

Caracterización de cepas ambientales de *Pyricularia oryzae* Cav. aisladas de la atmósfera de un agroecosistema arrocerero en Cuba

Characterization of environmental strains of *Pyricularia oryzae* Cav. isolated from the atmosphere of a rice agroecosystem in Cuba

*MICHEL ALMAGUER, TERESA I. ROJAS FLORES, VLADIMIR DOBAL AMADOR

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Calle 25, No. 455, Vedado, La Habana, Cuba

<https://orcid.org/0000-0001-5376-4694>; <https://orcid.org/0000-0003-2601-9626>;
<https://orcid.org/0000-0002-4713-3922>

michelalm@fbio.uh.cu; trojas@fbio.uh.cu; vdobal84@gmail.com

*: *Corresponding author*

(Recibido: 07/11/2018; Aceptado: 18/11/2019; Publicado on-line: 17/12/2019)

Resumen

Pyricularia oryzae Cav. es el agente causal de la piriculariosis, enfermedad más importante en el cultivo del arroz. La presencia de sus propágulos en el aire, así como la incidencia de la enfermedad se han relacionado con la temperatura ambiental. En esta investigación se caracterizaron morfo-fisiológicamente las cepas de *P. oryzae*, recolectadas de la atmósfera de un agroecosistema arrocerero del occidente cubano. Se evaluaron los caracteres culturales en diferentes medios y condiciones de cultivo, así como la esporulación y crecimiento en PDA a 30°C. Todas las cepas presentaron características culturales y micromorfológicas propias de la especie, pero pueden agruparse en cuatro conjuntos lo que evidencia su variabilidad, relacionada especialmente con la temperatura.

Palabras clave: *Pyricularia*, arrozal, temperatura, crecimiento, esporulación

Abstract

Pyricularia oryzae Cav. is the causal agent of rice blast, the most important disease in the rice crop. The presence of its propagules in the air, as well as the incidence of the disease have been related to the ambient temperature. In this investigation, strains of *P. oryzae*, collected from the atmosphere of a rice agroecosystem in western Cuba, were morphophysiologicaly characterized. Cultural characters were evaluated in different culture media and conditions, as well as sporulation and growth in PDA at 30°C. All strains presented cultural and micromorphological characteristics of the species, but can be grouped into four sets, which shows their variability, especially related to temperature.

Keywords: *Pyricularia*, ricefield, temperature, growth, sporulation

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades fúngicas que pueden afectar al arroz (*Oryza sativa* L.) destaca la piriiculariosis, causada por *Pyricularia oryzae* Cav. Su presencia se ha descrito en la mayoría de los países altamente productores de este cereal y en Cuba se presenta con elevada incidencia en la región occidental. Es la enfermedad más difundida y destructiva de este cultivo, debido a su difícil manejo y la potencialidad patogénica de su agente causal (CÁRDENAS *et al.*, 2007). Los síntomas se manifiestan en las partes aéreas de la planta en varias etapas de desarrollo del cultivo y el aire es la principal vía de propagación (CORDERO & RIVERO, 2001; ZHANG *et al.*, 2016).

Se ha planteado la diversidad patogénica de las poblaciones de *P. oryzae* y se han desarrollado cultivares de arroz resistentes a la piriiculariosis, como una de las principales vías de su manejo. Sin embargo, la infección de variedades resistentes puede deberse a la interacción con diferentes poblaciones del patógeno o a la aparición de nuevos patotipos (CONSOLO *et al.*, 2008).

