



Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. Barquisimeto – Venezuela.

<https://orcid.org/0009-0007-2937-1330> yoleidyescalona@ucla.edu.ve

<https://orcid.org/0000-0002-8914-6238> ahernandez@ucla.edu.ve

<https://orcid.org/0000-0002-3337-5437> victoria.jimenez@ucla.edu.ve

ASA/Artículo

doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.17464689>

Recibido: 21-01-2025

Aceptado: 11-06-2025

RESUMEN

El objetivo principal del estudio fue analizar las técnicas moleculares empleadas en la identificación y caracterización de bacterias fitopatógenas asociadas a bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.), mediante un análisis bibliométrico de la producción científica publicada entre 2013 y 2023. La metodología consistió en una revisión sistemática de literatura en bases de datos como Redalyc, Dialnet, Scielo, Google Académico, entre otras, utilizando palabras clave relacionadas con bacteriosis y técnicas moleculares en arroz. Se recopilaron artículos científicos y tesis de grado, clasificando la información por autores, año, revista, país, patógeno estudiado, técnica molecular y tipo de estudio. El procesamiento de datos se realizó en Excel, generando matrices y gráficos para el análisis de indicadores como técnica utilizada, temática de estudio, agente causal, distribución geográfica, productividad autorial y años de publicación. Los resultados revelan que la técnica de PCR y la secuenciación del gen 16S rDNA son las más empleadas, predominando los estudios de identificación bacteriana. *Xanthomonas oryzae* es el patógeno más estudiado y China lidera la producción científica. Se concluye que las técnicas moleculares han mejorado la rapidez y precisión en la identificación de bacterias fitopatógenas en arroz, aunque existen limitaciones de acceso tecnológico en algunos países. Se recomienda fomentar la capacitación y transferencia tecnológica, así como fortalecer redes de investigación internacional para optimizar el manejo de bacteriosis en arroz.

Palabras Clave: arroz, bacteriosis, técnicas moleculares, análisis bibliométrico, *Xanthomonas oryzae*



Molecular techniques applied to the study of bacteriosis in rice (*Oryza sativa* L.): bibliometric analysis of scientific production

ABSTRACT

The main objective of this study was to analyze the molecular techniques used for the identification and characterization of phytopathogenic bacteria associated with rice (*Oryza sativa* L.) bacteriosis, through a bibliometric analysis of scientific production published between 2013 and 2023. The methodology involved a systematic literature review in databases such as Redalyc, Dialnet, Scielo, and Google Scholar, using keywords related to bacteriosis and molecular techniques in rice. Scientific articles and theses were collected, with information classified by author, year, journal, country, studied pathogen, molecular technique, and study type. Data processing was performed in Excel, generating matrices and charts to analyze indicators such as technique used, study topic, causal agent, geographic distribution, author productivity, and publication years. Results show that PCR and 16S rDNA gene sequencing are the most commonly used techniques, with bacterial identification studies predominating. *Xanthomonas oryzae* is the most studied pathogen, and China leads scientific production. It is concluded that molecular techniques have improved the speed and accuracy of phytopathogenic bacteria identification in rice, although technological access remains limited in some countries. It is recommended to promote training and technology transfer, as well as strengthen international research networks to optimize the management of rice bacteriosis.

keywords: rice, bacteriosis, molecular techniques, bibliometric analysis, *Xanthomonas oryzae*

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial, es el alimento básico para más de la mitad de la población mundial, ocupa el tercer lugar después del trigo y maíz en cuanto a superficie cosechada, para el 2021 el área cosechada fue 187.723 ha y una producción de 4.20 t/ha (FAO, 2023). Representa un rubro altamente estratégico en el aporte calórico de la dieta del pueblo venezolano, constituyendo así, uno de los principales cultivos en la agricultura del país. Cultivado en los llanos de los estados Portuguesa, Guárico, Barinas y Cojedes. La producción de este rubro puede verse afectada por diversos factores bióticos y abióticos (Rodríguez et al. 2002). En cuanto a los factores bióticos, las enfermedades constituyen una limitante en el cultivo, las más relevantes son las causadas por bacterias, que hasta hace algunos años presentaban poca importancia (Pérez & Saavedra, 2011).

Entre las enfermedades bacterianas que afectan el cultivo del arroz, se encuentra el bronceado de la palea del grano o manchado de la cáscara del arroz, ocasionado por *Pantoea agglomerans* (Azizi et al. 2020), rayas marrones causadas por

de *Acidovorax avenae* (Li et al. 2011), el añublo bacterial y la raya bacteriana de la hoja ocasionados por *Xanthomonas campestris* pv *oryzae* y *Xanthomonas campestris* pv *orizicola* respectivamente (Chien et al. 2019) y el añublo bacteriano de la panícula del arroz, causada por *Burkholderia glumae* (Cui et al. 2016), los cuales son patógenos bacterianos que están distribuidos a nivel mundial y las zonas arroceras de nuestro país también se han visto afectada por estas patologías.

González et al. (2011), han reportado la presencia de *B. glumae* causando pudrición de panícula en arroz. Contreras et al. (2001), identificaron a *Erwinia herbicola* en plantaciones de arroz en Lecherito, estado Guárico y González et al. (2015) corroboraron la presencia de *P. agglomerans* (sin. *E. herbicola*) en las zonas arroceras de Venezuela. *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* también ha sido identificada en arroz en Calabozo, estado Guárico (Guevara y Maselli, 1999; Trujillo et al. 1999), siendo estos patógenos emergente del arroz, que cada vez toman mayor relevancia por los daños económicos causados.

Lo antes expuesto, muestra la importancia de las enfermedades bacterianas en arroz y la variedad de géneros que se logran encontrar como patógenos, con diferentes sintomatologías, que

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica
potencialmente pueden afectar el rendimiento de este importante cereal para la agricultura venezolana.

En este sentido, su adecuada identificación es relevante para su manejo y control. La identificación adecuada de microorganismos patógenos asociada al cultivo de arroz es importante en la implementación de estrategias para el manejo y el control de enfermedades, se requiere entonces, la caracterización fenotípica y genética de los patógenos de plantas persistentes en un área determinada. El método tradicional de identificación de bacterias se basa en características fenotípicas (pruebas bioquímicas, producción de pigmento, fisiología y morfología de las colonias), cuya determinación requiere un tiempo considerable, además, la interpretación de los resultados exige experiencia y está limitada por la baja especificidad y subjetividad.

No obstante, las técnicas moleculares se plantean como una alternativa para el estudio de las bacteriosis, al ser rápidas, sensibles y fiables. Las técnicas moleculares se proponen como una nueva y más rápida alternativa de detección al disminuir el tiempo para la emisión de los resultados de días a horas. Permite identificar factores de patogenia, virulencia y resistencia, lo que aporta alta sensibilidad y especificidad, en este sentido diferentes estrategias se han

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

adoptado para caracterizar bacterias basándose en el DNA ribosomal. Se han diseñado cebadores o iniciadores para las regiones altamente conservadas de los genes 5S, 16S y 23S, siendo al parecer el uso de la región 16S el más adecuado. De esta manera la amplificación con cebadores específicos tiene una alta sensibilidad para discriminar entre diferentes aislados y permite además procesar un gran número de muestras en un corto periodo de tiempo (Tang et al. 2000; Rodisio y Mendoza, 2004).

