

EVALUACIÓN DE LESIONES FOLIARES Y SÍNTOMAS DEL MANCHADO DEL GRANO DE ARROZ PRODUCIDOS POR BACTERIOSIS EN VENEZUELA

Yoleidy Escalona¹, Alex González², Alexander Hernández¹ y Pastora Querales¹

RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es afectado por diversas enfermedades bacterianas que causan lesiones foliares y manchado del grano, sintomatología observada en zonas arroceras de Venezuela. Este estudio tuvo por objetivo la caracterización, inoculación y evaluación de los principales síntomas producidos en hojas y panículas de las variedades 'Colombia 21' e 'IR8' por cepas bacterianas del arroz, pertenecientes a la colección de patógenos de Fundación Danac. Se procedió a la reactivación de cepas y se les hicieron pruebas presuntivas, fisiológicas y bioquímicas, con evaluación descriptiva de los síntomas. La caracterización convencional permitió corroborar la presencia de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), *Acidovorax avenae*, *Pantoea agglomerans* y *Burkholderia glumae*, las cuales resultaron positivas (100%) en las pruebas de patogenicidad. Dado que *P. agglomerans* es la especie más frecuente y ubicua en las zonas arroceras de Venezuela, se probaron en ella tres métodos distintos de inoculación, así como el efecto de las diferentes cepas sobre el tamaño de la lesión en hojas. Además, en la panícula se midió el porcentaje de granos manchados por efecto de la inoculación con las especies bacterianas. Se empleó un diseño completo al azar con tres repeticiones. El mayor tamaño de la lesión en las hojas se detectó mediante los métodos de corte por tijeras y aspersión, siendo la variedad 'Colombia 21' la más afectada. En la evaluación de la panícula, las cepas de *B. glumae* y Xoo mostraron mayor porcentaje de granos manchados, sin diferencias significativa entre ellas, a la vez que la variedad de arroz 'IR8' resultó la más susceptible, independientemente de las cepas inoculadas.

Palabras clave: *Oryza sativa*, pudrición bacteriana, tizón bacteriano del arroz, vaneamiento y manchado.

ABSTRACT

Evaluation of foliar lesions and symptoms of the rice grain discoloration caused by bacterial diseases in Venezuela

Various bacterial diseases affect rice (*Oryza sativa* L.), causing foliar lesions and grain discoloration, symptoms observed in rice-growing areas of Venezuela. The objective of this study was the characterization, inoculation and evaluation of the main symptoms produced by bacterial strains in rice, belonging to the Danac Foundation's collection of pathogens. The strains were reactivated and presumptive, physiological and biochemical tests carried out, based on a descriptive evaluation of the symptoms. The conventional characterization allowed to corroborate the presence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), *Acidovorax avenae*, *Pantoea agglomerans* and *Burkholderia glumae*, which were positive (100%) in the pathogenicity tests. Since *P. agglomerans* is the most frequent and ubiquitous species in the rice-growing areas of Venezuela, three different inoculation methods were tested on it, as well as the effect of the different strains on the size of the lesion in leaves. In addition, the percentage of grains stained by the effect of inoculation with the different bacterial species was measured in the panicle. A completely randomized design with three replicates was used. The largest size of the lesion on the leaves was detected by the scissor and spray methods, being the variety 'Colombia 21' the most affected. In the evaluation of the panicle, the strains of *B. glumae* and Xoo showed a higher percentage of stained grains, without significant differences between them, while the variety of rice 'IR8' was the most susceptible, regardless of the strains inoculated.

Keywords: Bacterial leaf blight, bacterial rot, *Oryza sativa*, panicle blight.

INTRODUCCIÓN

El arroz es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial, es el alimento básico para más de la mitad de la población y ocupa el tercer lugar después del trigo y maíz en cuanto a superficie cosechada. Proporciona más calorías a la dieta humana que el trigo y el maíz, y para 2020

alcanzó un área cosechada de 164,19 millones de ha, con una producción de 756,74 millones de toneladas (FAO, 2022).

En Venezuela, el arroz representa un alimento altamente estratégico en el aporte calórico de la dieta del pueblo venezolano, constituyéndose así en uno de los principales rubros en la agricultura del país, cultivado en los llanos de los estados

Recibido: Julio 26, 2022

Aceptado: Enero 9, 2023

¹ Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela. e-mail: yoleidyescalona@ucla.edu.ve; ahernandez@ucla.edu.ve; pastoraq@ucla.edu.ve

² Fundación para la Investigación Agrícola Danac. San Javier, estado Yaracuy, Venezuela. e-mail: alex.gonzalez@danac.org.ve (autor de correspondencia)

Portuguesa, Guárico, Barinas y Cojedes. La utilización de nuevas y modernas variedades de arroz, incluyendo el manejo de prácticas culturales, ha promovido la consolidación del cultivo, lográndose incrementos en el rendimiento y ampliación de las áreas arroceras. Sin embargo, a pesar de los logros alcanzados, aún persisten factores abióticos y bióticos limitantes en el cultivo del arroz, encontrándose entre los factores bióticos, numerosas enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos que afectan la producción del arroz. Entre ellas, unas de mucha importancia agrícola, son las enfermedades causadas por bacterias (Nelson, 2020).

