

# Hongos patógenos en semilla de arroz asociados con la incidencia de plántulas anormales en la prueba de germinación

Ramiro Alizaga\*

## Resumen

Se evaluó la presencia de hongos fitopatógenos transportados en la semilla de dieciocho lotes comerciales de arroz, de los cultivares CR-5272 y CR-1113. Los patógenos identificados en mayor proporción fueron: *Bipolaris oryzae*, *Alternaria padwickii* y *Microdochium oryzae*. En muy pocos casos y en bajo grado de contaminación apareció *Pyricularia oryzae*. Se realizaron pruebas de germinación en el laboratorio y de emergencia en el campo. Se encontró una estrecha asociación entre el grado de contaminación de las semillas con los hongos *B. oryzae* y *A. padwickii* y el porcentaje de plántulas enfermas. Casi sin excepción, el porcentaje de emergencia en el campo fue superior al de germinación en el laboratorio. En el cv. CR-1113 dichos hongos tuvieron un efecto detrimental menor sobre la calidad de las semillas, ya que a nive-

les similares de infección se obtuvo un porcentaje menor de plántulas enfermas que en el cv CR-5272.

## Introducción

El arroz es uno de los cereales más importantes en el mundo, por lo que se realizan grandes esfuerzos para obtener semillas de alta calidad genética, fisiológica, física y sanitaria, atributos que le permitirán producir una adecuada y vigorosa población de plantas en el campo, siempre que las condiciones ambientales sean favorables.

El cultivo del arroz es atacado por una amplia gama de enfermedades de mayor y menor importancia. Entre los patógenos más conocidos y de amplia distribución se pueden citar: *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium moniliforme* y *Alternaria padwickii*, aunque existen otros de distribución más restringida, como *Microdochium oryzae*, que han adquirido mayor relevancia en los últi-

\* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Miembro del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

mos años (Agarwal *et al.*, 1989).

En las pruebas de germinación, se considera como plántula normal aquella que presenta todas las estructuras esenciales para producir una planta capaz de establecerse bajo condiciones de campo favorables. En contraposición, la presencia de plántulas anormales es muy común en dichas pruebas y se definen como aquellas teóricamente incapaces de producir una planta normal en el campo. Entre las principales causas de anomalías en las plántulas se pueden mencionar el daño mecánico de las semillas durante la cosecha, el trillado, el secado artificial y el beneficiamiento, así como daños causados por el calor, el efecto fitotóxico de algunos tratamientos químicos y la presencia de hongos patógenos en la semilla.

En Costa Rica se han usado productos químicos para contrarrestar el problema de hongos patógenos transportados en las semillas, especialmente cuando la germinación de los lotes se halla cerca del límite inferior para su aceptación por parte de la entidad certificadora. Sin embargo, en general no se han realizado pruebas preliminares para determinar cuáles son los microorganismos presentes, lo que compromete la efectividad de estos tratamientos sobre los diferentes genotipos de arroz utilizados comercialmente.

Las pruebas rutinarias de control de calidad en semillas están dirigidas al análisis físico y fisiológico (germinación) de los lotes, por lo que la sanidad no se evalúa; la escasa información que se obtiene al respecto es de tipo general y muchas veces inexacta. Las pruebas específicas de sanidad de semillas se hacen normalmente en los programas de control cuarentenario para estudiar la condición sanitaria, determinar la prevalencia de una en-

fermedad o decidir si es conveniente aplicar algún fungicida a la semilla. Además, se usa para determinar si una baja germinación o emergencia en el campo se debe a organismos patógenos portados en la semilla.

En los últimos años, las pruebas de control de calidad realizadas en el Laboratorio Oficial de Análisis de Calidad del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica, muestra que una cantidad importante de lotes de semilla de arroz, especialmente del cultivar CR-5272, presenta altos porcentajes de plántulas anormales, debido fundamentalmente a una alta incidencia de plántulas enfermas. Por lo anterior, muchos de estos lotes no alcanzan el 80% de germinación, porcentaje mínimo aceptable para su comercialización, de acuerdo con las normas vigentes en el país. Cabe agregar que debido a las condiciones continuas de alta temperatura y humedad, los problemas de calidad asociados con microorganismos portados por la semilla pueden ser cada vez mayores, si no se les presta la debida atención.

El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar la presencia de hongos patógenos portados en diferentes lotes de semilla de arroz de los cultivares CR-1113 y CR-5272, así como determinar su efecto sobre la germinación y el porcentaje de plántulas enfermas principalmente.