Un punto importante para el conocimiento y desarrollo de nuevas tecnologías es la búsqueda y el análisis de la información científica que ya existe a nivel mundial en un área específica. Romani et al. (2011), menciona que el gran auge de los estudios bibliométricos permite mejorar el desempeño investigativo, siendo sus aportes considerados significativos en el inicio del proceso científico ya que por el desconocimiento de información científica de interés las estrategias y metodología para mejorar el desarrollo y progreso de la investigación pueden verse afectadas negativamente.

En este sentido se plantea como objetivo familiarizarse con las técnicas moleculares utilizadas en el estudio de las bacteriosis en arroz causadas por *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*,

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica *Burkholderia glumae* y *Pantoea agglomerans* mediante revisión bibliográfica crítica y su posterior análisis bibliométrico que promueva el necesario conocimiento de las diferentes técnicas y/o metodologías moleculares en el estudio de bacteriosis en arroz que permitan la formación con este tipo de herramientas para enfrentar tales patologías y ser capaz de diseñar estrategias de identificación y control de la bacteriosis en arroz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión de artículos científicos durante un periodo de 8 semanas. Se estableció como intervalo las publicaciones entre los años 2013 y 2023, la búsqueda se realizó en bases de datos tales como: Redalyc, Dialnet, Scielo, Google Académico, Chemedica, Ref Seek, American Society of Plant Biologists, empleando palabras claves. El procesamiento de los datos obtenidos se llevó a cabo mediante la revisión de publicaciones (artículos científicos y tesis de grado) realizadas en el área de técnicas moleculares aplicadas al estudio de patógenos bacterianos en arroz (*Oryza sativa*) como *Burkholderia glumae*, *Xanthomonas oryzae* y *Pantoea agglomerans* con la finalidad de obtener una data integrada a los objetivos planteados en dicha revisión, esta información permitió la construcción de una matriz de datos,

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

utilizando una hoja de cálculo Excel, para la consignación y control de entrada mediante los indicadores tomados en cuenta para el análisis de la revisión bibliográfica, tomándose como criterio de exclusión los artículos que no pertenecían al tópico de interés.

Se llevó a cabo el registro del número total de artículos publicados clasificándolos como artículos científicos y tesis de grado. Cada registro incluyó los siguientes criterios: Autores, año de publicación, nombre de la revista, año de publicación, país de origen, patógeno estudiado, técnica molecular empleada y tipo de estudio realizado.

Los indicadores analizados fueron:

Técnica de interés: Se identificó el tipo de técnica molecular empleada en cada publicación, para así determinar que técnica está siendo más empleada actualmente en los diferentes estudios realizados en bacterias patógenas en arroz.

Temáticas de estudio: Se realizó determinando el tipo de estudio que se efectuó en cada publicación, analizando si el estudio realizado en cada publicación era de identificación de cepas bacterianas, estudio de resistencia a bacteriosis en plantas de arroz o estudio de virulencia de las cepas patógenas.

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica

Agente causal: Permitió determinar que patógenos bacterianos han sido más estudiados a nivel molecular ya sea en el área de identificación, estudio de resistencia y virulencia.

Distribución geográfica: Se determinó la procedencia de cada una de las publicaciones para determinar la distribución de este tipo de estudios a nivel mundial, se determinó la distribución por países y por continente.

Total, de artículos publicados: Se incluyeron todos los artículos científicos y tesis de grado que para el periodo evaluado cumplían con los criterios de selección de la revisión científica publicados desde el año 2013 hasta el año 2023, en el periodo de búsqueda de 8 semanas.

Índice de productividad: Para el índice de productividad autoral se consideraron los firmantes principales en cada artículo. También se agruparon de acuerdo a su productividad, planteado por Ley de productividad o Ley de Lotka (1926), cuya ley establece una relación cuantitativa entre los autores y las contribuciones producidas en un campo de conocimiento durante un período de tiempo, considerando a pequeños productores (autores con un solo artículo), medianos productores (autores con 2 a 9 artículos) y grandes productores (autores con 10 o más artículos).

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Años de publicación: Se determinó cuantificando el número de publicaciones por año, de forma separada si era artículos científicos o tesis, lo que permitió determinar la producción por año de las diferentes publicaciones en el área de estudio.

Posteriormente a partir de la base de datos y la matriz obtenida en Excel se realizaron cálculos y matrices por separado para cada indicador para la realización de las gráficas correspondientes. A continuación, se realizó el análisis correspondiente a cada una de las gráficas obtenidas.

Descripción de técnicas moleculares y análisis comparativo.

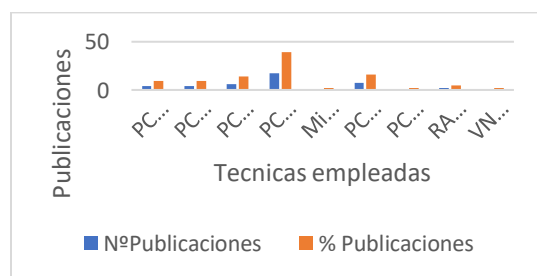
Se efectuó una descripción de las técnicas moleculares más utilizadas en los artículos analizados durante las 8 semana del estudio, los cuales fueron publicados entre los años 2013 – 2023, posteriormente se procedió a la realización de un análisis comparativo haciendo énfasis en ventajas y limitaciones y por último se realizó una discusión sobre la tendencia en el estudio de las bacteriosis mediante estas técnicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 60 artículos fueron obtenido luego de la recopilación y depuración del total de artículos obtenidos de las diferentes bases de

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica datos durante las 8 semanas del estudio. Una vez obtenidos las tablas y gráficas a partir de la base de datos creada en Excel se presentan los resultados obtenidos en esta investigación a través del análisis bibliométrico de los diferentes indicadores.

La Figura 1 nos muestra un total de nueve (9) técnicas utilizadas para la identificación de bacterias fitopatógenas en arroz, acá se observa que la técnica utilizada con mayor frecuencia es la técnica de PCR y posterior secuenciación de la zona 16S rDNA, la cual fue empleada en 17 publicaciones, lo que representa un 39,53% del total de publicaciones evaluadas en este periodo, posteriormente se ubica la técnica de PCR con marcadores específicos con un total de 7 publicaciones (16,28%) y en tercer lugar se ubica la técnica de PCR multiplex con 6 publicaciones para un total de 13,95 % de publicaciones, seguidamente se ubican las técnicas PCR convencional, PCR tiempo real, Microarray, PCR con amplificación isothermal, RAPD y VNTR, con unos valores de 4, 4, 1, 1, 1 y 1 publicaciones, respectivamente.



Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Figura 1. Principales técnicas moleculares empleadas en el estudio de bacterias fitopatógenas en arroz según publicaciones científicas en el periodo comprendido entre 2013 – 2023

En cuanto a los tipos de estudios moleculares realizados en el área de bacterias fitopatógenas en arroz, se determinó que en las publicaciones del periodo 2013 a 2023 revisadas se encontraron tres tipos de estudios: identificación, resistencia y virulencia. Las publicaciones en área de identificación bacteriana fueron un total de 43 publicaciones, lo que represento un total de 71,67% del total de publicaciones analizadas, seguidamente se ubicaron los estudios de resistencia con un total de 14 publicaciones, para un total de 23,33% y por último se ubica los estudios de virulencia con 3 publicaciones, lo que represento un total de 5% del total de publicaciones.