Entre las enfermedades bacterianas que afectan el cultivo 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 *Acidovorax avenae* (Li et al., 2011), el añublo bacterial y la raya bacteriana de la hoja ocasionada por *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* y *Xanthomonas campestris* pv. *orizicola*, respectivamente (Chien et al., 2019), y el añublo bacteriano de la panícula del arroz, producida por *Burkholderia glumae*, una bacteria reportada en numerosos países de Asia y América (Cui et al., 2016). Estos patógenos bacterianos están distribuidos a nivel mundial, y las zonas arroceras de Venezuela también se han visto afectadas por ellos. González et al. (2011) reportaron 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. Por su parte, Guevara y Maselli (1999) y Trujillo et al. (1999) identificaron a *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* en arroz en Calabozo, estado Guárico.

Lo anterior demuestra la importancia de las enfermedades bacterianas en arroz y la diversidad de géneros que se encuentran como patógenos, con diferentes sintomatologías, que pueden afectar el rendimiento de este importante cereal. El objetivo del presente tuvo como base la evaluación de lesiones foliares y síntomas de manchado de arroz producidos por bacteriosis del cultivo en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Protección Vegetal e invernaderos de la Fundación Danac, ubicada en San Javier, estado Yaracuy (10°21' N, 68°59' W; 107 msnm).

Reactivación de las cepas. Las cepas de los géneros *Acidovorax*, *Burkholderia* y *Pantoea* fueron colectadas en las zonas arroceras del país; éstas se encontraban conservadas en papel filtro en medio sacarosa-peptona. Una cepa de *Xanthomonas*, donada por la colección IRRI (International Rice Research Institute, Filipinas), fue conservada liofilizada en ampollas y almacenada en el banco de patógenos de Fundación Danac. Para las cepas conservadas en papel filtro, se cortaron trozos de 5 mm de diámetro y con la ayuda de un ansa de platino se realizó un estriado en platos Petri con agar nutritivo-AN (agar con extracto de carne, peptona y glucosa); además, se colocaron trozos de papel en tubos con caldo nutritivo-CN (agua con extracto de carne, peptona y glucosa). De igual manera, se colocó polvo del liofilizado en tubos con CN.

Para las bacterias liofilizadas se procedió a tomar una pequeña porción, y con una gota de solución salina 0,85 % se realizó un estriado por agotamiento con ansa directamente en platos con AN. Las bacterias sembradas fueron incubadas a temperatura ambiente (~25 °C) por 48 h en agitación. Pasado este tiempo se observó el crecimiento bacteriano en platos y la turbidez del caldo en los tubos. Para el caso de los provenientes de siembra de cepas liofilizadas, se esperó hasta 72 h para observar desarrollo bacteriano, pero al no notarse este crecimiento en las cepas liofilizadas de *Xanthomonas oryzae*, se resuspendió el liofilizado en *buffer* de agua peptonada y medio Suwa líquido, el cual es un medio selectivo para Xoo (Suwa, 1962).

Pruebas fisiológicas y bioquímicas. Las cepas que crecieron en AN durante 48 h fueron sometidas a pruebas presuntivas, fisiológicas y bioquímicas para corroborar los géneros y especies de las bacterias presentes en el cepario. Para ello, se realizaron pruebas de solubilidad en KOH al 3% y tinción con rojo congo, para observar la forma de célula bacteriana. Posteriormente se realizaron las pruebas de catalasa, oxidasa, requerimientos de oxígeno,

dextrosa rojo fenol, indol, producción de ácido a partir de fuentes de carbono y crecimiento en medios selectivos (Schaad et al., 2001). Una vez obtenidas las cepas bacterianas de interés, éstas fueron purificadas y conservadas a temperatura ambiente en 5 g de agar y 5 g de cloruro de sodio en 1 L de CN. Las cepas puras de los géneros *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Pantoea* y *Xanthomonas* fueron sembradas cada 48 h hasta su utilización en la prueba de patogenicidad.

Siembra de variedades de arroz. Semillas de las variedades 'IR8' y 'Colombia 21', susceptibles a bacteriosis, procedentes del banco de germoplasma de Fundación Danac, fueron tratadas con el protector Cruiser Plus, a razón de 1,5 mL·kg⁻¹ de semilla. Seis semillas fueron sembradas a 2 cm de distancia entre ellas en recipientes plásticos, con capacidad de 0,5 kg de tierra, desinfectados con HClO 10 %, llenados con tierra esterilizada con vapor de agua. Se utilizaron tres recipientes por cada especie bacteriana. Las semillas fueron cubiertas con una capa fina de tierra y se colocaron en un mesón con agua para aumentar la humedad del ambiente. Cinco días después de la siembra se procedió al raleo de las plántulas, para mantener tres por recipiente, las cuales fueron fertilizadas semanalmente con NPK triple 15, a razón de 5 g·L⁻¹ de agua.

Prueba de patogenicidad. Para determinar la patogenicidad de las cepas en estudio se procedió a inocular cada una por separado en plántulas de 23 dde (días de edad) de las variedades 'Colombia 21' e 'IR8'. Para ello, se utilizó la siguiente metodología recomendada por Rafi et al. (2013) y Jiang et al. (2020): el inóculo se preparó mediante estriado de cada aislamiento en el medio AN incubado a 25-27 °C. Las bacterias se lavaron de la superficie del AN después de 48 h con 5 mL de agua destilada estéril (ADE). El inóculo obtenido se ajustó a una concentración de 10⁷ y 10⁸ UFC·mL⁻¹, usando de referencia la escala McFarland (Kado y Heskett, 1970).