Las condiciones ambientales pueden influir en la aparición de la enfermedad. En este sentido, en el estudio de CÁRDENAS *et al.* (2010) se detectó que la temperatura influyó sobre la incidencia de la piriiculariosis en zonas arroceras del occidente de Cuba. Por su parte, ALMAGUER *et al.* (2012) aislaron propágulos de este hongo de la atmósfera de un agroecosistema arrocerero cubano, durante el ciclo del cultivo, y su presencia en el aire también estuvo relacionada positivamente con la temperatura ambiental. Por lo que el objetivo de la presente investigación fue caracterizar una serie de cepas de *P. oryzae*, enfocado en el efecto de la temperatura en su crecimiento y germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ocho cepas de dicha especie (AAM-246, AAM-275, AAM-336, AAM-344, AAM-361, AAM-381, AAM-403 y AAM-425), previamente recolectadas en el estudio de ALMAGUER *et al.* (2012). Para la caracterización cultural y morfológica, se realizaron cultivos monospóricos en los medios Agar papa dextrosa (PDA), Agar extracto de malta (MEA), Agar arroz (AA) y Agar Czapek (Cz) (ATLAS, 2010), incubados a tem-

peratura ambiente ($28 \pm 3^\circ\text{C}$) y con ritmo de luz natural. Se midieron los diámetros de las colonias y se observaron las características culturales en un microscopio estereoscópico (Zoel modelo NTB-2B, China). Las características morfológicas se constataron en preparaciones en fresco, en un microscopio óptico de campo claro con cámara digital acoplada que permitió tomar fotomicrografías con el software Motic Images 2000 release 1.2 (Micro Optic Industrial Group CO, LTD).

De cada cepa pura se sembraron tres réplicas en PDA y se incubaron a 25°C , 30°C y 35°C . Se midieron los diámetros de crecimiento a los 7 días para determinar la influencia de estas tres temperaturas en el crecimiento. Para caracterizar la esporulación, cada cepa se sembró en PDA y se incubaron a 30°C durante siete días, al cabo de los cuales se tomaron tres fragmentos circulares de 4mm de diámetro que se depositaron en un tubo con 0,5 ml de suero fisiológico y 0,05% de Tween 80. Se agitaron estas suspensiones, se depositaron 0,2 ml en un portaobjetos excavado y se contaron los conidios presentes en 10 campos de visión al microscopio óptico de campo claro.

Los datos cumplieron con la normalidad y homocedasticidad según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett, respectivamente. Para detectar diferencias significativas en los valores de crecimiento de cada aislado en las diferentes temperaturas, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) que fue completado con la prueba de Tukey ($p < 0,05$). De igual manera se efectuó para la esporulación. Se realizó un agrupamiento de los aislados mediante un análisis de conglomerado aplicando UPGMA (del inglés *Unweighted pair-group average*) y la distancia euclidiana. Todos los análisis se realizaron en el programa SATISTICA versión 8.0 sobre Windows (STATSOFT, INC., 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las cepas se observaron las características morfológicas descritas por ELLIS (1971). Conidióforos rectos, no ramificados, geniculados hacia el ápice, lisos y pardo claros $114\text{-}130$ [$125,9$] x $3\text{-}4$ [$3,5$] μm ; células conidiógenas poliblasticas, integradas, geniculadas y con denticulos (Fig. 1). Produjeron conidios solitarios, acropleurógenos, obpiriformes, hialinos, lisos, con dos septos e hilum

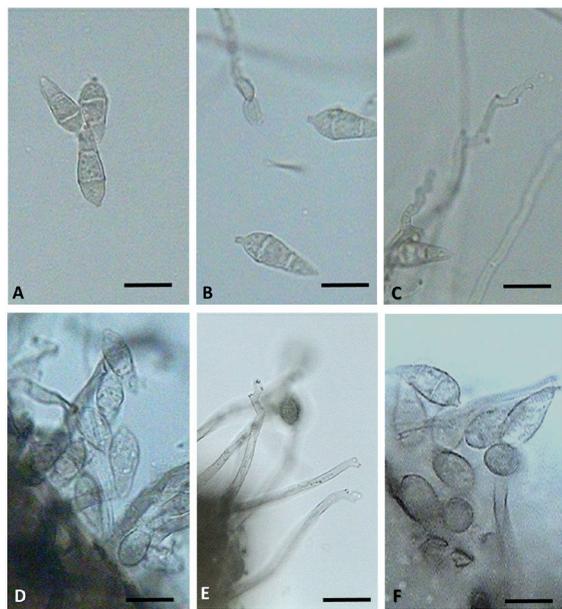


Figura 1. Fotomicrografías de *Pyricularia oryzae*. A: Conidios de la cepa AAM-246, B: Conidios de la cepa AAM-275, C: Conidióforo de la cepa AAM-425, D, E, F: Observaciones en hojas de *Oryza sativa* en el agroecosistema arrozero de aislamiento de las cepas ambientales (1000X). Barras de escala: 10 μ m.