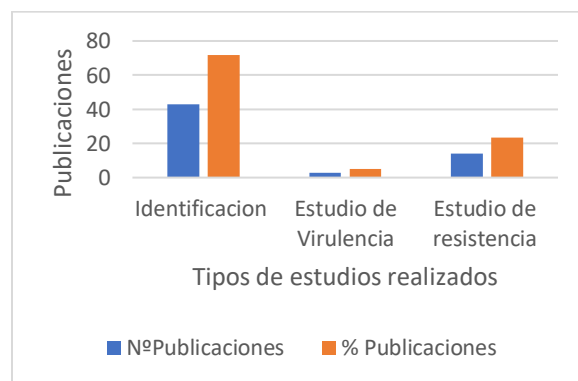


Figura 2. Tipos de estudios realizados en bacterias fitopatógenas en arroz, mediante el uso de técnicas moleculares según publicaciones científicas en el periodo comprendido entre 2013 – 2023.

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Un total de seis especies de bacterias patógenas en arroz fueron estudiadas mediante técnicas moleculares en las publicaciones científicas en el periodo 2013-2023, entre ellas tenemos *Burkholderia glumae*, *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea agglomerans*, *Pantoea sterwarty*, *Pantoea annanatis* y *Pantoea dispersa*. La especie fitopatógena en arroz con mayor número de publicaciones fue *Xanthomonas oryzae* con 31 publicaciones lo que represento un 51,67% del total de publicaciones evaluadas; seguidamente se ubicaron las especies *B. glumae* y *P. agglomerans* con un total de publicaciones cada una, lo que correspondió a un 30% de publicaciones totales (15% y 15%, respectivamente), seguidamente se ubicó la especie *Pantoea annanatis* con 7 publicaciones (11,67%). Por último se ubicaron las especies *P. sterwarty*, *P. dispersa* y otras especies de *Burkholderia* con una publicación para cada una de estas especies (figura 3).

Un total de 23 países han publicado sus trabajos moleculares referente a bacterias patógenas en arroz, la revisión muestra que el país con mayor productividad en estas publicaciones es China, con 12 publicaciones del total de 60 publicaciones analizadas, lo que representa el 20%, seguidamente, India con 8 publicaciones para un 13,33%, Benin con 5 publicaciones para un total de 8,33%, Pakistan y Filipinas con 4 publicaciones para un 6,67% cada uno. Posteriormente se ubican los países con 3 o menos publicaciones; Brasil y Malasia con 3 publicaciones, Turquía, Rusia, Colombia, Venezuela y Nicaragua con 2 publicaciones y por último con solo una publicación se ubicaron Costa Rica, Panamá, Perú, Taiwán, Togo, Vietnam, Corea, Jiangsul, Indonesia, Nigeria y Japón.

Se observa que la productividad de publicaciones en bacterias fitopatógenas en arroz usando técnicas moleculares a nivel mundial el continente asiático ocupa el primer lugar en publicaciones en esta área con un total de 41 publicaciones representando el 68,33% del total de publicaciones evaluadas, en segundo lugar, se ubica América con 12 publicaciones para un total de 20% y por último se ubica el continente africano con 7 publicaciones lo que corresponde al 11,67%.

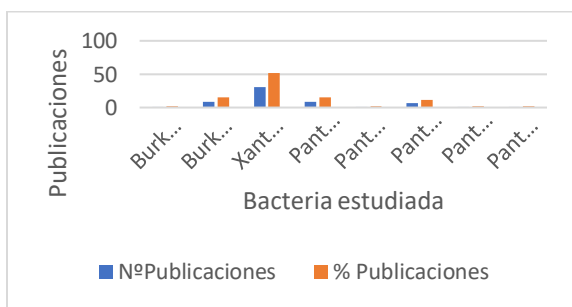


Figura 3. Principales bacterias fitopatógenas en arroz, estudiadas mediante el uso de técnicas moleculares según publicaciones científicas en el periodo comprendido entre 2013 – 2023.

Los principales autores de publicaciones con técnicas moleculares en bacterias en el cultivo de arroz, la mayoría de estos autores solo tienen una publicación en el área. El autor con más publicaciones fue Kini, K con 5 publicaciones (8,3%), seguido de Mohammad F. con 3 publicaciones (5%). En este sentido, los autores con más publicaciones se ubican apenas en el grupo de medianos productores con un 3,3% del total de publicaciones (con 2 a 9 publicaciones). Además, se ubican solo dos de ellos Kini, K. y Mohammad F., ubicándose como pequeños productores el resto de los 58 autores (96,7%) con solo 1 publicación por autor.

Cabe destacar que el mayor porcentaje de la producción científica revisada está representado por los artículos publicados en revistas científicas con un 92% del total y una minoría de 8% representado por tesis de grado. Con respecto a estas últimas, su producción presenta pequeñas fluctuaciones entre los años 2014 al 2018 en contraste con una producción nula desde el año 2019 al 2023. Igual comportamiento de fluctuación se muestra para los artículos científicos desde el año 2013 al 2018, sin embargo, desde el 2019 al 2023 solo se observó la productividad para este tipo de artículos, alcanzando para este periodo la línea correspondiente a la de total de publicaciones por año durante ese periodo.

Es importante resaltar que el año de mayor producción de artículos en el área estudiada se ubicó en el año de 2020 con un total de 21,67% del total de trabajos publicados en el periodo evaluado y el año con el menor número de publicación fue 1 año 2023, con el 3,33% del total evaluados.

En líneas generales se resalta que, la presente investigación muestra información bibliométrica que no se ha encontrado reflejada anteriormente para esta área de investigación, los resultados muestran el auge que ha tomado el uso de técnicas moleculares para el estudio de bacteriosis en arroz, con muy poca información en Venezuela, pero que a nivel mundial se encuentra con gran relevancia, tanto en el estudio de identificación del patógeno bacteriano en cuestión, como el estudios de resistencia y de virulencia.

En el mismo orden de ideas, Angarita et al. (2017), realizaron estudios similares en el área de la medicina, estos autores pudieron realizar su estudio bibliométrico también en un periodo corto de revisión y obtención de artículos en las diferentes bases de datos, realizando su análisis a partir de 56 publicaciones en un periodo de 5 años y usando en su análisis la clasificación por tema de interés, autores y fecha de publicación estos autores encontraron como resultado que las

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica

5 técnicas moleculares que más aportaron a la investigación durante el periodo evaluado fueron RCP, Secuenciación; Hibridación de sondas de ADN, RAPD y RFLP, concluyendo además que las técnicas moleculares permiten el estudio de genomas completos o secuencias específicas de ADN cortas o largas con el fin de detectar y analizar secuencias de interés para la investigación tanto en las ciencias agronómicas como en las ciencias médicas, resaltando el nivel de confiabilidad, especificidad, sensibilidad y flexibilidad que este tipo de análisis muestra comparándolo con los métodos fenotípicos.