Por cada aislamiento se inocularon tres hojas y tres tallos principales. El tratamiento control o testigo se inoculó de igual forma con ADE. La incubación de las plantas y testigos se realizó en bandejas con una lámina de agua, las cuales se colocaron dentro de una cámara plástica con alta humedad relativa (>90%) durante 72 h, para promover un microclima que facilitara el proceso de infección de la bacteria. Luego, se retiraron de

la cámara húmeda y se dejaron en las bandejas con lámina de agua sobre mesones a temperatura ambiente hasta la observación de síntomas. Cinco días después de la inoculación (ddi) se confirmó la patogenicidad de las cepas inoculadas. La evaluación de los datos de tamaño de la lesión fue realizada 15 ddi, y los resultados sometidos posteriormente a análisis estadístico.

Además de la inoculación foliar, se dejaron plantas sin inocular, en un mesón aparte, para la inoculación de panículas formadas a los 80 dde (estadio R3). Para ello se inocularon las suspensiones bacterianas con un aerógrafo, una cepa por especie Xo006, Pa003, Bg001 y Aa002. Posterior a la inoculación, se mantuvieron las panículas cubiertas con una bolsa plástica durante 72 h y luego de 15 ddi se evaluaron las panículas por el porcentaje de granos manchados. No fue necesario realizar reaislamientos de las bacterias para cumplir con los postulados de Koch, ya que las cepas usadas fueron reaisladas e identificadas previamente por vía molecular (González et al., 2011; 2015).

Por su parte, y dado que *P. agglomerans* es la especie más frecuente y ubicua en las zonas arroceras de Venezuela (González et al., 2015), se probaron en ella tres métodos diferentes de inoculación: aspersión, corte con tijera e inyección (Figura 1a, b, c). La aspersión se realizó con aerógrafo sobre hojas con heridas del tejido vegetal hechas con agujas hipodérmicas. También se realizó aspersión sin hacer ningún tipo de herida al tejido vegetal. Para el método de inoculación mediante corte con tijeras, éstas fueron sumergidas en el inóculo y se utilizaron para recortar tres hojas de las plántulas, a aproximadamente 2-3 cm de la punta, lo que es comúnmente conocido como método *clipping* (Nino-Liu et al., 2006). La inyección consistió en inocular la suspensión con ayuda de agujas hipodérmicas, tipo tuberculina, en el tallo. La evaluación de los resultados se realizó mediante la longitud de la lesión en hojas.

Diseño y análisis. Para las pruebas de patogenicidad se empleó un diseño completo al azar con tres repeticiones, donde la unidad experimental estuvo constituida por un contenedor con tres plántulas. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y posterior discriminación de medias mediante la prueba de Tukey, utilizando el programa Infogen versión 1.4.

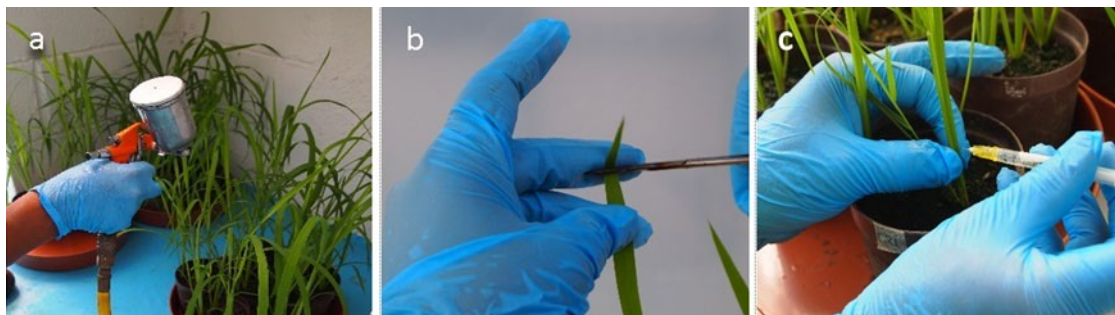


Figura 1. a. Aspersión del inóculo empleando un aerógrafo; b. Corte con tijera; c. Inyección

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización cultural, fisiológica y bioquímica. Se reactivó un total de 19 cepas de la colección, siete de las cuales fueron viables. De ellas, tres correspondieron a la especie *Pantoea agglomerans*, dos a *Burkholderia glumae*, una a *Acidovorax avenae* y una a *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*, todas consideradas patógenos de importancia en el cultivo de arroz. La caracterización de las cepas se muestra en el Cuadro 1. Las cepas reactivadas cumplieron con los protocolos para determinación de bacterias fitopatógenas, observándose en ellas forma de bastón en la tinción con rojo congo. Además, mediante la técnica de KOH al 3% se determinó que todas eran Gram (-), debido a la formación del hilo mucilaginoso por rompimiento de la pared celular. Una vez realizada las pruebas culturales, fisiológicas y bioquímicas, se logró la identificación de las bacterias, corroborándose la presencia de los géneros y especies correspondientes a las cepas en estudio.