Figure 1. Photomicrographs of *Pyricularia oryzae*. A: Conidia of strain AAM-246, B: Conidia of strain AAM-275, C: Conidiophore of strain AAM-425, D, E, F: Observations on leaves of *Oryza sativa* in the rice agroecosystem of isolation of the airborne strains (1000X). Scale bars: 10 μ m.

protuberante, con dimensiones de 18-23 [21,9] x 8-9 [8,9] μ m (Fig. 1 A-C). Aunque *P. oryzae* y *P. grisea* son especies similares en morfología de los conidios, difieren sobre la base de secuencia de ADN en tres *loci* diferentes como γ -actin, Calmodulin (*CaM*), Beta-tubulin (β -*tub*) y rango de hospedante, ya que *P. grisea* infecta solo *Digitaria* spp. (COUCH & KOHN, 2002). En este sentido, se constató la presencia de *P. oryzae* en hojas de arroz (*Oryza sativa* L.) con síntomas de piriculariosis en el arrozal estudiado (Fig. 1 D-E).

En los medio Cz y AA se observó un escaso desarrollo del micelio aéreo de color blanco. En los medio PDA y MEA se obtuvieron colonias de abundante micelio aéreo, textura lanosa y coloración blanco-grisácea. Al cabo de los diez días de incubación las colonias alcanzaron un diámetro similar en los medios PDA (61,7-83,7mm), MEA (55,0-86,0mm) y AA (49,7-78,7mm). Sin embargo, en el medio Cz fueron significativamente menores (7,0-31,7mm). En los medios PDA y AM se evidenciaron estructuras asexuales de reproducción

Tabla 1. Crecimiento de las cepas de *P. oryzae* en los diferentes medios de cultivo a los 4, 7 y 10 días de incubación.

Table 1. Growth of *P. oryzae* strains in the different culture media at 4, 7 and 10 days of incubation.

