm) del epicótilo y radícula a los siete dds

Para la determinación del vigor medido a través de la longitud del epicótilo y radícula a los siete dds, se encontró que no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos con fungicidas y las semillas no tratadas. De igual forma no se evidenció un deterioro significativo, de dichas longitudes en el tiempo. La longitud promedio (cm) del epicótilo y radícula a los 7dds estuvo entre 4,83 y 12,38, respectivamente.

2) Longitud (cm) del epicótilo y radícula a los 14 dds

Se observó que la radícula comenzó a decrecer (con una disminución de 1 cm aproximadamente) desde los 90 hasta los 180 días de almacenamiento de las semillas, con diferencias estadísticamente significativas (cuadro 2). Esta disminución se debió posible-

1) Longitude (cm) of epicotyls and radicle within seven dds

For determining the vigor measured through the longitude of the epicotyls and the radicle within 7 dds, was found that there were not statistical differences among the treatment with fungicides and the untreated seeds. Likewise, it was not observed a significant deterioration of such longitude in the time. The average longitude (am) of the epicotyls and the radicle at 7 dds was from 4.83 to 12.38 respectively.

2) Longitude (cm) of the epicotyl and radicle within 14 dds

It was observed that the radicle started to decrease (with a reduction of 1 cm approximately) from 90 until 180 days of storage of the seeds, with statistically significant differences (table 2). This reduction might have possible been due to the effect of the deterioration or the lost of vigor of seeds, agreeing to the results obtained by Abba and Lovato (1999), who found that the regression of the index of the radicle's longitude on the time of storage decreased with the increment of the number of days that passed. In the same order of ideas, some authors (Pérez y Martínez, 1994; Cruz *et al.*, 1995) evidenced that the age of the seed induced to progressive and irreversible alterations in different metabolic levels (biochemical, physiological and molecular), which reduced the physiological capacity of seeds to germinate and even eliminated all the sign of metabolic activity.

3) Dry biomass of the epicotyl and radicle

The vigor expressed as dry biomass of the radicle, did not show

mente al efecto del deterioro o pérdida de vigor de las semillas, coincidiendo con los resultados obtenidos por Abba y Lovato (1999), quienes encontraron que la regresión del índice de longitud de la radícula sobre el tiempo de almacenamiento decreció con el incremento del número de días transcurridos. En este mismo orden de ideas, varios autores (Pérez y Martínez, 1994; Cruz *et al.*, 1995) evidenciaron que la edad de la semilla, indujo a alteraciones progresivas e irreversibles en diferentes niveles metabólicos (bioquímicos, fisiológicos y moleculares); los cuales menoscabaron la capacidad fisiológica de las semillas para germinar e incluso eliminaron todo signo de actividad metabólica.

3) Biomasa seca del epicótilo y radícula

El vigor expresado como biomasa seca de la radícula, no mostró diferencias entre los fungicidas (datos no presentados). Sólo se encontró diferencias significativas en la biomasa seca del

differences among the fungicides (non shown data). There were only found significant differences in the dry biomass of the epicotyls (table 3) of seeds treated with fludioxonil, in relation to seeds treated with carboxin+thiram and the untreated. These results do not agree with those presented by Pereira *et al.*, (2007) who reported that fludioxonil had a positive effect in the increment of the radical surface and little effect on the air part of yam plants (*Ipomoea batatas* L. Lam).

B. Accelerated elderly process

The germination of seeds submitted to the accelerated elderly process that were treated with fungicide, were statistically different than the untreated until day 120 of storage (table 4). Additionally, it was found that the germination with Carboxin+Thiram was superior to fludioxonil during the same period. These results agree with those reported by Arsego *et al.*, (2006) and Schuch *et*

**Cuadro 2. Vigor de semillas expresado en función de la longitud (cm) del epicótilo y de la radícula a los 14 dds de plántulas de arroz, de las semillas tratadas y no tratadas, en condiciones de almacenamiento.**

**Table 2. Vigor of seeds expressed in function of longitide (cm) of the epicotyls and the radicle within 14 dds of the rice's seedling of the treated and untreated seeds, in storage conditions.**