En cuanto a salud pública también se ubican artículos de revisión en el área de técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos de alimentos. Carmajo y González (2014), reportaron un número significativo de técnicas moleculares alternativas, sensibles y selectivas para la detección, enumeración e identificación de microorganismos patógenos de alimentos, siendo la PCR la técnica más utilizada y perfila la secuenciación de alto rendimiento como una técnica de gran aplicabilidad a futuro, además estos autores hicieron referencia que a pesar de las ventajas de estas novedosas metodologías, es necesario reconocer también las limitaciones de las mismas, las cuales deben ser trabajadas arduamente para superarlas.

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

El análisis bibliométrico también ha sido aplicado para el estudio de elicitores, con la finalidad de promover el desarrollo de investigaciones que permitan el estudio de tan importante alternativa en método de control de enfermedades, en este sentido, Romero, 2021 realizó sus estudios enfocado en la revisión sistemática de la producción científica del efecto de elicitores en la expresión de genes PR (Pathogenesis Related) en plantas a nivel mundial, orientando su investigación en pro de planes de mejoramiento genético.

La técnica más utilizada en los estudios evaluados durante el tiempo de la investigación muestra en primer lugar la técnica de PCR en sus diversas variantes tales como: PCR y posterior secuenciación de la zona 16S rDNA, PCR con marcadores específicos, PCR multiplex, PCR convencional, PCR tiempo real y PCR con amplificación isotermal, seguida de técnicas como Microarray, RAPD y VNTR. Sin embargo, en cuanto a la finalidad del estudio, analizamos las principales técnicas incluyendo sus variantes utilizadas en el estudio de bacteriosis en arroz, observándose tal como se mencionó anteriormente que estas técnicas y/o variantes fueron PCR y posterior secuenciación de la zona 16S rDNA, PCR con marcadores específicos y PCR multiplex.

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica
Estos métodos genotípicos permiten el estudio del genoma de microorganismos causales de enfermedades y además permiten sean determinadas características polimórficas entre los individuos analizados (Tamay, 2013), estas pruebas se fundamentan en la localización del material genético del individuo en estudio permitiendo generar cambios en el patrón y expresión genética del mismo además de mostrar alternativas invariables y reproducibles (Whale et al. 2016).

Descripción y Análisis comparativo de las técnicas moleculares más utilizadas en el estudio de bacteriosis en arroz.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Ha sido la principal herramienta diagnóstica con la que se ha logrado aprovechar al máximo las bondades de la biología molecular a tal punto de alcanzar gran valor y versatilidad como técnica de amplia utilidad en los análisis genéticos debido a su adaptabilidad y aplicabilidad (Rochelle et al 1997). La utilidad de la PCR inicia aproximadamente en el año 1971, cuando Kleppe y colaboradores en el Journal of Molecular Biology describieron por vez primera este método como una técnica que mediante el uso de enzimas se podía replicar una secuencia pequeña de ADN in vitro. Sin embargo, no fue sino unos años más tarde que recibe una mayor atención llevándose la autoría de esta técnica

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Kary Mullis perteneciente a la Cetus Corporation, California SA (Bolívar et al. 2014). El descubrimiento de la PCR una de las técnicas más revolucionarias de la biología molecular de las últimas décadas, la cual ha permitido el impulso de nuevas técnicas más fáciles y efectivas (Arredondo, 1993).

El método de PCR es una técnica que su aplicabilidad consta de tres fases; La primera de ella es la desnaturalización de la doble cadena de ADN genómico para formar dos hebras simples, donde los iniciadores o marcadores pueden unirse, durante este proceso ocurre a una temperatura de 95°C. Luego ocurre el alineamiento de cada uno de los iniciadores (Con una longitud de 18-25 nucleótidos y con una secuencia basada en la información de la secuencia del ADN molde) a su respectiva cadena molde para flanquear la región específica que va a ser amplificada, la temperatura de esta varía dependiendo de las características del iniciador (longitud, porcentaje de GC, Tm) pero en términos generales debe ser 5°C por debajo de su Tm. Finalmente la última fase es la de extensión a 72°C, y posterior síntesis de la copia de la cadena molde a la cual se unió el iniciador.

Estas tres etapas forman un ciclo que se repite de manera secuencial aproximadamente unas 30 a 45 veces hasta lograr obtener un gran número de

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica copias de doble cadena de los fragmentos de ADN de interés. El producto sintetizado en un ciclo sirve como molde en el siguiente (Nel, 2003). Estos fragmentos son visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa o acrilamida, y teñidos con bromuro de etidio o plata.

La PCR convencional y la PCR en tiempo real se han utilizado como los principales métodos para la identificación de varias especies de *Burkholderia* sp. en muestras de suelo, de agua, de plantas infectadas y de células de mamíferos (Nandakumar et al. 2008). En este sentido, Palacio-Bielsa et al. 2009, plantean que el bajo número inicial de copias de secuencias de ADN del patógeno, provocan que los primeros ciclos de amplificación sean críticos, dando lugar a falsos negativos; también reportan que algunos compuestos derivados de las plantas pueden actuar como inhibidores de la PCR.

Para evitar la posibilidad de obtener falsos negativos, estos autores implementaron una metodología sencilla para la identificación específica de *B. glumae* en aislados y en panículas de plantas de arroz, mediante la utilización de iniciadores (glu-FW y glu-REV) que amplifican una secuencia del gen *gyrB*, mediante la siembra de panículas en medio LB para la obtención de cultivos bacterianos y su

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

posterior aislamiento de ADN e identificación por PCR. Los métodos de enriquecimiento facilitan la detección de patógenos por medio del aumento de su número y la disminución de los inhibidores y han logrado el éxito en la identificación de bacterias tanto en muestras de suelo, semillas y tejidos de plantas asintomáticas.

Los resultados en la identificación por PCR pueden llegar a mostrar un alto porcentaje de muestras positivas para *B. glumae*, lo que permite inferir la distribución de este patógeno en las zonas de estudio con bacteriosis en arroz (Galvis y Carrillo, 2014). Otros estudios sobre el uso de esta técnica de PCR convencional y/o uso de primer específicos son mencionados por diferentes autores, entre ellos Fornos et al., 2022 (Nicaragua), Yan et al. 2020 (China), Yugander et al. 2021 (India), Mohammad et al., 2019 (Malasia), Galvis y Carril, 2015 (Colombia) para la identificación de especies como *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea* sp. y *B. glumae* patógenos en arroz.

La PCR múltiples (multiplex-PCR o mPCR), son reacciones que consiguen amplificar simultáneamente en una única reacción, diferentes secuencias diana. Con el desarrollo de protocolos de mPCR mediante la utilización de PCR en tiempo real (RT-PCR) también se han

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica observado resultados muy prometedores de forma que se puede monitorizar la cinética de reacción, conocer la cantidad de ADN molde y/o detectar la presencia de variaciones genéticas (Vinueza, 2009). Diversos estudios han demostrado que la especificidad, el rendimiento y la fidelidad de la PCR se encuentra directamente influenciada por los diversos componentes que integran la técnica: la mezcla de reacción, el régimen de ciclaje y la ADN polimerasa (Rodríguez y Barrera, 2004).