Medio	Cepa	Días de incubación		
		4	7	10
PDA	AAM-246	28,3 \pm 2,1	48,3 \pm 1,5	70,5 \pm 0,7
	AAM-275	24,7 \pm 2,5	50,0 \pm 0,0	69,3 \pm 0,6
	AAM-336	44,4 \pm 7,0	45,7 \pm 4,0	64,7 \pm 5,5
	AAM-344	26,7 \pm 5,8	53,5 \pm 0,5	73,0 \pm 2,6
	AAM-361	23,7 \pm 9,1	57,5 \pm 0,5	83,7 \pm 3,2
	AAM-381	24,5 \pm 0,7	48,0 \pm 1,0	71,5 \pm 0,7
	AAM-403	24,0 \pm 9,4	56,5 \pm 1,5	80,0 \pm 0,0
	AAM-425	39,9 \pm 2,5	40,7 \pm 1,5	61,7 \pm 1,5
	Cz	AAM-246	7,3 \pm 2,5	11,7 \pm 2,9
AAM-275		6,0 \pm 1,0	10,3 \pm 1,5	13,7 \pm 1,5
AAM-336		7,7 \pm 2,3	15,7 \pm 3,1	31,7 \pm 2,9
AAM-344		8,0 \pm 2,6	13,0 \pm 2,6	20,3 \pm 0,6
AAM-361		10,3 \pm 0,6	21,7 \pm 1,5	27,3 \pm 2,1
AAM-381		3,7 \pm 1,2	4,0 \pm 1,7	7,0 \pm 1,0
AAM-403		10,0 \pm 5,0	15,0 \pm 5,0	22,0 \pm 1,0
AAM-425		4,7 \pm 0,6	5,3 \pm 0,6	8,0 \pm 1,0
AA		AAM-246	23,3 \pm 0,6	31,7 \pm 1,5
	AAM-275	19,7 \pm 1,5	28,0 \pm 1,0	53,3 \pm 1,5
	AAM-336	44,3 \pm 1,2	43,7 \pm 3,2	65,0 \pm 0,0
	AAM-344	30,3 \pm 0,6	54,3 \pm 1,2	65,0 \pm 4,4
	AAM-361	22,3 \pm 3,8	40,3 \pm 0,6	78,7 \pm 1,5
	AAM-381	23,7 \pm 3,2	50,3 \pm 2,5	70,0 \pm 1,0
	AAM-403	40,3 \pm 0,6	60,3 \pm 0,6	78,0 \pm 1,0
	AAM-425	34,4 \pm 0,6	37,7 \pm 1,5	53,3 \pm 2,9
	MEA	AAM-246	28,0 \pm 2,6	49,0 \pm 5,2
AAM-275		34,7 \pm 1,5	65,7 \pm 2,1	85,0 \pm 6,2
AAM-336		47,3 \pm 0,0	55,7 \pm 1,2	59,3 \pm 1,2
AAM-344		63,3 \pm 9,8	66,3 \pm 5,5	76,7 \pm 2,9
AAM-361		38,7 \pm 7,0	67,3 \pm 7,1	80,0 \pm 5,0
AAM-381		35,0 \pm 3,6	61,0 \pm 7,0	79,0 \pm 1,7
AAM-403		38,0 \pm 8,2	72,3 \pm 2,1	86,0 \pm 6,9
AAM-425		37,9 \pm 1,2	43,0 \pm 2,0	55,0 \pm 0,1

(conidios y conidióforos). La cepa AAM-425 mostró diámetros significativamente menores en todos los medios evaluados, mientras que la AAM-361 presentó mayor crecimiento, principalmente en los medios PDA, Cz y AA (Tabla 1).

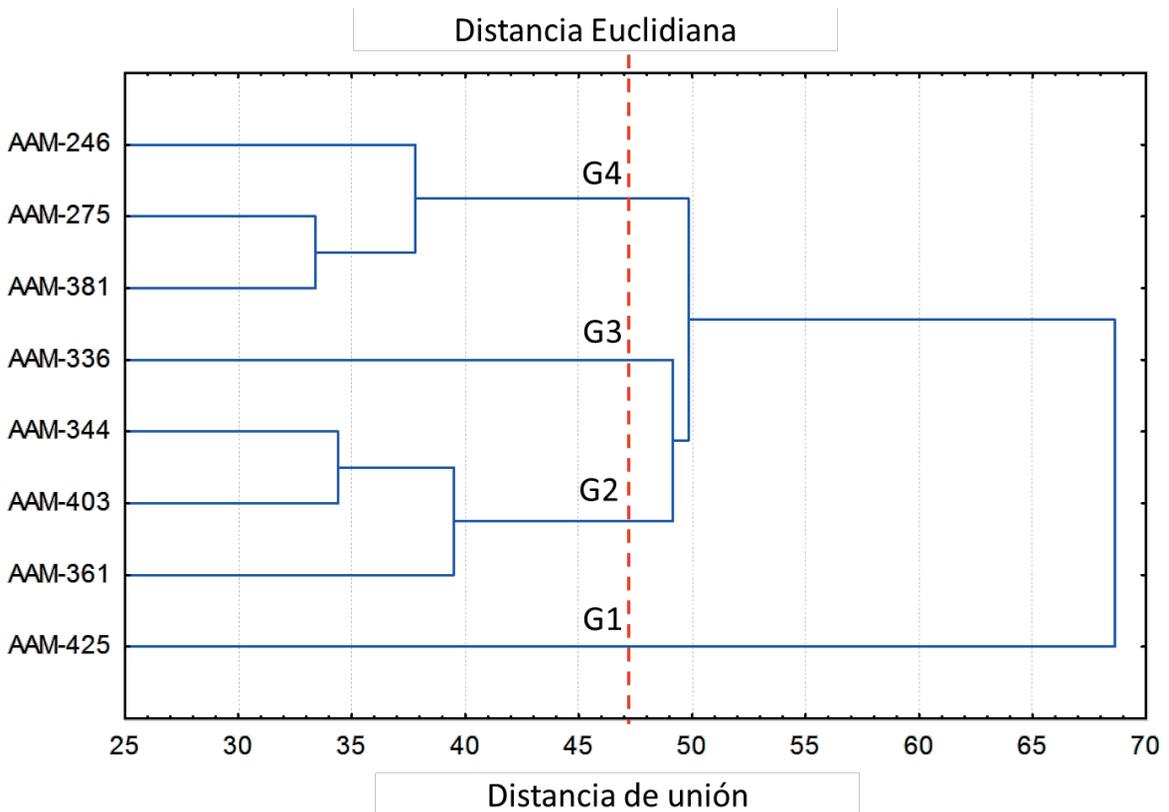
Se encontraron diferencias en el crecimiento a los diez días, entre cepas que fueron aisladas en la misma fecha (AAM-336, AAM-344 y AAM-361). Esto indica, que en la atmósfera circulan propágulos provenientes de diversas poblaciones, con diferentes características fisiológicas, aspecto que