	Días de almacenamiento									
	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Epicótilo	9,58 <sup>b</sup>	9,88 <sup>b</sup>	9,62 <sup>b</sup>	9,66 <sup>b</sup>	9,97 <sup>b</sup>	9,75 <sup>b</sup>	8,80 <sup>c</sup>	8,61 <sup>c</sup>	8,90 <sup>c</sup>	10,76 <sup>a</sup>
Radícula	14,38 <sup>a</sup>	13,43 <sup>b</sup>	14,33 <sup>a</sup>	13,97 <sup>a</sup>	13,36 <sup>b</sup>	13,14 <sup>b</sup>	12,05 <sup>c</sup>	13,03 <sup>b</sup>	14,04 <sup>a</sup>	13,36 <sup>b</sup>

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan

epicótilo (cuadro 3), de las semillas tratadas con fludioxonil, en relación a las semillas tratadas con carboxin+thiram y a las no tratadas. Estos resultados se contraponen con los presentados por Pereira *et al.* (2007), quienes encontraron que fludioxonil, tuvo un efecto positivo en el aumento de la superficie radical y poco sobre la parte aérea de plantas de batata (*Ipomoea batatas* L. Lam).

#### B. Envejecimiento acelerado

La germinación de las semillas sometidas a envejecimiento acelerado que fueron tratadas con fungicidas, resultaron estadísticamente diferentes de las no tratadas hasta los 120 días de almacenamiento (cuadro 4). Adicionalmente se encontró que la germinación con Carboxin+Thiram fue superior a la de fludioxonil, durante el mismo periodo. Estos resultados coinciden con los reportados por Arsego *et al.* (2006) y Schuch *et al.* (2006), quienes encontraron que controlando hongos en la semilla, mejoró el vigor de las mismas.

### Cuadro 3. Efecto promedio de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el vigor, expresado en función de la Biomasa seca (g) del epicótilo (BSE) de plántulas de arroz.

**Table 3. Average effect of fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram on vigor, expressed in function of dry biomass (g) of the epicotyls (BSE) of rice's seedlings.**

Tratamientos	Biomasa seca de epicótilo (BSE)
Fludioxonil	4,30 <sup>a</sup>
Carboxim+Thiram	4,09 <sup>b</sup>
No tratada	4,13 <sup>b</sup>

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

*al.*, (2006) who found that controlling the fungi in the seed improved the vigor of these.

#### C. Emergency in the field

There were not observed differences among the fungicides evaluated in this test, similar behavior mentioned by Bradley *et al.*, (2007) in applications to seeds of *Linum usitatissimum* in USA (Dakota); but, Falloon *et al.* (2000), indicated that the employment of fludioxonil in seeds of pea (*Pisum sativum*) improved the establishment in 170% in relation to untreated seeds. The emergency percentage reduced from 77% (30 dds) to 75% (12 dds), 71% (150 dds) and 72 (210 dds), where it was observed that as well as in the vigor evaluation in the laboratory, it produced a fall in the percentage of emergency at the time that passed the storage days of the seeds, differentiating statistically through a Duncan mean test. The variety Cimarrón (76% of emergency) resulted to be superior in the percentage of seedlings emerged in the

**Cuadro 4. Efecto de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el vigor (%) de las semillas envejecidas de arroz, en condiciones de almacenamiento.**

**Table 4. Effect of Fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram on vigor (%) of elderly seed's of rice in storage conditions.**

	Días de almacenamiento						
	30	90	120	150	180	210	240
Testigo	74 <sup>bc</sup>	81 <sup>b</sup>	83 <sup>bc</sup>	86 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>	84 <sup>b</sup>	80 <sup>ab</sup>
Fludioxonil	85 <sup>a</sup>	85 <sup>b</sup>	90 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	86 <sup>a</sup>	87 <sup>ab</sup>	76 <sup>b</sup>
Carboxin+Thiram	78 <sup>b</sup>	91 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

**C. Emergencia en campo**

No se observó diferencias entre los fungicidas evaluados en esta prueba, comportamiento similar fue señalado por Bradley *et al.* (2007) en aplicaciones a semillas de *Linum usitatissimum* en USA (Dakota); en cambio, Falloon *et al.* (2000), indicaron que el empleo del fludioxonil en semillas de arvejas (*Pisum sativum*) mejoró el establecimiento en 170% en relación a las semillas no tratadas. El porcentaje de emergencia disminuyó desde 77% (30 dds) a 75% (120 dds), 71% (150 dds) y 72% (210 dds), donde se observó que, al igual que en la evaluación del vigor en laboratorio, se produjo una caída del porcentaje de emergencia a medida que transcurrieron los días de almacenamiento de las semillas, diferenciándose, estadísticamente, a través de la prueba de Medias de Duncan. La variedad Cimarrón (76% de emergencia) resultó superior en el porcentaje de plántulas emergidas en campo que la variedad FONAIAP 1 (69%).

field than the variety FONAIAP 1 (69%).