## Materiales y métodos

Se emplearon nueve lotes de semilla de arroz de los cultivares CR-1113 y CR-5272 respectivamente, con diferentes porcentajes de infección natural causada por los hongos patógenos *Pyricularia oryzae*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium moniliforme* y *Microdochium oryzae*.

Se realizaron pruebas de germinación en el laboratorio, en un cuarto para germinación graduado a temperatura constante de 30°C y a 95% de humedad relativa. Se usaron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, las que se colocaron sobre papel para germinación Anchor. Se evaluó el porcentaje de plántulas normales a los seis días (primer recuento) y a los 14 días (segundo recuento) de iniciada la prueba. Para la clasificación de dichas plántulas se siguió la metodología propuesta por la International Seed Testing Association (1976). En las mismas pruebas se evaluó el porcentaje de plántulas enfermas a los cinco y 14 días. Se consideraron enfermas aquellas plántulas que presentaron lesiones patogénicas que afectaban el desarrollo y la integridad de sus estructuras esenciales y que comprometían su supervivencia en condiciones de campo.

El estado sanitario de los lotes se determinó mediante el método de papel de filtro. Para esto, se usó una muestra de trabajo de 400 semillas en réplicas de 25 semillas por plato petri de 9 mm de diámetro. Antes de colocar las semillas,

en cada plato se pusieron tres papeles de filtro bien humedecidos con agua destilada. Seguidamente, las semillas se incubaron a 20-22°C con períodos alternos de 12 horas de luz y oscuridad. Como fuente de luz se usó fluorescentes de luz fría colocados a 40 cm de los platos petri. Al final del período de incubación (siete días), las semillas y plántulas se evaluaron con el uso de un microscopio estereoscópico.

En la prueba de emergencia a campo, se sembraron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una y el porcentaje de plántulas normales se evaluó a los 14 días.

En lo que respecta al análisis estadístico de los datos, la separación de medias se hizo por medio de la prueba de diferencia mínima significativa. Además, para cada cultivar se realizó un análisis de correlación simple.

## Resultados

Los porcentajes de infección natural de los hongos patógenos presentes en las semillas, muestran que hay dife-

**Cuadro 1**  
**Porcentajes de infección de los principales hongos patógenos presentes en 9 lotes de semilla de arroz, cv. CR-5272**

Hongos patógenos en semilla de arroz (%)

Lote	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Alternaria padwickii</i>	<i>Microdochium oryzae</i>
A	0,0*	4,5 ef**	3,5 c	2,0 e
B	0,0	9,0 de	4,5 c	4,5 de
C	1,0	3,0 f	5,5 c	16,5 abc
D	0,0	11,5 bcd	16,5 b	10,0 cd
E	1,5	16,5 b	23,5 a	19,5 ab
F	0,0	10,5 cd	21,5 ab	20,6 a
G	0,0	12,5 bcd	14,5 b	12,5 bc
H	2,0	22,5 a	17,0 ab	10,0 cd
I	0,0	15,0 bc	15,0 b	20,0 a

\* Debido a la baja incidencia de este hongo, no fue necesario análisis estadístico.

\*\* Valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ), según la prueba de diferencia mínima significativa.

**Cuadro 2**  
**Porcentajes de infección de los principales hongos patógenos presentes en 9 lotes de semilla de arroz, cv. CR-1113**

Hongos patógenos en semilla de arroz (%)

Lote	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Alternaria padwickii</i>	<i>Microdochium oryzae</i>
A	0,0*	2,0 f**	1,0 f	2,0 cd
B	0,0	1,0 f	2,0 ef	0,5 d
C	0,5	5,5 ef	3,5 def	10,0 b
D	0,0	7,5 de	7,0 d	6,5 bc
E	2,0	11,0 cd	6,0 de	9,5 b
F	1,5	13,0 bc	12,5 c	9,0 b
G	0,0	17,5 b	20,0 b	21,5 a
H	0,5	17,5 b	25,0 a	22,5 a
I	0,0	25,0 bc	16,0 bc	17,0 a

\* Debido a la baja incidencia de este hongo, no fue necesario análisis estadístico.