Las cepas de *P. agglomerans* presentaron características de bacteria Gram (-), con células en forma de bastones rectos, colonias circulares y convexas de color amarillo. El color en medio YDC (levadura, dextrosa y calcio) y AN fue amarillo pálido a amarillo intenso y su respiración anaeróbica facultativa por la fermentación de glucosa en ausencia de oxígeno en el medio Hugh and Leifson (Kado y Heskett, 1970). Estas cepas resultaron negativas para las pruebas de fluorescencia en medio KB, producción de esculina, oxidasa y crecimiento a 40 °C en CN. Dieron positivo para crecimiento en Kado D3 y PSA, hidrólisis de almidón, catalasa, producción de indol, crecimiento en NaCl del 1 a 3 %,

producción de ácido sulfhídrico, reducción de nitrato, licuefacción de la gelatina a los 3 días, producción de ácido a partir de sacarosa y negativo para melibiosa (Cuadro 1). Estas características concuerdan con las señaladas para

P. agglomerans (González et al., 2015).

En cuanto a las características de *X. oryzae* pv. *oryzae* cepa Xo006, ésta creció en medio Suwa líquido, y posteriormente luego de sembrada en Suwa semisólido y PSA, medios selectivos para Xoo (Suwa, 1962; Ou, 1972), mostraron colonias mucoides, pero de rápido crecimiento a diferencia del crecimiento lento reportado para esta especie; además, no se observó el color amarillo característico de esta especie (Trujillo et al., 1999). No obstante, también se menciona un color pajizo a amarillo para Xoo en PSA (Verdier et al., 2012). Por su crecimiento aeróbico, sin fluorescencia en KB y crecimiento amarillo pálido en YDC, fue ubicada en el género *Xanthomonas* sp. En cuanto a otras características culturales y morfológicas se observaron células bacterianas en forma de bastón de tamaño aproximado de 1,1-2,0 µm de largo x 0,4-0,6 µm de diámetro, Gram (-), con reacción positiva para hidrólisis de esculina y negativa para hidrólisis de almidón, y producción de ácido a partir de arabinosa.

Las características de las cepas *B. glumae*, Bg001 y Bg002, correspondieron a bacterias Gram (-), con células en forma de bastones rectos de tamaño aproximado 1,5-2,5 µm de largo x 0,5-0,7 µm de diámetro, y colonia color amarillo. El color en YDC y AN fue amarillo y respiración aeróbica. No ocurrió la fermentación de glucosa en ausencia de oxígeno en el medio Hugh y Leifson, no fluorescente en KB, positiva para arginina dehidrolasa, crecimiento en NaCl de 1 al 3 %, hidrólisis de la gelatina, sin crecimiento en

pH 4, pero sí lo hubo en pH 8 y 9; resultó positiva para la utilización de arginina y negativa para

sacarosa, características que concuerdan con las señaladas para *B. glumae* (Schaad et al., 2001).

Cuadro 1. Pruebas fisiológicas y bioquímicas de cepas aisladas de arroz, pertenecientes a la colección de patógenos del LPV de la Fundación Danac.

Prueba (medio cultivo)	Cepas Bacterianas						
	Pa001	Pa002	Pa003	Aa002	Xo006	Bg001	Bg002
KOH 3%	+	+	+	+	+	+	+
Rojo Congo	Bacilos	Bacilos	Bacilos	Bacilos	Bacilos	Bacilos	Bacilos
Hugh y Leifson	+	+	+	-	-	-	-
YDC	+	+	+	-	+	-	-
KB (Fluorescencia)	-	-	-	-	-	-	-
Kado D3	+	+	+	-	-	-	-
Arginina dehidrolasa	ND	ND	ND	-	ND	+	+
Crecimiento 40 °C en CA	-	-	-	+	-	+	+
Crecimiento a 40 °C NBY	ND	ND	ND	ND	ND	+	+
Hidrólisis de Esculina	-	-	-	+	-	-	-
Levan	ND	ND	ND	ND	-	-	-
Hidrólisis de Almidón	+	+	+	-	-	-	-
Oxidasa	-	-	-	+	+	-	-
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+
Producción de Indol	+	+	+	-	-	+	+
Producción de H ₂ S	+	+	-	+	-	+	+
Reducción de Nitratos	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento pH 4	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
Crecimiento pH 8	ND	ND	ND	ND	ND	+	+
Crecimiento pH 9	ND	ND	ND	ND	ND	+	+
PSA	+	+	+	-	+	-	-
Suwa	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND
SX	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND
Crecimiento NaCl 1%	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento NaCl 2%	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento NaCl 3%	+	+	+	+	+	+	+
Licuefacción gelatina a los 3d	+	+	+	+	-	+	+
Arabinosa	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND
Arginina	ND	ND	ND	ND	ND	+	+
Melibiosa	-	-	-	ND	ND	ND	ND
Bacteria identificada	<i>Pantoea aglomerans</i>	<i>Pantoea aglomerans</i>	<i>Pantoea aglomerans</i>	<i>Acidovorax avenae</i>	<i>Xanthomonas oryzae</i>	<i>Burkholderia glumae</i>	<i>Burkholderia glumae</i>

ND: No Determinada

La cepa Aa002 de *A. avenae* resultó una bacteria Gram (-), colonia de color crema en YDC

y AN aeróbica, sin fermentación de glucosa en ausencia de oxígeno en el medio Hugh y Leifson,

no fluorescente en KB, positiva para crecimiento a 40 °C, hidrolisis de almidón y reducción de nitratos; negativa para arginina y sacarosa (Cuadro 1). Estas características concuerdan con las señaladas para *A. avenae* (Schaad et al., 2001).

Métodos de inoculación y patogenicidad. En la evaluación de lesiones en hojas realizada para las cepas de *P. agglomerans* se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,001$) entre los tres métodos de inoculación utilizados, específica-

mente, el método de inyección superó a los métodos de aspersión y el de corte, los cuales se ubicaron en un mismo grupo homogéneo y estadísticamente tuvieron el mismo efecto; sin embargo, se observó un mayor tamaño de lesión ocasionada por las cepas con el uso del corte de la hoja (Cuadro 2), lo cual lo hace recomendable por lo fácil y rápido de usar comparado con los otros métodos evaluados, lo que permitiría inocular más plantas en menor tiempo.