In relation to the dry biomass of the seedlings emerged in the field, the variety FONAIAP 1 (18.09 g) resulted statistically superior in the dry biomass of the epicotyls in relation to Cimarrón (13.07 g).

Fungi presented in seeds during the storage

**1. Method of the absorbent paper**

For the varieties FONAIAP 1 and Cimarrón, evaluated within zero days of storage, there were no relevant significant differences in the incidence of fungi on seeds, Fungi that presented in the varieties of rice were *Byopolaris oryzae*, *Aspergillus flavus*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp. and *Fusarium moniliforme*, which correspond to those found in other research of rice in the country (Delgado *et al.*, 2002; Ojeda y Subero, 2004; Pineda *et al.*, 2007).

The percentage of fungi present in the seeds of rice with or without

En relación a la biomasa seca de las plántulas emergidas en campo, la variedad FONAIAP 1

(18,09 g) resultó estadísticamente superior en la biomasa seca del epicótilo, con respecto a Cimarrón (13,07 g).

Hongos presentes en las semillas durante el tiempo de almacenamiento  
1. Método del papel absorbente

Para las variedades FONAIAP 1 y Cimarrón evaluadas a los cero días de almacenamiento, no se presentaron diferencias significativas relevantes en la incidencia de hongos sobre las semillas. Los hongos que se presentaron en las variedades de arroz fueron: *Byopolaris oryzae*, *Aspergillus flavus*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp. y *Fusarium moniliforme*, los cuales se correspondieron a los encontrados en otras investigaciones de arroz en el país (Delgado *et al.*, 2002; Ojeda y Subero, 2004; Pineda *et al.*, 2007).

El porcentaje de hongos presentes en las semillas de arroz con y sin tratamiento químico, mostraron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 5). Los dos fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram presentaron un comportamiento similar en el control de los hongos. Además, con esta prueba se detectó que ambos fungicidas controlaron el hongo *F. moniliforme*, cuya incidencia fue 1 y 2%, respectivamente. Entre tanto, las semillas sin tratamiento presentaron un 10% de incidencia del hongo. Estos resultados estuvieron en conformidad con los obtenidos por diversos autores (Pinto, 1998; Texeira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 1993), quienes concluyeron que las semillas tratadas con

chemical treatment, showed significant statistical differences (table 5). The two fungicides Fludioxonil and Carboxin+thiram presented a similar behavior in the control of fungi. Also, with this test was detected that both fungicides controlled the fungus *F. moniliforme*, which incidence was 1 and 2% respectively. Therefore, the seeds without treatment presented 10% of incidence of the fungus. These results agreed to those obtained by different authors (Pinto, 1998; Texeira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 1993), who concluded that seeds treated with chemical and biological products presented a better physiological and sanitary quality in relation to the untreated.

## 2. Method of dextrose papa agar

The averages for the incidence of fungi on rice seeds treated and untreated with fungicides evaluated within 60 and 90 days, presented a higher percentage of fungi in the witness seeds in relation to those treated with fungicides. It was also determined that the percentage of *F. moniliforme* reduced its incidence in the time. On the contrary, *A. flavus*, increased in seeds treated with Carboxim+Thiram and the witness. This might has been because it was considered a fungus which develops occurred under storage conditions. In seeds treated with Fludioxonil, the incidence of *A. flavus* did not increase (table 5). In general, it was observed that seeds treated chemically presented a lower incidence of fungi and better behavior, these results agreed to those reported by Arsego *et al.*, (2006).