La técnica de PCR múltiple ha sido utilizada en la identificación de patógenos en plantas, en este sentido encontramos los trabajos de Mohamad et al. 2020; Kini et al. 2016 y Kini et al. 2018 quienes han utilizado esta técnica para estudios de identificación de *Pantoea agglomerans* y *Pantoea annanatis*, agentes patógenos en el cultivo de arroz en países africanos. La técnica de PCR tradicional, al igual que la técnica de PCR en tiempo real también se ha empleado para la identificación de *Burkholderia glumae* en América latina, otro patógeno importante en arroz, como lo es *Xanthomonas oryzae* también ha sido identificado mediante esta técnica, en trabajos realizados en Brasil y en la India (Souza et al., 2015 y Tayi et al., 2016). La utilidad de esta técnica es amplia y versátil, igualmente se ha demostrado su uso en otras áreas de investigación, como en la microbiología humana

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

y veterinaria, donde ha sido aplicada con cierto éxito al diagnóstico rutinario de algunos agentes patógenos (Lamoth et al. 2010).

Otra de las técnicas más empleadas en el estudio de bacteriosis arrojada por la presente investigación, es la utilización de PCR y posterior secuenciación de la zona 16S rDNA, en este sentido se menciona que el método molecular de identificación bacteriana mediante secuenciación del ADNr 16S incluye tres etapas: a) amplificación del gen a partir de la muestra apropiada; b) determinación de la secuencia de nucleótidos del amplicón, y c) análisis de la secuencia. La amplificación del ADNr 16S se consigue en un termociclador, gracias a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Como sustrato se utiliza normalmente ADN purificado a partir de un cultivo puro del agente patógeno, en esta etapa se llevan a cabo las reacciones de secuenciación y el análisis de los productos por electroforesis, por último se realizara la comparación de la secuencia del ADNr 16S con las depositadas en bases de datos, las cuales pueden ser de acceso es libre a través de internet, como GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information) y RIDOM (Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms), entre otras. Además, de las de acceso privado como: MicroSeq (Applied Biosystems) y SmartGene IDNS (Integrated

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica Database Network System) (Rodisio y Mendoza, 2004).

Rodisio y Mendoza (2004), mencionan la gran utilidad de esta técnica en el diagnóstico microbiológico en el área de la medicina. Ellos mencionan que, la identificación basada en la secuenciación del gen que codifica el ARNr 16S en los laboratorios clínicos se centra principalmente en cepas cuya identificación por métodos fenotípicos resulta imposible, difícil o requiere mucho tiempo, incluyendo casos como: Bacterias no cultivables presentes en muestras clínicas, hecho que en ocasiones ha conducido al descubrimiento de nuevos agentes patógenos; Bacterias cuyas características bioquímicas no se adaptan a las de ningún género o especie reconocido.

Bacterias para las cuales la caracterización fenotípica sea sustancialmente deficiente, también para bacterias fastidiosas, a consecuencia de sus requerimientos nutricionales; además para la identificación de bacterias de crecimiento lento, que retrasa considerablemente la identificación convencional. El uso de esta técnica también es mencionado para la identificación de agentes patógenos de importancia en la agricultura, en este sentido se ubican estudios de identificación de especies bacterianas patógenas en arroz en

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

diferentes lugares del mundo. Mangula y Padma, 2020 utilizaron esta técnica para la identificación de *Xanthomonas oryzae* en arroz en la India, también para el caso de *Pantoea annanatis* y *P. dispersa* en Brasil y en Malasia (De souza et al. 2015 y Toh et al. 2019).

Los Microarray o Microarreglos (chip de ADN ó gene chip) consiste en múltiples fragmentos de ADN complementario, donde cada uno representa a un gen diferente, el cual se encuentran adheridos a un soporte de plástico, sílice o vidrio. Hoy en día pueden incluir hasta 40.000 fragmentos distintos por cada centímetro cuadrado de espacio, de este modo podemos decir que disponen prácticamente de todo el genoma en estudio. Los microarreglos de ADN es una de las aplicaciones más importantes para la información obtenida de la secuenciación sistemática de los genomas completos (Ramirez,2003). Los microarreglos están basados en la hibridación de ácidos nucleicos, es decir, la unión de dos cadenas complementarias de ADN para formar una de doble cadena, además permiten hacer análisis comparativos y simultáneos de cómo se van expresando cientos de genes en un solo experimento.

El procedimiento básico para la construcción de los microarreglos es el siguiente: En primer lugar, marcar la muestra del tejido a estudiar con

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica una molécula fluorescente, luego, aislar el mRNA de las células de interés y proceder a copiarlo mediante una síntesis in vitro para pasarlo a cDNA (ADN complementario). Desnaturalizar (separar) el cDNA para obtener hebras simples a partir de dobles. Posteriormente, colocar dichas hebras en el microarreglo, donde serán atraídas por las hebras que están fijas en él, provocando la unión para volver a formar una estructura de doble hélice que será similar a la del ADN (hibridación), seguidamente se hace el lavado del microarreglo para quitar las hebras simples de nuestra muestra que no se hayan hibridado. Y por último, se realiza el escaneo del microarreglo con un láser para poder cuantificar la fluorescencia de cada gen (Rivas y De Las Rivas, 2005).

Son muchas las aplicaciones que tienen los microarreglos, pero principalmente su uso es conocido en el área de la medicina, ciencias biológicas y alimentos, esta útil y avanzada técnica permite obtener perfiles de expresión de distintos microorganismos, mecanismos de resistencia, efectos de agentes controladores, entre otros. En la actualidad, al igual que otras técnicas moleculares son empleadas en las investigaciones agrícolas y en cuanto a la presente investigación los microarrays toman un lugar importante en su consideración como técnicas empleadas para la identificación de

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

cepas de *Xanthomonas oryzae* en China (Kong, 2020), así como también en estudios de resistencia en plantas de arroz afectadas por este mismo patógeno bacteriano en Filipinas y Jiangsu (Chin Xi et al. 2020 y Kong et al. 2020).

Los RAPD son marcadores moleculares, empleados en estudios sobre microorganismos patógenos, entre ellos, los patógenos bacterianos. Los RAPD, pronunciado rapids, (Random amplified polymorphic DNA) son un sistema de detección de polimorfismos en la secuencia de ADN, basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)¹. Cuando amplificamos por PCR un fragmento de ADN específico solemos emplear dos cebadores distintos, de secuencia complementaria a sus dos extremos, lo que implica el conocimiento previo de la secuencia a amplificar.

Los marcadores RAPD se basan en una sencilla estrategia que permite obviar este requerimiento. En la PCR se emplea un único cebador, corto y de secuencia arbitraria. Se utilizan ciclos de hibridación del cebador a baja temperatura para amplificar un conjunto de fragmentos genómicos. Tras la amplificación, los fragmentos se separan por su tamaño mediante electroforesis en gel. De esta forma, en cada PCR se amplifica un conjunto de fragmentos distribuidos aleatoriamente por el genoma del

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica individuo analizado. Todos ellos tienen en común que se encuentran flanqueados por la secuencia del cebador empleado, en orientación directa y reversa-complementaria, respectivamente (Picó y Pérez, 2020).