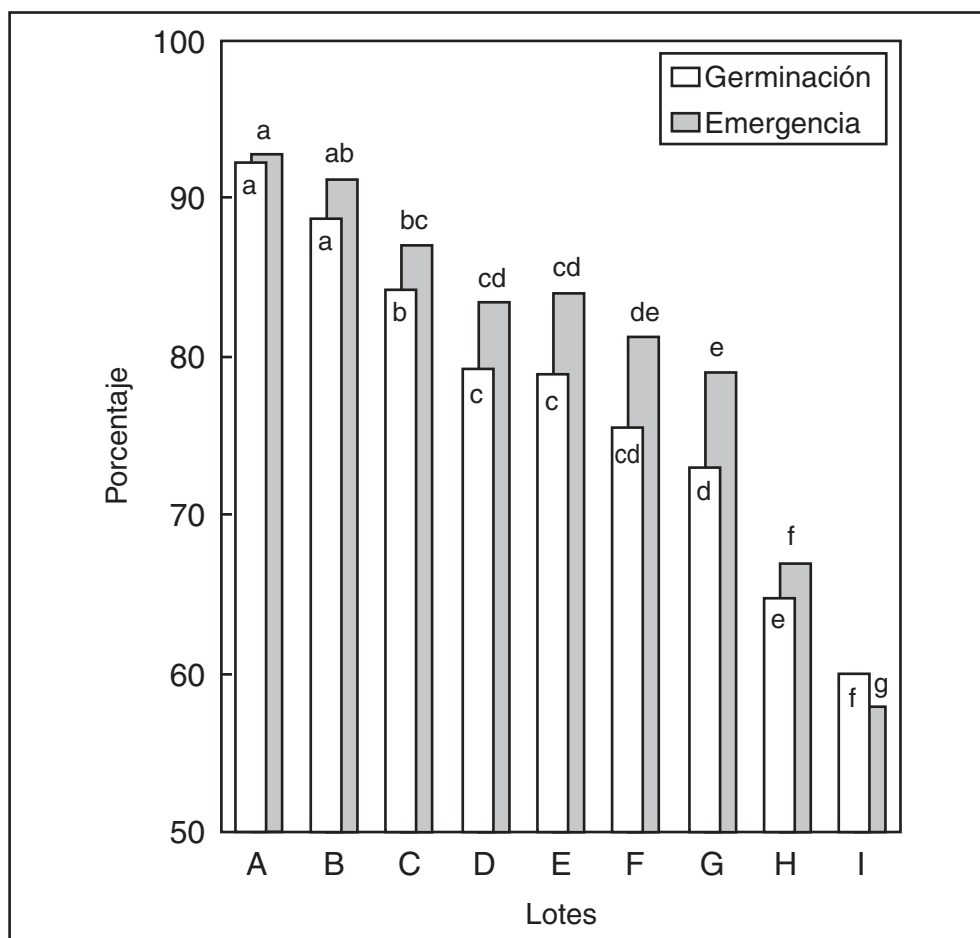
\*\* Valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ), según la prueba de diferencia mínima significativa.

rencias estadísticas ( $p \leq 0,05$ ) en el grado de contaminación de los lotes en cada cultivar (Cuadros 1 y 2). En el cv. CR-5272 los lotes A, B y C presentaron, en términos generales, los menores porcentajes de infección, consideración que en el caso del cv. CR-1113 corresponde a los lotes A, B, C y D. La mayor presencia de patógenos se observó en los lotes E y H del cv. CR-5272, mientras que en el cv. CR-1113 correspondió a los lotes G, H e I.

La presencia de *Pyricularia oryzae* en ambos cultivares apenas alcanzó el 2% y no se detectó en la mayoría de los lotes. *Bipolaris oryzae*, *Alternaria padwickii* y *Microdochium oryzae* estuvieron presentes en el 100% de los lotes. Además, en algunos casos y en baja proporción, se observó la presencia de *Curvularia spp*, *Fusarium semitectum*, *F. moniliforme* y *Poma sp*. Es importante mencionar que generalmente el grado de infección de los tres principales hongos fue concomitante, de manera que los lotes presentaron un bajo, intermedio o alto porcentaje de infección para los tres patógenos a la vez.

El porcentaje de germinación y de emergencia fue estadísticamente diferente ( $p \leq 0,05$ ) en los lotes de arroz estudiados, de manera que en el cv. CR-5772 los valores más altos fueron 92 y 92,5% (lote A), los valores más bajos correspondieron a 60 y 61% (lote I), respectivamente. En el cv. CR-1113 los valores mayores fueron 93 y 94% (lote A) y los menores 75 y 79,5 (lote H) para germinación y emergencia, respectivamente (Figuras 1 y 2). Además, en el primer cultivar sólo tres lotes (A, B y C) superaron un 80% de germinación, mientras que en el segundo, solamente los lotes H e I no lo superaron. Cabe destacar que casi en todos los casos el porcentaje de emergencia fue ligeramente superior que el correspondiente porcentaje de germinación.