The incidence percentage in the plants, compare to the level of the



**Cuadro 5. Porcentaje de hongos presentes en semillas tratadas y no tratadas a los 60 y 90 días de almacenamiento (da), evaluado por el método de papa dextrosa agar.**

**Table 5. Fungi percentage present in treated and untreated seeds within 60 and 90 days of storage (da) evaluated by the dextrose papa agar method.**

Tratamientos	60 días			90 días		
	Testigo	Fludioxonil	Carboxin+Thiram	Testigo	Fludioxonil	Carboxin+Thiram
Hongos						
<i>Aspergillus flavus</i>	4 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	9 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>	27 <sup>a</sup>
<i>Curvularia</i> sp	19 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	23 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>
<i>Fusarium moniliforme</i>	12 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

productos químicos y biológicos presentaron una mejor calidad fisiológica y sanitaria en relación a las semillas no tratadas.

## 2. Método de papa dextrosa agar

Los promedios para la incidencia de hongos sobre las semillas de arroz tratadas y no tratadas con los fungicidas, evaluadas a los 60 y 90 días, presentaron un mayor porcentaje de hongos en las semillas testigo con respecto a las que fueron tratadas con los fungicidas. También se determinó que el porcentaje de *F. moniliforme* disminuyó su incidencia en el tiempo. Por el contrario, *A. flavus* aumentó en las semillas tratadas con Carboxin + Thiram y en el testigo. Esto posiblemente se debió a que se consideró un hongo cuyo desarrollo se dio bajo condiciones de almacenamiento. En las semillas tratadas con Fludioxonil, la incidencia de *A. flavus* no se incrementó (cuadro 5). En general, se observó que las semillas tratadas químicamente presentaron menor incidencia de hongos y mejor comportamiento, estos resultados coincidieron con los reportados por Arsego *et al.* (2006).

El porcentaje de incidencia en las plantas, comparado con el nivel de inóculo en la semilla certificada fue relativamente bajo, pero ese nivel de inóculo de *D. oryzae* en la semilla mayor a 0,1% y de *C. oryzae* mayor a 1% pudo potencialmente producir infección en las plantas tal como se concluyó en el trabajo de Pineda *et al.* (2007).

## Conclusiones

El tratamiento de semillas con fludioxonil incrementó la biomasa seca del epicótilo de plántulas de arroz.

inoculums in the certified seed was relatively low, but that level of inoculums of *D. oryzae* in the seeds higher to 0.1% and *C. oryzae* higher to 1% could potentially produce infection in plants as well as was concluded in the research of Pineda *et al.*, (2007).

## Conclusions

The treatment of seeds with fludioxonil incremented the dry biomass of the epicotyls of rice's seedlings.

The treatment of rice's seeds with fungicides fludioxonil or carboxin+thiram reduced the incidence of the fungus *F. moniliforme*, so it did not affect the physiological quality and improved the sanity of these.

Fungi of higher incidence in the seeds without chemical treatment evaluated were: *Curvularia* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris oryzae* and *A. flavus*. The incidence of such fungi was reduced by the treatment of seeds with the two fungicides employed.

---

*End of english version*

---

El tratamiento de las semillas de arroz con los fungicidas fludioxonil o carboxin+thiram disminuyó la incidencia del hongo *F. moniliforme*, por lo que no afectó la calidad fisiológica y mejoró la sanidad de las mismas.

Los hongos de mayor incidencia en las semillas sin tratamiento químico evaluados fueron: *Curvularia* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris oryzae* y *A.*

*flavus*. La incidencia de dichos hongos fue disminuida por el tratamiento de las semillas con los dos fungicidas empleados.