Esta técnica es de gran utilidad y tal como se ha mencionada anteriormente tiene una ubicación importante entre las técnicas moleculares empleadas en el estudio de patógenos, en trabajos sobre bacteriosis en arroz, se ubican investigaciones realizadas principalmente en la identificación de *Xanthomonas oryzae* en India (Raj et al., 2014), en Pakistan (Muhammad et al. 2022) y en Nigeria en investigaciones de identificación realizada por Onasanya et al. 2013.

Otra técnica utilizada para el estudio de bacteriosis en arroz son los VNTR, Los VNTR (variable number of tandem repeats) Son marcadores basados en la hibridación del ADN, también conocidos como minisatélites, los cuales son repeticiones en tandem de secuencias del genoma que contienen de 9 a 100 pares de bases. El número de repeticiones es variable, pero en general es menor a 1000. Existen dos formas de detectar los VNTR ya sea por hibridación o mediante el uso de las técnicas de PCR. El ADN genómico es digerido mediante la utilización de enzimas de restricción que

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

reconocen los sitios de restricción que flanquean las repeticiones en tandem, los cuales son separado a través de electroforesis e inmovilizado en una membrana.

Estos fragmentos con diferentes longitudes son detectados utilizando sondas diseñadas a partir de las secuencias de ADN que flanquean las repeticiones o a partir de las repeticiones mismas. En VNRT las sondas están constituidas por secuencias homólogas a las secuencias repetidas de los minisatélites, por lo tanto, todos los locus hipervariables son detectados simultáneamente. Estos minisatélites también pueden ser revelados mediante la amplificación por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de los segmentos conteniendo diferentes números de repeticiones, utilizando primers, que flanqueen dichos segmentos.

Ventajas y Limitaciones de las técnicas Moleculares

La identificación, así como otros tipos de estudios en patógenos en plantas mediante métodos moleculares ha tomado gran relevancia en los últimos tiempos, lo que ha llevado consigo investigaciones que promueven la mejora en el entendimiento de los patosistemas, identificaciones precisas de entes patógenos, que va en pro del fortalecimiento de la seguridad alimentaria a nivel mundial, estas técnicas,

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica aunque costosas ofrecen muchas ventajas (Tabla 1). La PCR, la cual es una de las técnicas más utilizadas en la detección e identificación de bacterias patógenas en arroz ha permitido fielmente tales alcances en vista que es una técnica que ofrece rapidez, buen límite de detección, especificidad y sensibilidad, fácil automatización y capacidad de procesamiento de grandes cantidades de muestras (Méndez y Pérez, 2004).

La PCR no depende de algunas condiciones fisiológicas necesarias para el desarrollo y utilización de algunas técnicas de diagnóstico convencionales, además, a través de los métodos moleculares se pueden identificar patógenos que por sus exigencias nutricionales no pueden ser diagnosticados por métodos convencionales (Vinuesa, 2009). En contraste a las ventajas ofrecidas por estas técnicas, también el uso de estas presenta desventaja.

Entre las principales limitaciones se ubica que estas, no están ampliamente incorporados en los métodos estandarizados, por lo cual resultan inadecuados en algunos casos. Aunado a esto, requieren, en comparación con los métodos convencionales, equipos y reactivos de alto costo, son técnicas complejas que requieren personal calificado en el área, requiere uso de productos químicos peligrosos, por lo que para

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

procesar numerosas muestras puede hacerse poco práctico (Spaller, 2001).

Ventajas y limitaciones de las técnicas moleculares utilizadas para la identificación de patógenos bacterianos en arroz:

1. Técnica: PCR y posterior secuenciación 16S

Ventaja: Muy útil por la zona altamente conservada que analiza.

El tamaño largo de los ARNr (16S) minimiza las fluctuaciones estadísticas en los análisis.

Identificación en 1-2 días (luego de aislado puro).

Método rápido y preciso.

Útil en bacterias fastidiosas y coryneformes.

Limitaciones: Es una técnica muy laboriosa.

Requiere la comparación de secuencias.

Requieren de infraestructura y equipos adecuados y de alto costo.

2. Técnica: PCR simple y PCR múltiple

Ventaja: Alta especificidad y sensibilidad.

Resultados precisos.

Diferenciación de varios serotipos de microorganismos.

Identificación de patógenos en diversos huéspedes y tipo de muestra.

No requiere cultivo puro.

PCR Multiplex: Permite detectar varios patógenos al mismo tiempo.

Limitaciones: Se requiere de electroforesis para poder observar los productos.

No discrimina entre células vivas o muertas.

Muy laborioso optimizar las condiciones de PCR.

3. Técnica: PCR tiempo real

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica

Ventaja: No es afectada por amplificaciones no específica.

La amplificación puede ser monitoreada en tiempo real.

La amplificación se confirma mediante curvas de fusión.

Es altamente específica y sensible.

Limitaciones: Labilidad del ARNm

Difíciles realizar ensayos múltiples.

Posibilidad de contaminación cruzada.

4. Técnica: Microarray

Ventaja: Análisis en 2-4 horas.

Análisis múltiple garantizado.

Fácil inclusión de blanco adicional

Alta sensibilidad y especificidad.

Limitaciones: Requerimiento de kits o de PCR para marcar genes blancos.

No distingue entre células muertas y células vivas

5. Técnica: RAPD

Ventaja: Sistema sencillo.

El proceso es rápido y económico.

Los requerimientos de infraestructura son mínimos.

Formación de personal e información previa de secuencia.

Limitaciones: Interpretación dominante.

Falta de reproducibilidad si no se ajustan bien las condiciones.

Restricciones en la estima de la similitud o disimilitud genética.

6. Técnica: VNTR

Ventaja: Permite explorar el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción en cada locus hipervariable.

Utiliza el polimorfismo en el número y distribución de estos loci a lo largo del genoma.

Permite la visualización simultánea de diversas regiones del mismo.

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Limitaciones: Es una técnica muy laboriosa y difícil de automatizar.

Requieren de infraestructura adecuada para mantener las sondas.

Utilización de radiactivos.

En general, son muchas las técnicas moleculares empleadas para el estudio de bacteriosis en arroz, para los diferentes estudios que se pudieran realizar en este patosistema, encontramos su uso para la identificación de las bacterias patógenas, su variabilidad y comportamiento genéticos; también se ubican estas técnicas con la finalidad de identificar y estudiar genes patogénicos en cada una de ellas, que permitan una visión más amplia del complejo de patogenicidad de dichas bacterias, pero que también pueden permitir el entendimiento de la capacidad de respuesta de la planta hospedante. Todo esto es posible por el avance en las técnicas moleculares y su amplia utilidad en las investigaciones científicas del agro.

CONCLUSIONES

Al analizar la información publicada en los estudios científicos a nivel mundial, se determinó que las técnicas moleculares más utilizadas en el estudio de bacteriosis causada por *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea agglomerans* y *Burkholderia glumae* son: La técnica de PCR y posterior secuenciación de la

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica zona 16S rDNA, PCR con marcadores específicos y PCR multiplex. Mientras que las otras técnicas como PCR convencional, PCR tiempo real, Microarray, PCR con amplificación isothermal, RAPD y VNTR, son utilizadas en menor escala.