En el porcentaje de plántulas enfermas también se observó un comportamiento diferencial entre los lotes de semillas de ambos cultivares ( $p \leq 0,05$ ). En la Figura 3 se observa claramente como en el cv. CR-5272 hay un aumento gradual y generalizado en la propor-



**Figura 1**

**Porcentajes de germinación y de emergencia en semilla de 9 lotes de arroz cultivar CR-5272 con diferentes grados de infección por hongos patógenos**

ción de plántulas enfermas conforme aumenta el porcentaje de infección de las semillas, tanto por *B. oryzae* como por *A. padwickii*. En el cv. CR-1113 la situación es prácticamente la misma,

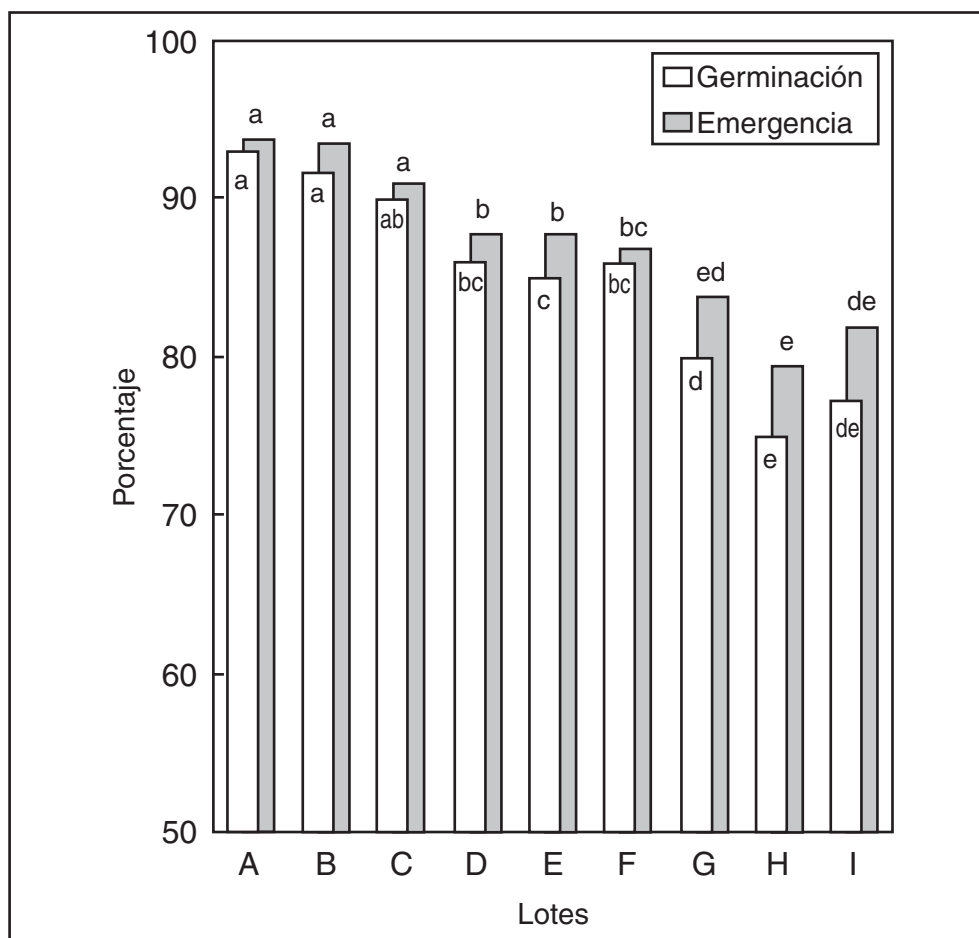
aunque la asociación entre plántulas enfermas y porcentaje de infección en las semillas parece ser aún más estrecha, especialmente con *B. oryzae* (Figura 4).

**Cuadro 3**

**Coefficientes de correlación simple (r) entre tres hongos patógenos portados en las semillas de dos cultivares de arroz y el porcentaje de plántulas normales, de plántulas enfermas y la emergencia**

Patógeno	CR-5272			CR-1113		
	Germinación	Enfermas	Emergencia	Germinación	Enfermas	Emergencia
<i>B. oryzae</i>	-0,68	0,57	-0,58	-0,76	0,71	-0,83
<i>A. padwickii</i>	-0,46	0,43	-0,42	-0,86	0,85	-0,83
<i>M. oryzae</i>	-0,46	0,43	-0,39	-0,71	0,67	-0,71

Todos los índices de correlación son significativos ( $p \leq 0,05$ )



**Figura 2**

**Porcentajes de germinación y de emergencia en semilla de 9 lotes de arroz cultivar CR-1113 con diferentes grados de infección por hongos patógenos**