Cuadro 2. Longitud de la lesión (cm) en las variedades de arroz ‘Colombia 21’ e ‘IR8’ por efecto de la inoculación con tres cepas de *Pantoea agglomerans* mediante tres métodos diferentes

Método	Variedad						Combinación de variedades
	‘Colombia 21’			‘IR8’			
	Cepas						
	Pa001	Pa002	Pa003	Pa001	Pa002	Pa003	
Aspersión	0,95 ab	6,00 e	0,00 a	0,52 ab	0,00 a	0,00 a	1,24 b
Corte	2,18 bc	1,10 ab	2,98 cd	0,55 ab	1,55 bc	0,61 ab	1,50 b
Inyección	4,62 de	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,77 a
Combinación de métodos	1,98 a			0,36 b			
C.V. (%)	19,06						

Letras distintas indican diferencias significativas para medias o grupos homogéneos según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Se observaron diferencias significativas entre las variedades, resultando ‘Colombia 21’ (C21) más susceptible con respecto a ‘IR8’, exhibiendo mayor tamaño de lesión (Figura 2),

indicativo de una mayor susceptibilidad de esta variedad a la infección en hojas por *P. agglomerans*.

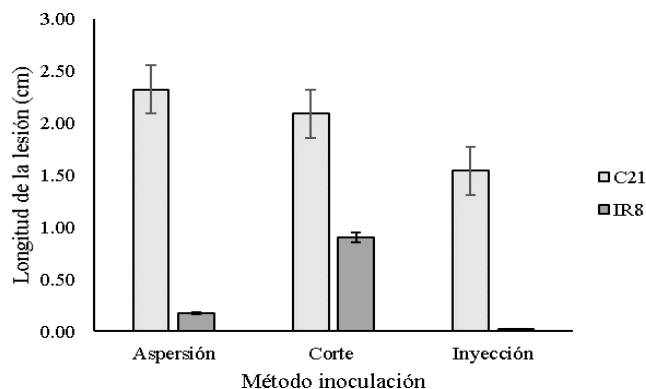


Figura 2. Longitud de la lesión en hojas por efecto del método de inoculación con *Pantoea agglomerans* en las variedades de arroz ‘Colombia 21’ e ‘IR8’

En la Figura 3 se observa la diferencia en cuanto a tamaño de lesión producidas en hojas, una vez inoculadas con las tres cepas de *P. agglomerans*.

En líneas generales la figura muestra la diferencia en capacidad patogénica de las cepas inoculadas, donde la Pa001 produjo mayor tamaño de lesión

comparado con Pa002 y Pa003. En cuanto a expresión de síntomas para cada cepa inoculada se tiene que para *P. agglomerans* el mayor tamaño de lesión en hojas fue causado Pa001 en la

variedad ‘Colombia 21’. Como observación adicional, se notó que el número de lesiones tendió a ser mayor cuando se usó la cepa Pa003.

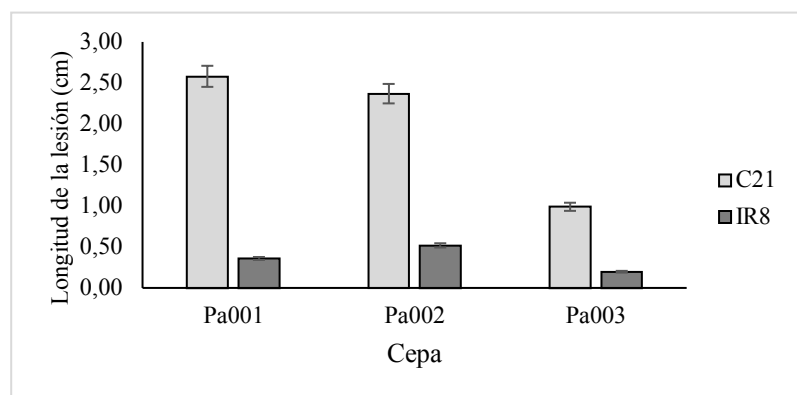


Figura 3. Longitud de la lesión en hojas por efecto de cepas de *Pantoea agglomerans* inoculadas por corte en las variedades de arroz ‘Colombia 21’ e ‘IR8’

Los síntomas en plántulas inoculadas con las cepas Pa001, Pa002 y Pa003 iniciaron con lesiones necróticas en el punto de corte, el cual avanzó por su margen hacia la base de la hoja. Las lesiones crecieron tomando forma de V invertida con apariencia de un quemado foliar, de color naranja. Este quemado foliar ha sido reportado para *P. agglomerans* en zonas de producción de arroz en Korea, Malasia, Turquía y otros países del mundo (Doni et al., 2019). Se encuentran dentro de este género especies asociadas a la decoloración del grano, necrosis del tallo, tizón bacteriano e inhibición de germinación de semillas de arroz, donde principalmente se ubica *P. agglomerans* causando oscurecimiento de las glumas y vaneado de la panícula, lo cual origina importantes pérdidas a nivel mundial (Azizi et al., 2020). Esta especie ha sido identificada en Venezuela causando síntomas foliares en campos arroceros del estado Guárico (Contreras et al., 2001). González et al. (2015) reportaron la presencia de *P. agglomerans* afectando tanto tejido foliar como el grano, por lo que esta especie se constituye un patógeno de importancia para las zonas arroceras del país.