El análisis de la producción científica sobre técnicas moleculares en el estudio de bacteriosis en arroz, permitió determinar que el mayor porcentaje de estudios moleculares están enfocado en la identificación de bacterias fitopatógenas en arroz con más del 70% de publicaciones evaluadas, seguidamente se ubica estudios de resistencia y por último publicaciones referente a estudios de virulencia.

Una vez analizadas las publicaciones científicas sobre técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz se determinó que el patógeno bacteriano más estudiado fue *Xanthomonas oryzae*, seguido de *B. glumae* y *P. agglomerans*.

Se determinó que la investigación en América sobre el uso de técnicas moleculares en el estudio de bacteriosis en arroz se ubica en un desarrollo científico moderado con un porcentaje de 20% de publicaciones del total evaluadas para el periodo del presente estudio, donde pudiera mencionar que en los inicios de este desarrollo se ubica el continente africano

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

(con un 11.7% de publicaciones en el área) y el continente Asiático se ubica en la cúspide del desarrollo científico, por ser los mayores productores de publicaciones científicas con el uso de técnicas moleculares en el estudio de bacteriosis en arroz.

En cuanto al indicador de productividad, este permitió determinar que el mayor porcentaje de investigaciones en el área de estudio sobre bacteriosis en arroz esta representadas por publicaciones científicas tipo artículo científico que representa el 92% del total de los estudios evaluados y el resto representado por tesis de grado con el 8%. Así mismo se determinó que del total de autores de los estudios evaluados, un 96% de ellos se ubican en la categoría de pequeños productores, según la ley de productividad de Lotka.

En Venezuela, el uso de técnicas moleculares a nivel nacional para la identificación de patógenos bacterianos, así como otros estudio que conlleven al entendimiento de bacteriosis en arroz se encuentran en un porcentaje muy bajo comparado con otros países, lo que demuestra una necesidad de inversión de recursos económicos en las diferentes unidades de investigaciones agrícolas que fomenten esta área científica en pro de un mayor entendimiento de este patosistema en búsqueda de estrategias que

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica permitan disminuir las pérdidas en cosechas de arroz debido al efecto de estos agentes bacterianos.

RECOMENDACIONES

Promover el aumento de líneas de investigación en técnicas moleculares para la identificación de bacterias fitopatógenas en arroz, así como también aquellas que promuevan estudios de resistencia y/o virulencia en este tipo de patosistema, que fortalezca el conocimiento en esta área y permita dilucidar estrategias de manejo y control de enfermedades bacterianas en arroz.

Realizar vínculos entre organismos e instituciones nacionales para crear lineamientos que promuevan el desarrollo de este campo científico mediante la colaboración entre investigadores y la asignación de recursos económicos para generar mayor número de proyectos de investigación y publicaciones en el área de técnicas moleculares para el estudio de enfermedades patógenas en cultivos de importancia agrícola en el país.

Se sugiere proyectar trabajos de investigación para la obtención de información científica sobre el tema de estudio y análisis de documentos científicos que sean utilizados como base para el lineamiento de la investigación y de las

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

publicaciones sobre técnicas moleculares en esta área de la fitopatología.

Por último, se recomienda que a nivel nacional se logre profundizar en estudios de patógenos bacterianos y cultivos de importancia agrícola que estén relacionados a la biología molecular enfocados a patógenos en plantas para incrementar las publicaciones en esta área y poder obtener un mejor desempeño a nivel internacional a la hora de presentar nuestros estudios sobre nuestros problemas fitopatológicos.

REFERENCIAS

- Angarita, M., M., Torres, A. Díaz. 2017. Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura. Rev haban cienc méd. 16(5): [796-807] Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/1651>
- Azizi, M., S. Ismail, M. Ina-Salwany, E. Hata and D. Zulperi. 2020. The emergence of *Pantoea* species as a future threat to global rice production. Journal of Plant Protection Research. 60: 327–335. [http://DOI: 10.24425/jppr.2020.133958](https://doi.org/10.24425/jppr.2020.133958).
- Bolívar, A., A. Rojas, P., García, 2014. PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. Avances en Biomedicina Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica Mérida-Venezuela Volumen 3(1), p 25-33.
- Camargo, C. y Y. González. 2014. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en

- Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica alimentos: ventajas y limitaciones. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014;31(3):535-46.
- Chien, C., M. Chou, C. Chen and M. Shih. 2019. Analysis of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Taiwan. Scientific Reports. 9:316 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36575-x>
- Contreras, N., C. González, N. Gómez y N. Vargas. 2001. *Erwinia herbicola* en plantaciones de arroz en Lecherito, estado Guárico. Fitopatol. Venez. 14: 50.
- Cui, Z., B. Zhu, G. Xie, B. Li and S. Huang. 2016. Research status and prospect of *Burkholderia glumae*, the pathogen causing bacterial panicle blight. Rice Science. 23: 111- 118.
- De Souza, I., A. De Oliveira, A., Rotta, M., Gravina. 2015. Caracterização de isolados de *Xanthomonas* sp. asociados a sementes de arroz e diferenciação de estirpes de *Xanthomonas oryzae*. Ciência Rural, Santa Maria, v.45, n.12, p.2099-2105.
- FAO. 2023. Datos de producción de los principales rubros agrícolas, a nivel mundial. Consultado en línea: 20 de septiembre de 2023. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fornos, D., N., Peralta, I., Sánchez; M., Rodríguez. 2022. Identificación fenotípica y molecular de *Burkholderia* spp en panículas de arroz (*Oryza sativa* L.) La Calera, vol. 22. (22): 39: ISSN: 1998-7846 1998-8850.DOI: <https://doi.org/10.5377/calera.v22i39.15205>
- Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria
- Galvis, F. y M. Carrillo. 2015. Identificación y Caracterización Molecular de Aislados de *Burkholderia glumae*, Agente Causante del Añublo Bacterial en el Cultivo de Arroz. Información Tecnológica – Vol. 26. 3: 33-40.
- González, A., E. Graterol, E. Arnao, E. Torres, M. Acevedo y G. Mosquera. 2011. Primer reporte de *Burkholderia glumae* causante de la pudrición bacteriana de la panícula del arroz en Venezuela. Fitopatología Colombiana. 35(1): 81.
- González, A., M. Franco, N. Contreras, I. Galindo, Y. Jávaro y E. Graterol. 2015. First report of *Pantoea agglomerans* causing rice leaf blight in Venezuela. Plant Dis. 99:552.
- Guevara, Y., y A. Maselli. 1999. Detección de *Xanthomonas* sp. en siembras de arroz en Calabozo, Venezuela. Fitopatol. Venez. 12: 24.
- Glynn B, Lahiff S, Wernecke M, Barry T, Smith T, Maher M. Current and emerging molecular diagnostic technologies applicable to bacterial food safety. Int J Dairy Technol. 2006 May;59(2):12639.
- Kini, K. A., Roul, R., Dossa, S., Drissa y R. Koebnik.2018. A diagnostic multiplex PCR scheme for identification of plant-associated bacteria of the genus *Pantoea*. DOI: <https://doi.org/10.1101/456806doi>
- Kong, W.,D., Li and X., Xue. 2020. Identification and characterization of genes frequently responsive to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *Magnaporthe oryzae* infections in rice. Genomics (21). 21: 1-17.
- Lamoth F., K., Jatón, G.,Prod'hom, L., Senn, J., Bille, T., Calandra, O. Marchetti.2010

- Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica
- Multiplex Blood PCR in combination with blood cultures for improvement of microbiological documentation of infection in febrile neutropenia. *J Clinical Microbiol*; 48: 3510-6.
- Li, B., B. Liu, R. Yu, Z. Tao, Y. Wang, G. Xie, H. Li and G. Sun. 2011. Bacterial brown stripe of rice in soil-less culture system caused by *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* in China. *J Gen Plant Pathol.* 77: 64-67.
- Lotka, Alfred J. 1926. The frequency distribution of scientific productivity. *En Journal of the Washington Academy of Sciences.* Vol. 16, no. 12, 317-323.
- Manjula, R. y T. Padma. 2020. Molecular characterisation of a *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated from an infected rice (*Oryza sativa* L) plant in Vellore district, India *Indian Journal of Biotechnology* Vol. 19: 169-175.
- Markoulatos P., N., Siafakas, M., Moncany. 2002. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. *J Clin Lab Anal.* 2002; 16:47-51
- Martinez, I., B., Paglietti, A., Rementeria, L., Laorden, M., Garcia, J. Bikandi, S. Rubino, J. Garaizar. 2012. Intra- and inter-laboratory evaluation of an improved multiplex-PCR method for detection and typing of *Salmonella*. *J Infect Dev Ctries.* 2012; 6: 443-51.
- Méndez, S., E., Pérez. 2004. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 22:183-921.
- Mohammad, A. I. Siti, Y., Ina-Salwany, H., Erneeza, Z., Dzarifah 2020. The emergence of *Pantoea* species as a future threat to global rice production. *Journal of Plant Protection Research.* Vol. 60, No. 4: 327-335.
- Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria
- Muhammad, T., J., Asghar, A., Muhammad, Y. Shafquat and I. Ahmed. 2022. Pcr-mediated identification and characterization of rice bacterial blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv.
- Nandakumar, R., A. Shahjahan, X. Yuan, E. Dickstein, D. Groth, C. Clark, R. Cartwright and M. Rush. 2009. *Burkholderia glumae* and *B. gladioli* cause bacterial panicle blight in rice in the southern United States. *Plant Dis.* 93:896-905.
- Palacio-Bielsa, A., M. Cambra y M. López. 2009. PCR detection and identification of plant-pathogenic bacteria: updated review of protocols (1989-2007). *Journal of Plant Pathology*: 91(2), 249-297.
- Pfaller, M. 2001. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. *Emerg Infect Dis.* 7(2):312-8.
- Pérez, C., y E. Saavedra. 2011. Avances en el manejo integrado de la bacteria *Burkholderia glumae* en el cultivo del arroz en el Caribe Colombiano. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3:111-124.
- Picó M., A., Pérez de Castro. 2012. Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores RAPD (Random amplified polymorphic DNA). Fragmentos de ADN polimórficos amplificados al azar. Publicado en línea: <http://hdl.handle.net/10251/17047>
- Ramírez, M. 2003. Microarreglos de DNA. *Mensaje Bioquímico.* vol. 27, pp. 97-120, 2003.

- Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica
- Reyna, M. y J. Valenzuela 2016. Microarreglos de ADN: Aplicaciones en la microbiología. *Epistemos* 26: 42-47.
- Rochelle, P., R., De Leon, M., Stewart, R., Wolfe.1997. Comparison of primers and optimization of PCR conditions for detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water. *Appl Environ Microbiol.* 63:106-14.
- Rodríguez, D., M., Hernández.2006. Molecular methodology in food microbiology diagnostics: trends and current challenges. *IUFoST*:1085-99. doi: 10.1051/IUFoST:20060643.
- Rodríguez I. y H. Barrera. 2004. La Reacción en Cadena de la Polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL.* 7:323-35 .
- Romaní, F., C., Huamaní, and G., González.2011. Estudios Bibliométricos como línea de investigación en las Ciencias Biomédicas: una aproximación para el pregrado. *Cimel*, 16(1), 52–62.
- Galvis, F y Carrillo, M.2014. Identificación y Caracterización Molecular de Aislados de *Burkholderia glumae*, Agente Causante del Añublo Bacterial en el Cultivo de Arroz.
- Romero, P. 2021. Análisis de la producción científica del efecto de elicitores en la expresión de los genes PR (Pathogenesis Related) en plantas a nivel mundial. Tesis de Grado- Universidad de Las Fuerzas Armadas (ESPE). Salgolqui – Ecuador.
- Rivas, M. and J. De Las Rivas. 2005. Estructura y análisis de microarrays. *BEIO*, vol. 21(2), pp. 10-15, 2005.
- Sayler, R., and Y. Yang. 2006. Genetic characterization and Real time PCR detection de *Burkholderia glumae* a newly emerging bacterial pathogen of rice in USA. *Plant Dis.* 90:603.
- Tamay de Dios, L. C., Ibarra, C., Velasquillo.2013. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y de la RCP en tiempo real. *Investigación en discapacidad.* 2(2): 70-78.
- Trujillo, G., Y. Hernández, L. Subero, M. Garrido y C. Muñoz.1999. La quemazón bacteriana del arroz causada por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en Calabozo, estado Guárico, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 12: 2-5.
- Vinueza, C. 2009. PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular REDVET.; 10: 1-14.
- Whale, A., Jim, F., T. Svilen. 2016. Fundamentals of multiplexing with digital RCP. *Biomol Detect Quantif.* 10:15-23.
- Ward P, Roy D.2005. Review of molecular methods for identification, characterization and detection of bifidobacteria. *Lait*.;85:23-32.
- Yin, S., S., Yang, Y., , X., Cai, X., Liu. 2012. Development and optimization of multiplex-PCR for simultaneous detection of porcine pseudorabies virus, porcine parvovirus and porcine circovirus type 2. *Intern J Appl Res Vet Med.* 10:169-75.
- Yugander, A., Md Ershad, P., Pitchiah P., Muthuraman, P., Vellaisamy, L., Duraisamy Ladhakshmi,M., Maganti Sheshu, S. Madamsetty, M., Raman, M. Sundaram,L., Gouri.2021.Understanding the variability of rice bacterial blight pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv.

Técnicas moleculares aplicadas al estudio de bacteriosis en arroz (*Oryza sativa* L.): análisis bibliométrico de la producción científica oryzae in Andhra Pradesh, India. Journal of Basic Microbiology Volume 62, Issue 2 p. 185-196.

Escalona Rodríguez, Yoleidy; Hernández, Alexander y Jiménez de Najul, Victoria

Zhou, X., A. McClung, M. Way, Y. Jo, R. Tabien and L. Wilson. 2011. Severe outbreak of bacterial panicle blight across Texas Rice Belt in 2010 [abstract]. Phytopathology 101:S205.