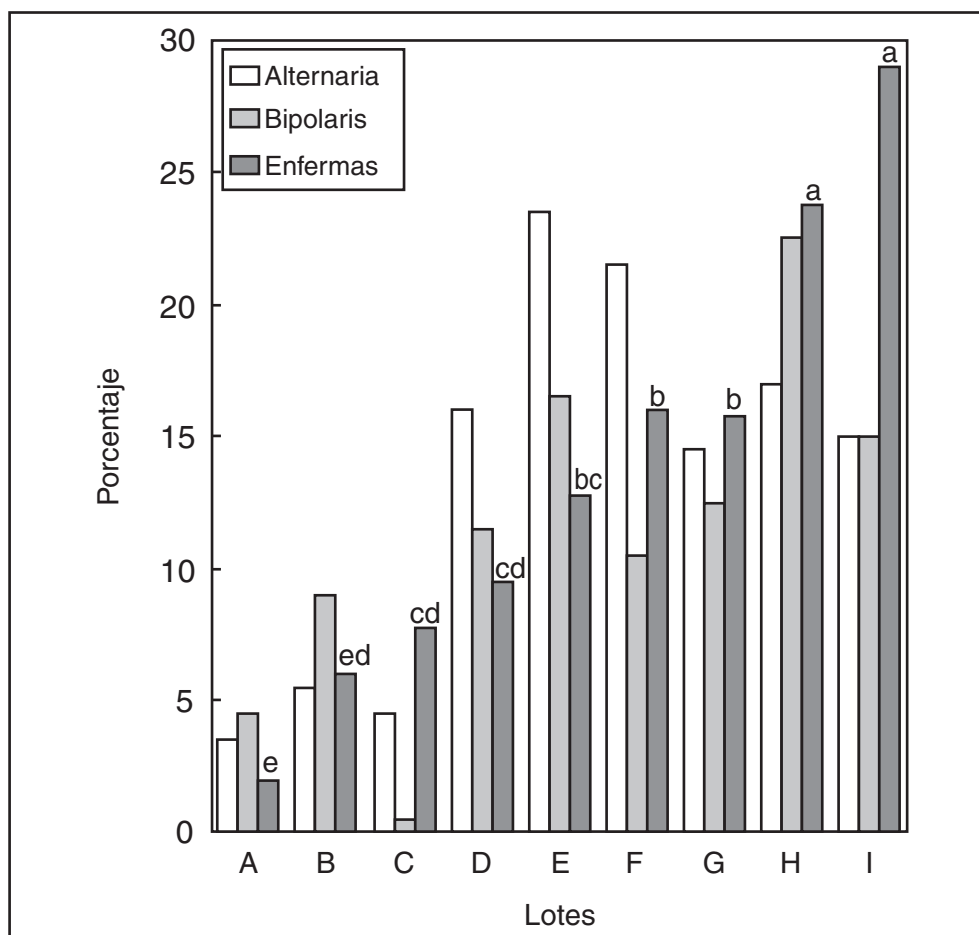
En el Cuadro 3 se presentan los resultados del análisis de correlación entre los principales hongos encontrados en las semillas y los porcentajes de germinación de plántulas normales y de emergencia. En el cv. CR-5272, *B. oryzae* es el que muestra la mayor correlación negativa con la germinación y la emergencia, y positiva con el porcentaje de plántulas enfermas. En contraposición, en el cv. CR-1113 esta particularidad le corresponde a *A. padwickii*. En los dos cultivares, *M. oryzae* presentó los coeficientes de correlación más bajos con respecto a las variables antes mencionadas.

Finalmente, las principales anomalías

presentes en las plántulas enfermas fueron las siguientes: coleoptilo necrosado emergió de la semilla, coleoptilo y primera hoja débiles con decoloración en el punto de unión con la semilla o completa decoloración necrótica de ambas estructuras, decoloración marrón de la raíz primaria con escasas o ausentes raíces secundarias, raíz primaria corta, necrosada y atrofiada, manchas necróticas en el coleoptilo y raíz primaria ahilada con decoloración marrón.