Tabla 2. Crecimiento en PDA de las cepas de *P. oryzae* a tres temperaturas (25°C, 30°C y 35°C), y esporulación en PDA a 30°C.
Table 2. Growth in PDA of *P. oryzae* strains at three temperatures (25°C, 30°C and 35°C), and sporulation in PDA at 30°C.

Cepa	Crecimiento en PDA						Esporulación (Conidios/campo)
	25°C		30°C		35°C		
AAM-246	48	± 3,5	48	± 1,5	7	± 0,0	3 ± 1,5
AAM-275	41	± 5,5	50	± 0,0	6	± 0,5	4 ± 2,6
AAM-336	49	± 3,2	46	± 6,0	8	± 1,0	1 ± 0,0
AAM-344	42	± 3,2	54	± 0,5	8	± 0,5	1 ± 0,6
AAM-361	45	± 1,5	58	± 0,5	10	± 0,5	6 ± 4,6
AAM-381	34	± 8,0	48	± 1,0	5	± 2,0	1 ± 0,0
AAM-403	41	± 5,5	57	± 1,5	9	± 1,0	1 ± 0,0
AAM-425	35	± 5,0	41	± 1,5	7	± 0,5	30 ± 13,6

Figura 2. Dendrograma basado en análisis de conglomerados. Número de variables: 8. Número de casos: 19. UPGMA (del inglés *Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Mean*). Distancia métrica: Distancia Euclidiana (no-estandarizada). G1, G2, G3, G4: Grupo 1, 2, 3 y 4, respectivamente

Figure 2. Dendrogram based on cluster analysis. Number of variables: 8. Number of cases: 19. UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Metric distance: Euclidean distance (non-standardized). G1, G2, G3, G4: Group 1, 2, 3 and 4, respectively



fue planteado por CASTEJÓN-MUÑOZ *et al.* (2004) para esta especie fúngica.

La diferencia morfológica de cada cepa en cada medio de cultivo puede deberse a la variada composición nutricional de estos. Varios autores informan que las características culturales de *P. oryzae* varían según el medio de cultivo y los aislados (KHADKA

et al., 2012; KUMAR & SINGH, 1995; Leaver *et al.*, 1947). En este sentido, SRIVASTAVA *et al.* (2014) afirmaron esta variabilidad cultural en varios aislados de lesiones durante su cultivo *in vitro*. VANARAJ *et al.* (2013) evidencian que el crecimiento es rápido en PDA, MEA y más lento en AA.