Las cepas inoculadas de las diferentes especies (*A. avenae*, *B. glumae* y *X. oryzae*) resultaron positivas para las pruebas de patogenicidad (100%). Para el caso de inoculaciones en hojas (Figura 4a) y tallos (Figura 4b), los síntomas se observaron a partir de los 5 ddi. Las expresiones

de síntomas en las plantas inoculadas se presentaron a temperaturas mínimas de 23,0 °C y máximas de 32,2 °C, así como en una HR de 67-94 %, los cuales resultaron rangos apropiados para el desarrollo de síntomas bacterianos.

Con relación a *A. avenae*, la cepa Aa002 presentó menor tiempo de aparición de los síntomas (4 ddi) y de forma bastante acentuada, mas no en tamaño de lesión. Las cepas Aa002 y Xo006 resultaron más virulentas en el arroz ‘IR8’. El síntoma ocasionado fue una lesión necrótica en el tallo, un rayado marrón característico del daño causado por la bacteria. Se observó muerte de la vaina, lo que representó la mayor afectación en esta variedad. Una sintomatología similar a la observada en el tallo fue reproducida por Li et al. (2011) en inoculaciones artificiales e infección natural de esta especie bacteriana en plántulas de arroz.

En la cepa Xo006 se lograron visualizar los síntomas por el método de corte o *clipping*. Las plantas mostraron síntomas 4 ddi, periodo mencionado por EPPO (2007) para la aparición del daño de *X. oryzae* en arroz. Los síntomas más conspicuos fueron observados en ‘IR8’, variedad que ha sido mencionada en la literatura como material susceptible a Xoo (Ou et al., 1972). En ‘Colombia 21’ también fue positiva la prueba de patogenicidad, aunque con menor tamaño de lesión en hojas con el corte, pero con mayor lesión en tallos inoculados por inyección. Inicialmente,

en 'IR8', se observaron lesiones necróticas en el punto de corte, que coalescieron y avanzaron hacia la base de la hoja. No se desarrollaron síntomas como los señalados en la literatura, similares a rayas empapadas en agua, de color verde pálido a verde grisáceo cerca de la punta y los márgenes de las hojas; se señala que dichas lesiones se unen y se vuelven de color blanco amarillento con bordes ondulados, los cuales son los síntomas característicos del tizón bacteriano (Kumar et al., 2020; Verdier et al., 2012a).

La infección sistémica ocasionada por *X. oryzae* pv. *oryzae*, conocida como *kressek* (Figura 4c), dio como resultado la desecación de las hojas y la muerte, tal como ocurrió con la vaina en 'Colombia 21', síntoma observado en el presente estudio. Por otra parte, se presume que, por la recién reactivación de la cepa proveniente de liofilizado, haya perdido su virulencia, lo que habría repercutido en la expresión del síntoma. Aunado a lo anterior, se trata de una cepa de otras regiones (donación del IRRI, Filipinas) y no se conoce su comportamiento en nuestras variedades de arroz. Existe la hipótesis que las cepas de Xoo aisladas en el continente americano son menos virulentas que las presentes en Asia o África (Lang et al., 2010; Verdier et al., 2012b).

Para Bg001 y Bg002, pertenecientes a *B. glumae*, la patogenicidad fue positiva mostrándose una mayor susceptibilidad en 'Colombia 21' con respecto a 'IR8', con diferencias significativas en cuanto a tamaño de lesiones para las dos cepas evaluadas. Los síntomas observados para ambas cepas fueron conspicuos en 'Colombia 21' y se notó una clorosis más acentuada en esta variedad con respecto a 'IR8'; además, se observó el rayado causado por la bacteria. Estos síntomas concuerdan con los descritos para *B. glumae* por González et al. (2011), quienes señalan decoloración de la hoja, rayado bacteriano y decoloración del grano de arroz. Otros autores describen lesión marrón o necrótica, con un margen distintivo, raya de la hoja, pudrición del grano, decoloración de la espiguilla de color gris o color pajizo y la otra mitad de color más oscuro, tizón en plántulas, esterilidad y aborto en flores (Shahjahan et al., 2000) y decoloración del grano (Jeong et al., 2003; Ortega y Rojas, 2021).

Nandakumar et al. (2009) mencionan que la enfermedad del añublo causada por *B. glumae* se caracteriza por la presencia de panículas marrones

o decoloradas. Las ramas y panículas se mantienen verdes al inicio, sin lesiones ni presencia de decoloración, y las flores afectadas detienen el crecimiento o son abortadas por la planta. Las panículas afectadas pueden tener pocas o todas las flores enfermas y los granos pueden mostrar diferentes grados de decoloración dependiendo de la intensidad de la infección (Zhou et al., 2011; Ortega y Rojas, 2021). En estado avanzado las plantas permanecen erguidas y la panícula se mantiene vertical, debido a la ausencia de ganancia de peso en los granos (Sayler and Yang, 2006). Así, el estado más crítico de la enfermedad se presenta en el momento que emerge la panícula y el efecto más claro es la esterilidad de los granos y su decoloración (Lederson, 2011; Ortega y Rojas, 2021).