## Discusión

Los hongos patógenos presentes en las

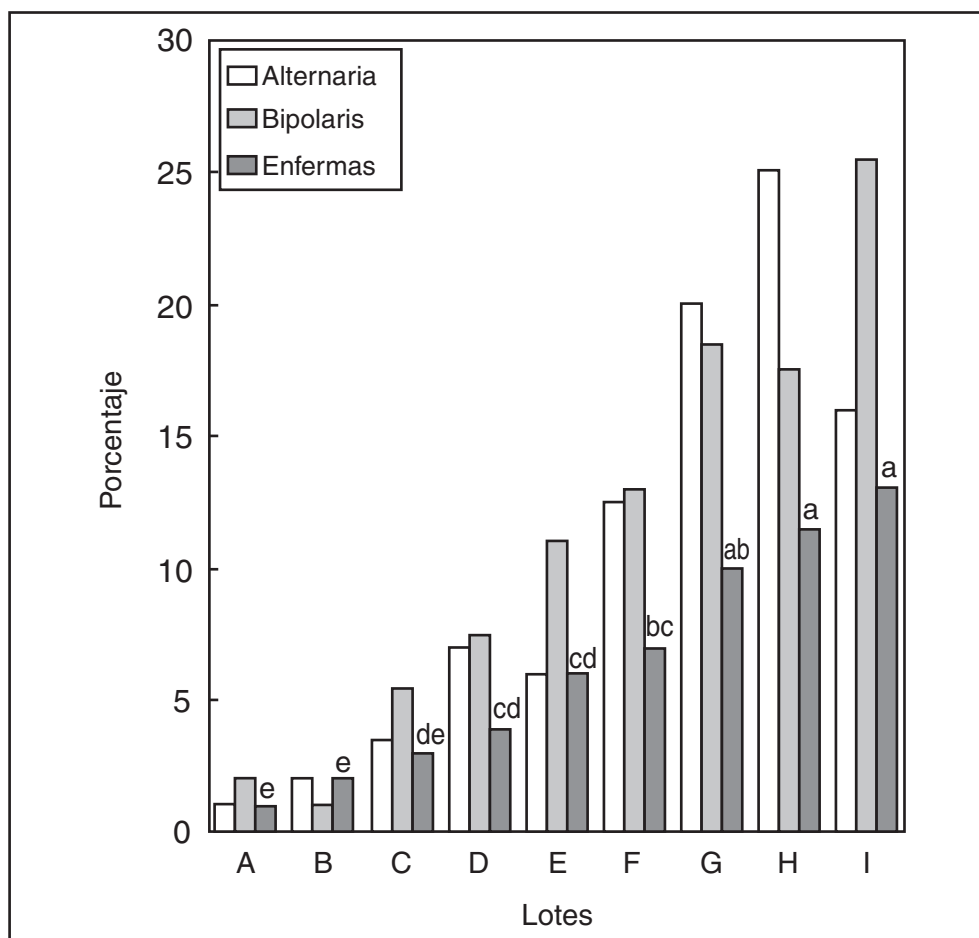


**Figura 3**  
**Porcentaje de infección con *Bipolaris oryzae* y *Alternaria padwickii* en 9 lotes de semilla de arroz del cultivar CR-5272 y su relación con el porcentaje de plántulas enfermas.**

semillas de las diferentes especies cultivadas constituyen uno de los problemas limitantes en la producción vegetal y es uno de los factores más difíciles de asociar con el rendimiento, debido a que intervienen muchas otras variables. De hecho, en muchos casos la única manifestación tangible del patógeno es una disminución en el número de plántulas emergidas, efecto que en Costa Rica es difícilmente apreciable en el cultivo del arroz, puesto que se usan densidades de siembra muy altas.

*P. oryzae* causa la enfermedad más importante en el cultivo del arroz debido

a su efecto devastador sobre las cosechas, a su amplia distribución mundial y a la existencia de numerosas razas del organismo causal. En algunas regiones de Filipinas ha causado mermas superiores a un 50% en el rendimiento (Ou, 1985) y en Brasil constituye el mayor problema en la producción de arroz en secano (Prabhu y Morais, 1986). En este trabajo, la presencia de *P. oryzae* en los lotes de semillas evaluados fue muy escasa y en porcentajes de infección muy bajos, lo que concuerda con los resultados de Alizaga *et al.* (1983). de Ribeiro y Amaral (1980) y de Sevilla y Guerrero (1983), quienes lo detectaron única-



**Figura 4**  
**Porcentaje de infección con *Bipolaris oryzae* y *Alternaria padwickii* en 9 lotes de semilla de arroz del cultivar CR-1113 y su relación con el porcentaje de plántulas enfermas.**

mente en dos muestras de las 445 evaluadas. Lo anterior, aunque usual, no es una situación generalizada ya que Chung y Lee (1983) colectaron, en campos severamente infectados, muestras de arroz del cv. Jinheung con el 65% de infección en la cubierta seminal. Sin embargo, al sembrar dichas semillas sólo observaron las lesiones típicas de este patógeno en el 7% de las plántulas. En otro estudio realizado por Lamey (1970), semillas de arroz con un alto porcentaje de infección superficial (40%) produjeron sólo un 8% de plántulas enfermas. Debido a los bajos niveles de contaminación observados en los lotes de ambos cultivares,

es difícil que las plántulas lleguen a presentar los síntomas asociados con *P. oryzae*. Por otro lado, Ou (1985) afirma que el principal medio de diseminación de las conidias son las corrientes de aire, aunque también se diseminan por conidias en el agua de riego o por semillas y rastrojos de cosecha infectados.