CONSOLO *et al.* (2008) sugirieron que los medios ricos en compuestos orgánicos favorecen la formación de micelio y la esporulación, tal como se constató en PDA. En los hábitats naturales los nutrientes se encuentran entre los factores ambientales que más influyen en el desarrollo de este hongo, y para su manejo y su estudio en condiciones de laboratorio, es necesario comprender el crecimiento vegetativo y la esporulación (HOSSEYNI-MOGHADDAM & SOLTANI, 2013).

En Cuba existen monitoreos de *P. oryzae* en plantaciones de arroz (CÁRDENAS *et al.*, 2007) y la incidencia de la enfermedad se relaciona positivamente con la temperatura (CÁRDENAS *et al.*, 2010). Al evaluar la influencia de este factor en el crecimiento se observó que todas las cepas presentaron mayor crecimiento a 25°C y 30°C (Tabla 2).

En las cepas estudiadas, las temperaturas de 25°C y 30°C, y los medios PDA y AM, favorecieron el crecimiento y formación de abundante micelio, respectivamente. En la literatura se ha planteado que la temperatura óptima para el crecimiento de esta especie está alrededor de los 28°C (CORDERO & RIVERO, 2001). Solo se detectaron diferencias significativas en los diámetros de las colonias a 30°C, donde los mayores valores se constataron en las cepas AAM-336, AAM-361 y AAM-403 y el menor para la cepa AAM-425, lo que evidencia que tienen una respuesta variada a este factor ambiental. En las condiciones tropicales de Cuba se alcanza 30°C fácilmente (LECHA *et al.*, 1994) y esto puede condicionar la aparición de la enfermedad si el patógeno está presente (CÁRDENAS *et al.*, 2010). Por lo que puede existir un impacto variable en la severidad según la respuesta fisiológica de diversas poblaciones del hongo a este factor ambiental.

La cepa AAM-425 presentó la mayor esporulación, destacándose del resto de las cepas, que mostraron bajos valores (Tabla 2). La temperatura ambiental se relaciona con la dispersión de este hongo a través del aire (PICCO *et al.*, 2004), por lo que la diferencia en la capacidad de esporulación de diferentes poblaciones puede influir en su prevalencia.

Al realizar el análisis de conglomerado con todos los caracteres fenotípicos se observa la formación de cuatro grupos (Fig. 2). Se destacan las diferencias de la cepa AAM-425 (G1) del resto de las cepas.

Esta agrupación sugiere que existe variabilidad entre los propágulos dispersados por el viento, que

puede estar relacionada con una plasticidad genética y podría influir en la capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, especialmente relacionadas a la temperatura. En este sentido, GARCÍA-SOLACHE & CASADEVALL (2010) analizan los posibles riesgos de la adaptación de los hongos al aumento de las temperaturas, y relacionan los efectos que tendría el calentamiento global sobre las poblaciones fúngicas. HUO *et al.* (2012) plantearon que condiciones más cálidas podrían alterar la distribución de especies y la incidencia de enfermedades fungosas en cultivos de interés económico. Se ha informado que la repuesta fisiológica de varias poblaciones de esta especie debe ser estudiada con más profundidad. La variabilidad encontrada en el presente estudio, entre cepas aisladas durante un mismo ciclo del cultivo apoya el planteamiento anterior. De esto se derivan las perspectivas de los estudios aeromicológicos para la protección del cultivo del arroz, o el futuro análisis el posible impacto del cambio climático y la vulnerabilidad de zonas tropicales insulares como Cuba, en relación con la influencia en la poblaciones fúngicas.