Con relación al manchado de granos se observó que Xo006 mostró mayor porcentaje de granos afectados en 'IR8' (Figura 5), en los que se visualizaron pequeñas lesiones marrones a manera de puntos. En algunas panículas se observaron pocos granos con manchado generalizado. Para Pa003 el manchado se presentó en las dos variedades y se mostró como un manchado marrón claro, también conocida esta afectación como bronceado de la palea, mientras que Bg001 ocasionó decoloración del grano y aborto. Para *A. avenae*, se observó la mayor afectación, con síntomas más acentuados, manchado marrón oscuro con decoloración en los extremos color achocolatado, similares a los que la literatura menciona también para *B. glumae*. Sin embargo, en la evaluación estadística de esta sintomatología en grano de arroz, se pudo determinar que las cepas que afectaron más a 'Colombia 21' e 'IR8' fueron Bg001 y Xo006, sin diferencias significativas entre ellas (Cuadro 3).

Las cepas Aa002 y Pa003 conformaron un segundo grupo, el cual representa las cepas con menor porcentaje de manchado del grano en ambas variedades de arroz, con diferente comportamiento en cuanto a la variedad. No obstante, al realizar el análisis combinando por variedad, se pudo determinar que la cepa con mayor capacidad virulenta para producir manchado en granos fue Xo006, la cual mostró diferencias ($P \leq 0,001$) en comparación con el resto de las cepas en estudio. Así mismo el análisis permitió discriminar una diferencia significativa

entre las variedades, notándose que el material más susceptible, independientemente de las cepas

inoculadas, resulto ser 'IR8' con mayor porcentaje de granos manchados que 'Colombia 21' (Cuadro 3).



Figura 4. a. Lesiones foliares en arroz causadas por ataque bacteriano; b Lesión en el tallo; c. Síntoma de “Kressek” en la hoja producido por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

En la evaluación del manchado en grano, producto de las inoculaciones en panículas, se observó, en líneas generales que la prueba de patogenicidad fue positiva para todas las especies estudiadas, apareciendo los síntomas de manchado de granos a partir de los 5 ddi. Se observó el mayor porcentaje de granos manchados en 'IR8', para todas las cepas evaluadas. La cepa Xo006 alcanzó el mayor porcentaje de granos manchados (73,32 %) en el arroz 'IR8', mientras que el valor más bajo (20,53 %) le correspondió a la cepa Pa003 en el arroz 'Colombia 21'. Se destaca que 'IR8' fue el material más susceptible con un mayor porcentaje de granos manchados en todas las cepas evaluadas, mientras que 'Colombia 21' presentó mayor resistencia ante la infección. Así mismo, las cepas Xo006 y Bg001 resultaron con mayor porcentaje de granos manchados, con respecto a Aa002 y Pa003 (Cuadro 3).

Estos resultados coinciden con reportes de la literatura que señalan al arroz 'IR8' como muy susceptible a *X. oryzae* (Ou, 1972), con pérdidas de hasta 75 % por el manchado del grano cuando es afectado por esta bacteria. Además, Pérez y Saavedra (2011) reportan a 'Colombia 21' como susceptible a la bacteriosis del añublo de la panícula ocasionada por *B. glumae*, lo cual tiene concordancia con nuestros resultados.

Por otra parte, también es importante señalar que, en cuanto a la sintomatología observada, se pueden encontrar algunas *Xanthomonas* spp.

asociadas al grano, así como *A. avenae* subsp. *Avenae* y *B. glumae*, implicadas en la decoloración y pudrición del grano (Li et al., 2011; Gonzalez et al 2011), y *P. agglomerans*, causante del bronceado de la palea y manchado del grano (Contreras et al., 2001; González et al., 2015).



Figura 5. Panícula sin lesiones del tratamiento control (c), y panícula con granos manchados en tratamiento inoculado (i)

Cuadro 3. Manchado del grano (%) en las variedades de arroz ‘Colombia 21’ e ‘IR8’ por efecto de la inoculación con diferentes cepas bacterianas

Cepas	Variedad		Combinación de cepas
	‘Colombia 21’	‘IR8’	
Aa002	23,48 a	40,27 ab	31,88 a
Bg001	48,60 ab	75,00 b	61,80 b
Pa003	20,53 a	42,14 ab	31,33 a
Xo006	35,68 ab	73,32 b	54,50 ab
Combinación de variedades	32,07 a	57,68 b	
C.V. (%)		15,79	

Letras distintas indican diferencias significativas para medias o grupos homogéneos según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

CONCLUSIONES

Se pudo corroborar la patogenicidad de las diferentes cepas de los géneros *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Pantoea* y *Xanthomonas*, inoculadas en el arroz y su capacidad de afectar el cultivo tanto a nivel de la hoja como de la panícula, afectando de esta manera la calidad del grano y su rendimiento. Las dos variedades de arroz fueron susceptibles a las bacteriosis, aunque con notorias diferencias entre ellas. Cuando se evaluó la hoja, la variedad ‘Colombia 21’ fue más afectado que el ‘IR8’ por efecto de la inoculación con *P. agglomerans*. Sin embargo, al evaluar la sintomatología en la panícula la variedad ‘IR8’ resultó el más susceptible, es decir, presentó el mayor porcentaje de granos manchados, con la consiguiente pérdida del rendimiento del producto comercial. Aunque en Venezuela no se hallaron estudios de resistencia del cultivo para el control de estas enfermedades bacterianas, en esta investigación se logra un avance en la caracterización de las principales enfermedades bacterianas del arroz, como punto de partida para la obtención de variedades resistentes a través del mejoramiento genético.