Las áreas de cultivo atacadas por *B. oryzae* pueden experimentar una reducción considerable en el rendimiento. Aluko (1975) estimó que las pérdidas causadas por este hongo en Nigeria oscilaron entre un 12 y un 43%, en tanto que en Brasil, Prahbu *et al.*



(1980) constataron mermas desde el 12 hasta el 30% en el peso del grano y del 18 al 22% en el llenado. En adición, es común encontrar lotes comerciales de semilla de arroz con diversos grados de contaminación, como lo demuestran Sevilla y Guerrero (1883), que detectaron 214 lotes infectados en una muestra de 414 lotes.

*B. oryzae* comúnmente reduce la germinación de las semillas infectadas (Guerrero *et al.*, 1972; Alizaga *et al.*, 1983). Sing *et al.* (1979) observaron una reducción en el número de plántulas normales que varió entre el 11 y el 29%, mientras que Prabhu y Vieira (1989) determinaron que un lote del cultivar IAC-899 severamente infectado, alcanzó apenas el 17,5% de germinación, con una transmisión del 60% del hongo a las plantas. Los resultados de estos investigadores confirman lo observado en CR-5272 y CR-1113, pues la proporción de plántulas normales se redujo y la de enfermas aumentó conforme se incrementó la contaminación por *B. oryzae*, lo que pone en evidencia la asociación de este patógeno con mermas en la calidad de las semillas y en el rendimiento potencial de la cosecha. En relación con lo anterior, Guerrero *et al.* (1973) hicieron dos observaciones interesantes: 1) encontraron *B. oryzae* en un 60% de las plántulas enfermas, 2) determinaron que el 78% de las plántulas con raíz primaria y coleoptilo, y primera hoja mal desarrollada con decoloración marrón estaban infectadas con dicho hongo. Adicionalmente, encontraron *A. padwickii* en el 23% de las plántulas enfermas.

En las pruebas de sanidad y en los ensayos de germinación es común observar que las semillas infectadas con *A. padwickii* presentan tanto una germinación baja como una pudrición de las semillas, de las raíces y del coleoptilo

(Agarwal *et al.*, 1989). En este experimento, en ambos cultivares se puede asociar una reducción en los porcentajes de germinación y de emergencia con un aumento en el grado de infección por *A. padwickii* y *B. oryzae*. Sin embargo, el porcentaje de plántulas normales en el ensayo de emergencia fue generalmente mayor, debido posiblemente a que las condiciones ambientales fueron muy favorables para la emergencia de las plántulas y a que en el suelo las condiciones para el desarrollo de los patógenos suelen ser menos favorables que en el laboratorio, vg. microorganismos antagonistas. Desde una perspectiva complementaria, Tempe y Binnerts (1979) opinan que el porcentaje de infección en las pruebas de laboratorio es generalmente mayor que el obtenido en el campo y consideran que esto se debe a limitaciones propias de los métodos de evaluación de sanidad, en vista de que la información recopilada limita al porcentaje de semillas infectadas, mientras que la cantidad de inóculo, su naturaleza o su ubicación se desconoce. Además, si bien es cierto que el grado de desarrollo de muchas enfermedades en el campo depende en mayor o menor medida del grado de infección de las semillas, suelen ser más importantes las condiciones ambientales imperantes durante la siembra y el desarrollo del cultivo.

El hecho de que *B. oryzae* y *A. padwickii* presentaran coeficientes de correlación simple notablemente mayores en el cv. CR-1113 que en el cv. CR-5272, significa que a un incremento paulatino en el porcentaje de infección de las semillas correspondió un aumento o disminución gradual para las variables germinación, plántulas enfermas y porcentaje de emergencia. Además, parece que en el cv. CR-1113 dichos hongos tienen un efecto detri-

mental menor sobre la calidad de las semillas, ya que a niveles similares de infección se obtuvo un porcentaje menor de plántulas enfermas que en el cv. CR-5272 (Figuras 3 y 4).