Por otra parte, según plantearon MARIN-FELIX & CROUS (2019), se hace necesaria una investigación más profunda para delimitar con precisión la especiación dentro de lo que actualmente se circunscribe como *P. oryzae*. En un amplio estudio filogenético, se identificaron tres clados principales en esta especie (CASTROAGUDÍN *et al.*, 2016). El primer clado agrupó los aislados de arroz y corresponde al patógeno *P. oryzae* patotipo *Oryza*. El segundo clado casi exclusivamente alojó aislados asociados con trigo (*P. oryzae* patotipo *Triticum*). Un tercer clado alojó aislados obtenidos de trigo, así como otras poáceas. Este clado era distinto de *P. oryzae* y representó una nueva especie, *Pyricularia graminis-tritici*. Esta nueva especie no pudo distinguirse morfológicamente de *P. oryzae*, pero se observó un espectro de patogenicidad distintivo (CASTROAGUDÍN *et al.*, 2016). Sin embargo, se plantea que el clado “*oryzae*” consiste en varias poblaciones específicas de diferentes huéspedes de pasto que parecen estar en proceso de especiación. En consecuencia, las especies en el clado “*oryzae*” no son comúnmente aceptadas, y algunos autores se refieren a ellas como linajes de *P. oryzae* (CASTROAGUDÍN *et al.*, 2017; MARIN-FELIX *et al.*, 2019).

En la presente investigación se detectaron diferencias fisiológicas entre las cepas atmosféricas de *P. oryzae* aisladas durante un mismo ciclo del cultivo. La variabilidad estuvo relacionada con el crecimiento y la producción de conidios, en respuesta a la temperatura. Este hecho resulta de interés, ya que el aire es la principal vía de dispersión de este hongo. La existencia de varias razas fisiológicas de esta especie puede incidir en la aparición de síntomas en las plantas, teniendo en cuenta que la expresión de estas manifestaciones del proceso de la enfermedad depende de las plantas (especie, variedad, susceptibilidad), del patógeno y del ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMAGUER, M., ROJAS, T.I., DOBAL, V., BATISTA, A., RIVES, N., AIRA, M.J., HERNÁNDEZ, A.N. & HERNÁNDEZ, A. (2012). Aerobiological dynamics of potentially pathogenic fungi in a rice agroecosystem in La Habana, Cuba. *Aerobiologia*, 28: 177–183.
- ATLAS, R.M. (2010). *Handbook of Microbiological media*. CRC press. USA. 2043 pp.
- CÁRDENAS, R., MESA, S., POLÓN, R., PÉREZ, N., CRISTO, E., FABRÉ, L. & HERNÁNDEZ, J. (2010). Relación entre la incidencia de la piriculariosis (*Pyricularia grisea* Sacc.) del arroz (*Oryza sativa* Lin.) y diferentes variables climáticas en el complejo agroindustrial arrocero Los Palacios. *Cultivos Tropicales*, 31(1): 14-18.
- CÁRDENAS, R., TRAVIESO, E., VALDÉS, N., PÉREZ, N., GONZÁLEZ, M.C., CEPERO, N. & FABRÉ L. (2007). Monitoreo de la piriculariosis (*Pyricularia oryzae* Cav.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Fitosanidad*, 11(1): 41-47.
- CASTROAGUDÍN, V.L., DANELLI, A. & MOREIRA, S.I. (2017). The wheat blast pathogen *Pyricularia graminis-tritici* has complex origins and a disease cycle spanning multiple grass hosts. *BioRxiv*: 203455. doi: <http://10.1101/203455>.
- CASTROAGUDÍN, V.L., MOREIRA, S.I. & PEREIRA, D.A.S. (2016). *Pyricularia graminis-tritici*, a new *Pyricularia* species causing wheat blast. *Persoonia*, 36: 199–216.
- CONSOLO, V.F., CORDO, C.A. & SALERNO, G.L. (2008). DNA fingerprint and pathotype diversity of *Pyricularia oryzae* populations from Argentina. *Australasian Plant Pathology*, 37(4): 357-364.
- CORDERO, V. & RIVERO, L. (2001). *Principales enfermedades fungosas que inciden en el cultivo del arroz en Cuba*. Instituto de Investigaciones del Arroz. Ministerio de la Agricultura. Ciudad de La Habana. 115 pp.
- COUCH, B.C. & KOHN, L.M. (2002). A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. *Mycologia*, 94 (4): 683–693.
- ELLIS, M.B. (1971). Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew survey: England. 218-219.
- GARCÍA-SOLACHE, M.A. & CASADEVALL, A. (2010). Global warming will bring new fungal diseases for mammals. *MBio*, 1(1): e00061-10.
- HOSSEYNI-MOGHADDAM, M. & SOLTANI, J. (2013). An investigation on the effects of photoperiod, aging and culture media on vegetative growth and sporulation of rice blast pathogen *Pyricularia oryzae*. *Progress in Biological Sciences*, 3(2): 135-143.
- HUO, Z., LI, M., WANG, L., WEN, Q., XIAO, J., HUANG, D. & WANG, C. (2012). Impacts of climate warming on crop diseases and pests in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 45(10): 1926-1934.
- KHADKA, R.B., SHRESTHA, S.M., MANANDHAR, H.K. & GOPAL, B.K.C. (2012). Study on differential response of *Pyricularia grisea* isolates from rice, finger millet and *Panicum* sp. with local and alien media, and their host range. *Nepal Journal of Science and Technology*, 13(2): 7-14.
- KUMAR, A. & SINGH, R.A. (1995). Differential response of *Pyricularia grisea* isolates from rice, finger millet and pearl millet to media, temperature, pH and light. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 25: 238-242.
- CASTEJÓN-MUÑOZ, M., LARA-ÁLVAREZ I. & AGUILAR PORTERO, M. (2004). Climate influence over air content of *Pyricularia oryzae* conidia and symptomatology of rice crop in Southern Spain. In: Ferrero, A. & Vidotto, F. (Ed.) *Proceeding of Challenges and Opportunities for Sustainable Rice-Based Production Systems*. Torino. Italy, p.10.