LITERATURA CITADA

1. Azizi, M., S. Ismail, M. Ina-Salwany, E. Hata y D. Zulperi. 2020. The emergence of *Pantoea* species as a future threat to global rice production. *Journal of Plant Protection Research* 60: 327-335.
2. Chien, C., M. Chou, C. Chen y M. Shih. 2019. Analysis of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Taiwan. *Scientific Reports* 9:316
3. Contreras, N., C. González, N. Gómez y N. Vargas. 2001. *Erwinia herbicola* en plantaciones de arroz en Lecherito, estado Guárico. *Fitopatol. Venez.* 14: 50.
4. Cui, Z., B. Zhu, G. Xie, B. Li y S. Huang. 2016. Research status and prospect of *Burkholderia glumae*, the pathogen causing bacterial panicle blight. *Rice Science* 23: 111- 118.
5. Doni, F., M. Nurul, M. Zulqarnain, I. Nazri y M. Muhamad. 2019. *Pantoea*: a newly identified causative agent for leaf blight disease in rice. *Journal of Plant Diseases and Protection* 126: 491-494.
6. EPPO. 2007. Diagnostic of *Xanthomonas oryzae*. European and Mediterranean Plant Protection Organization, Bulletin OEPP/EPPO 37: 543–553.
7. FAO. 2022. Datos de producción de los principales rubros agrícolas, a nivel mundial. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL> (consulta de julio 5, 2022).
8. 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.
9. González, A., M. Franco, N. Contreras, I. Galindo, Y. Jáyaró y E. Graterol. 2015. First report of *Pantoea agglomerans* causing rice leaf blight in Venezuela. *Plant Dis.* 99:552.
 10. Guevara, Y., y A. Maselli. 1999. Detección de *Xanthomonas* sp. en siembras de arroz en Calabozo, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 12: 24.
 11. Jeong, Y., J. Kim, S. Kim, Y. Kang, T. Nagamasu y I. Hwang. 2003. Toxoflavin produced by *Burkholderia glumae* causing rice grain rot is responsible for inducing bacterial wilt in many field crops. *Plant Dis.* 87:890-895.
 12. Jiang, N., J. Yan, Y. Liang, Y. Shi, Z. He, Y. Wu et al. 2020. Resistance genes and their interactions with bacterial blight/leaf streak pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in rice (*Oryza sativa* L.). An Updated Review. *Rice* 13: 1-12.
 13. Kado, C., y M. Heskett. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60: 969-976.
 14. Kumar, A., R. Kumar., D. Sengupta., S. Narayan., M. Pandey., A. Bohra et al. 2020. Deployment of genetic and genomic tools toward gaining a better understanding of rice-*Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* interactions for development of durable bacterial blight resistant rice. *Frontiers in Plant Science* 11: 1152.
 15. Lang, J., J. Hamilton, M. Diaz, M. Van Sluys, M. Burgos, C. Vera Cruz et al. 2010. Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant Dis.* 94: 311-319.
 16. Lederson, G. 2011. Manejo integrado del añublo bacterial de la panícula del arroz (*Oryza sativa* L.) causado por *Burkholderia glumae* Kurita&Tabei: Una revisión. *Agron.* 19: 79-90.
 17. Li, B., B. Liu, R. Yu, Z. Tao, Y. Wang, G. Xie et al. 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.
 18. Nandakumar, R., A. Shahjahan, X. Yuan, E. Dickstein, D. Groth, C. Clark et al. 2009. *Burkholderia glumae* and *B. gladioli* cause bacterial panicle blight in rice in the southern United States. *Plant Dis.* 93: 896-905.
 19. Nelson, R. 2020. International Plant Pathology: Past and Future Contributions to Global Food Security. *Phytopathology* 110: 245-253.
 20. Nino-Liu, D., P. Ronald y A. Bogdanove. 2006. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Molecular Plant Pathology* 7: 303-324.
 21. Ortega, L. y C. Rojas. 2021. Bacterial panicle blight and *Burkholderia glumae*: From pathogen biology to disease control. *Phytopathology* 111: 772-778.
 22. Ou, S. 1972. *Rice Diseases*. CMI. Kew, Surrey. England. 308 p.
 23. 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.
 24. Rafi, A., A. Hameed, M. Akhtar Farhatullah, K. Sohail, M. Shahid y M. Fahim. 2013. Identification and characterization of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in north-west of Pakistan. *Sarhad J. Agric.* 29: 423-432.
 25. Sayler, R. y 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: 603-610
 26. Schaad, N., J. Jones y W. Chun. 2001. *Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press. Minnesota. 373 p.
 27. Shahjahan, A., M. Rush, D. Growth y C. Clark. 2000. Panicle Blight. *Rice Journal* 15: 26-29.
 28. Suwa, T. 1962. Studies on the culture media of *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama). Dowson. *Japanese Journal of Phytopathology* 27: 165-171.

29. 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.
30. Verdier, V., C. Veracruz y J. Leach. 2012a. Controlling rice bacterial blight in Africa: needs and prospects. *Journal of Biotechnology* 159: 320-328.
31. Verdier, V., L. Triplett, A. Hummel, R. Corral, A. Cernadas, C. Schmidt et al. 2012b. Transcription activator-like (TAL) effectors targeting OsSWEET genes enhance virulence on diverse rice (*Oryza sativa*) varieties when expressed individually in a TAL effector-deficient strain of *Xanthomonas oryzae*. *New Phytologist* 196: 1197–1207.
32. Zhou, X., A. McClung, M. Way, Y. Jo, R. Tabien y L. Wilson. 2011. Severe outbreak of bacterial panicle blight across Texas Rice Belt in 2010 [abstract]. *Phytopathology* 101: S205.