En las pruebas de germinación normalmente no se asocia a *M. orizae* con la incidencia de plántulas anormales, aunque en este trabajo se incluyó dicho patógeno debido a su alta presencia en los lotes de semilla de arroz evaluados. Singh y Sen Gupta (1981) determinaron que *M. oryzae* se encontraba presente en el exterior de las semillas y no lograron identificar plantas enfermas a partir de semillas natural o artificialmente inoculadas. Sin embargo, Mía, Saffeulla y Shetty (1986), citados por Agarwal *et al.* (1989), demostraron que el hongo se encuentra en la cubierta, en el endosperma y en el embrión, y hallaron que el 50% de las semillas infectadas transmiten la enfermedad a las plántulas, aunque éstas normalmente no manifiestan síntomas.

Es evidente que la utilidad de los ensayos sanitarios es limitada, especialmente porque es difícil correlacionar el efecto de los patógenos transmitidos por semilla sobre el desarrollo y la producción de los cultivos, pues además de la gran influencia de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de las enfermedades, el principal foco de transmisión del parásito puede no ser la semilla. Por lo anterior, un análisis ligero puede llevar al error de asociar pérdidas en las cosechas con la acción directa de un patógeno transmitido por la semilla, cuando en realidad la verdadera fuente de contaminación sea otra.

Con la finalidad de valorar la calidad de los lotes de semillas en los programas de certificación, los ensayos de germinación y de sanidad deben ser complementarios, pues el objetivo del

primero es brindar información acerca de la calidad fisiológica de la semilla y en alguna medida sobre el posible porcentaje de emergencia y de establecimiento de plantas, bajo condiciones relativamente favorables en el campo. Mientras que el del segundo, es determinar el grado de contaminación de las semillas por hongos patógenos de importancia, así como decidir si la semilla debe ser tratada y cuál fungicida es conveniente utilizar. Finalmente, son de invaluable beneficio para la implementación de medidas cuarentenarias.

## Bibliografía

- Agarwal, P.; Nieves Mortensen, C.; Mathur, S. 1989. Seed-born diseases and seed health testing of rice. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries (Copenhagen). Technical Bulletin N° 3. 106 p. (CAB International Mycological Institute. Phytopathological Papers N° 30).
- Alizaga, R.; Flores, G.; Cavaría, C. 1983. Efecto de la temperatura y del sustrato sobre la manifestación de hongos patógenos durante el ensayo de germinación en semilla de arroz. *Agronomía Costarricense* 7 (1/2):63-67.
- Aluko, M.O. 1975. Crop Losses caused by the brown leaf spot disease of rice in Nigeria. *Plant disease reporter* 59:609-613.
- Chung, H.S.; Lee, C.U. 1983. Detection and transmission of *Pyricularia oryzae* in germinating rice seed. *Seed Science and Technology* 11(3):625-637.
- Guerrero, F.; Mathur, S.; Neergaard, P. 1972. *Proceedings of the International Seed Testing Association* 37(3):985-997.
- International Seed Testing Association. 1976. *International Rules for Seed Testing*. *Seed Science and Technology* 4(1):1-77.
- Lamey, H.A. 1970. *Pyricularia oryzae* on rice seed in the United States. *Plant Disease Reporter* 54\_931-935.
- OU, S.H. 1985. *Rice Diseases*. CAB International Mycological Institute, Kew. Surrey, U.K.

- Prabhu, A.S.; Morais, O.P. 1986. Blast disease management in upland rice in Brasil. In Progress in upland Rice Research. Proceedings of the 1985 Jakarta Conference:383-392.
- Prabhu, A.S.; Vieira, N.R. de A. 1989. Sementes de arroz infectadas por *Drechslera oryzae*: Germinação, Transmissão e Controle. Boletim de Pesquisa, Goiânia, EMBRAPA-CNPAP 7:1-36.
- Prabhu, A.S.; Lopes, A.S.; Zimmermann, F.J. 1980. Infecção da folha e do grão de arroz por *Helminthosporium oryzae* e seus efeitos sobre os componentes da produção. Pesquisa Agropecuária Brasileira 15(2):183-189.
- Ribeiro, A.; Amaral, A. 1980. Efeitos da sanidade sobre a qualidade e o desempenho das sementes de arroz. Tecnologia de Sementes 3(1):37-47.
- Sevilla, E.P.; Guerrero, F.C. 1983. Production of quality seed in the Philippines. Seed Science and technology 11(3a):1139-1143.
- Sing, S.A.; Sen Gupta, C.K. 1981. Transmission of *Rhynchosporium oryzae* by seed. International Rice Research Newsletter 6:11.
- Singh, R.P.; Sing, P.N.; Shukla, P. 1979. Note on assessment of losses in rice due to brown leaf spot disease. Indian Journal of Agricultural Research 13:57-58.
- Tempe, J.; Binnerts, J. 1979. Introduction to methods of seed health testing. Seed Science and Technology 7(4):601-636.