- LEAVER, F.W., LEAL, J. & BREWER, C.R. (1947). Nutritional studies on *Pyricularia oryzae*. *Journal of Bacteriology*, 54: 401-408.
- LECHA, L., PAZ, L. & LAPINEL, B. (1994). *El clima de Cuba*. Editorial Academia, La Habana. 186 pp.
- MARIN-FELIZ, Y., HERNÁNDEZ-RESTREPO, M., WINGFIELD, M.J., AKULOV, A., CARNEGIE, A.J., CHEE-WANGKON, R. & LOMBARD, L. (2019). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 2. *Studies in Mycology*, 92: 47-133.
- PICCO, A.M., LORENZI, E., RODINO, D., RODOLFI, M., TABACCHI, M. & BILONI, M. (2004). Airspores detection of *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc. and *Bipolaris* spp. A three years monitoring in different rice fields in northern Italy. In: Ferrero, A. & Vidotto, F. (Ed.) *Proceeding of Challenges and Opportunities for Sustainable Rice-Based Production Systems*. Torino, Italy, p.13.
- SRIVASTAVA, D., SHAMIM, M.D., KUMAR, D., PANDEY, P., KHAN, N.A. & SINGH, K.N. (2014). Morphological and molecular characterization of *Pyricularia oryzae* causing blast disease in rice (*Oryza sativa*) from north India. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(7): 2250-3153.
- STATSOFT, I.N.C. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. Tulsa, USA, 150pp.
- VANARAJ, P., SAVEETHA, K., RAMALINGAM, S.A.R. & SABARIYAPPAN, R. (2013). Variability in *Pyricularia oryzae* from different rice growing regions of Tamil Nadu, India. *African Journal of Microbiology Research*, 7(26): 3379-3388.
- ZHANG, N., LUO, J., ROSSMAN, A., AOKI, T., CHUMA, I., CROUS, P.W., DEAN, R., DE VRIES, R.P., DONOFRIO, N., HYDE, K.D., LEBRUN, M., TALBOT, N.J., THARREAU, D., TOSA, Y., VALENT, B., WANG, Z. & XU, J.. (2016). Generic names in Magnaporthales. *IMA Fungus*, 7: 155 -159.