## Literatura citada

- Abba, E., y A. Lovato. 1999. Effect of seed storage temperature and relative humidity on maize (*Zea mays* L.) seed viability and vigour. *Seed Sci. & Technol.* 27:101-114.
- Arsego, O., L. Baudet, A. Amaral D.S., L. Holbig, F. Peske. 2006. Recobrimiento de sementes de arroz irrigado com ácido giberélico, fungicidas e polímero. *Revista Brasileira de Sementes* 28(2):201-206.
- Association of Official Seed Analysis (A.O.S.A.). 1965. Rules for Testing Seeds. *Proc. Assoc. Off. Seed Anal.* 2(54):10.
- Azizul, I., J. Delouche y C. Baskin. 1973. *Proc. Association of Official Seed Analysts.* 63:155-159.
- Bradley, C., S. Halley y R. Henson. 2007. Evaluation of fungicides seed treatments on flax cultivars differing in seed color. *Industrial Crops and Products.* 24:301-304.
- Cruz, G.F., V.A. González-H., J. Molina M., J.M. Vázquez R. 1995. Seed deterioration and respiration as related to DNA metabolism in germinating maize. *Seed Sci. & Technol.* 23:477-486.
- Delgado, M., A. Ortiz D., Y. Guevara y L. Subero. 2002. Evaluación sanitaria de semillas de cuatro variedades de arroz en Venezuela. *Agronomía Tropical* 52(2):223-234.
- Delouche, J. y C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. & Technol.* 1:427-452.
- Delouche, J. 1968. Precepts for seed storage. *Proceedings. State College. Mississippi State University.* P. 81-119.
- FONAIAP-SENASEM. 1995. Reglamento General de Semillas. SENASEM. Maracay. Estado Aragua, Venezuela. 35 p.
- Falloon, R.E., G. Follas, R. Butler y D. Goulden. 2000. Resistance in *Peronospora viciae* to phenylamide fungicides: reduced efficacy of seed treatment of pea (*Pisum sativum*) and assessment of alternatives. *Crop Protection* 19(5):313-325.
- González, T., Monteverde, E., Marin. C. y Madriz, P. 2007. Comparación de tres métodos para estimar estabilidad del rendimiento en nueve variedades de algodón. *Interciencia* 32(005):344-348.
- Hilber, U., J. Schwinn y H. Schüepp. 1995. Comparative resistance patterns of fludioxonil and vinclozolin in *Botryotinia fuckeliana*. *Journal of Phytopathology* 143(7):385-448.
- International Seed Testing Association. (I.S.T.A). 1993. *Seed Sci. & Technol.* 21, Supplement 288 p.
- Pérez, F.G. y J.B. Martínez 1994. *Introducción a la Fisiología Vegetal.* Mundi-Prensa. México. 250 p.
- Muñoz, J. y M. Gamboa. 1998. *Introducción al manejo integrado de enfermedades fungosas en arroz.* Agroisleña. pp. 88-89.
- Ojeda H., A.Y.L.J. Subero. 2004. Ubicación, sobrevivencia y transmisión de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Schoem, en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev. Fac. Agron. (UCV, Maracay)* 30(1):27-37.
- Oliveira, V. de, J. Machado, M. Guimaraes y A. Ferreira. 1993. Efeito de aplicacoes fungicidas na sementes e parte aérea da planta sobre a producao, qualidade fisiologica e sanitaria das sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). *Ciencia e Practica. Brasil* 17 (2):134-140.
- Pacheco, C. 1988. Importancia de la patología de semillas para los programas de semillas. IX Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines p. 20-30.

- Pereira, M.A., F.M.L. Silva, R.M. Duarte, P.R.C. Castro. 2007. Efeito de Tiametoxam e Fludioxonil no comprimento das raízes da batata. En: Encontro Nacional de Produção e
- Abastecimento de Batata, 13. Resumos. Holambra, ENPAB (CD-ROM).
- Perry, D. 1977. Ensayo de crecimiento y evaluación de plántulas. Manual de ensayos de vigor. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Instituto nacional de semillas y plantas de vivero. Madrid. 56 p.
- Pineda, J.B., O. Colmenarez, N. Méndez y L. Gutiérrez. 2007. Niveles de inóculo de hongos fitopatógenos asociados a la semilla de arroz (*Oryza sativa*). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 24 (3):481-500.
- Pinto, N. y F.J. Da. 1998. Fungicide selection for maize (*Zea mays* L.) Seed Treatment. Summa phytopathologica 24:22-25.
- Quirós, W. y O. Carrillo. 2009. Importancia del insumo semilla de buena calidad. Edición oficina nacional de semilla. San José-Costa Rica. 25 p.
- SAS Institute. 2005. The SAS system for windows Release 9.1, SAS Inst., Cary, NC.
- Schuch, J., O. Lucca Filho, S.T. Peske, L. Dutra, M. Brancão, M. Rosenthal. 2006. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de arroz com diferentes graus de umidade e tratadas com fungicida. Rev. Bras. Sementes 28(1):45-53.
- Texeira, H., J. Machado y M. Carvalho. 1997. Avalicao dos efeitos do tratamento químico e biológico na transmissao de (*Colletotrichum gossypii* South.) em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Ciencia e Agrotecnologia. Lavras, Brasil. 4(21):413-418.