

 CIAT66937
COLECCION HISTORICA

Identificación del añublo bacterial del arroz, causado por

Xanthomonas oryzae, en AméricaJ.C. Lozano¹⁾

NC

El añublo bacterial del arroz es considerado como una de las enfermedades de mayor importancia económica del cultivo en Asia (13). Las pérdidas ocasionadas varían entre 6 y 60% (10). Además de Asia, esta enfermedad se ha presentado en Africa, Madagascar, URSS (10) y en Australia (1), causando algunas pérdidas. En América no se ha encontrado ninguna evidencia anterior de su presencia.

Durante los últimos años se ha observado una quemazón apical en algunas plantaciones de arroz en la zona del Caribe, que se había atribuido a efectos causados por vientos fuertes o por sequías prolongadas. Como los síntomas observados eran muy similares a aquellos inducidos por Xanthomonas oryzae, se inició un estudio para determinar si realmente este patógeno era el causante del síndrome observado.

Materiales y Métodos

Se tomaron pequeñas porciones (1 cm²) de los bordes de las lesiones foliares y se maceraron con un homogenizador de tejido en 5 ml de agua destilada estéril. La suspensión se utilizó para sembrar cajas de Petri con los medios Wakimoto (14) y Silva y Buddenhagen (6), que son específicos para el aislamiento de X. oryzae. Para obtener una mayor eficiencia en los aislamientos, se modificó el medio de Wakimoto adicionando FeSO₄ y suprimiendo la papa (6) y el de Silva y Buddenhagen, remplazando la glucosa por sucrosa y el ácido glutámico por glutamato de Sodio (6). Las cajas de Petri inoculadas se incubaron en cámaras de crecimiento a 28 °C.

1) Fitopatólogo, CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, CIAT
Apartado Aéreo 6713, Cali, COLOMBIA

La morfología de la bacteria aislada se determinó por observaciones en el microscopio electrónico, tificando las células bacteriales con ácido fosfotúngstico (PTA) al 1,5%. Las observaciones culturales se hicieron en los medios antes descritos y los estudios fisiológicos, siguiendo los procedimientos bacteriológicos comunes para cada prueba.

Para las pruebas patogénicas se usaron las variedades IR8 y Bluebonnet 50 (Bbt 50) (previamente registradas como susceptibles), sembradas en pots plásticos de 10 cm de diámetro. La inoculación se efectuó cuando las plantas tenían de 45 a 60 días de edad, usando como inóculo un cultivo bacterial de 72 hr, suspendido en agua destilada estéril a una concentración aproximada de 10^9 células/ml. Los métodos de inoculación usados fueron el de punción de la hoja con aguja y el de corte de la hoja con tijeras infestadas por inmersión en la suspensión bacterial (4, 7, 9). Estos dos métodos son usados comúnmente en Asia para pruebas de patogenicidad, virulencia y resistencia a X. oryzae (6, 7). Las plantas inoculadas se mantuvieron en un invernadero a 28°C, y 80% de humedad relativa, aproximadamente.

Además, se inocularon por los métodos de punción y de corte de hojas previamente descritos y usando dos aislamientos de Panamá y dos de México, las siguientes variedades de arroz, cuya reacción a varias cepas asiáticas de X. oryzae ha sido previamente determinada en Asia (Weeraratne, comunicación personal; 5, 6, 7): IR8, Bbt 50, K8 1922, IR 2035-290-1908, Bg 96-2-1909, IR22, Bg 66-1-1912, Bg 90-2, Bahagia 1907, Pelita 1/1, Remadja 1904, 73-1226-1915, Tadukan 1902 y Bg 97-2-1911. La evaluación final sobre resistencia-susceptibilidad se hizo a los 15 días de la inoculación e incubación en invernadero, de acuerdo a la escala de evaluación registrada por Ou et al (11).

Resultados

Observaciones de campo.

Los síntomas observados en el campo fueron más evidentes a la floración y/o después; sin embargo, en Panamá se observó un lote afectado de Nilo 2 de sólo dos meses de edad.

No obstante que los síntomas observados en todas las plantaciones eran notorios, la severidad de ataque aparentemente fue de leve a moderada. Las lesiones foliares observadas comenzaban generalmente por los márgenes, a pocos centímetros del ápice foliar. Estas se alargaban necrosando el ápice y ambas márgenes de la lámina foliar, a medida que se ensanchaban hacia la nervadura central. Comúnmente un margen foliar era más necrosado que el otro (Fig. 1). En algunas variedades, tales como Nilo 2 y Ebt 50, la región entre la parte necrosada y la sana consistía en una zona acuosa marrón pálido. Algunas hojas afectadas mostraban franjas necróticas entre los bordes de la lámina foliar; estas franjas eran inicialmente de color amarillo pálido, que se intensificaban en color y se alargaban; luego, el tejido afectado se necrosaba. Ocasionalmente, cerca a las márgenes necrosadas, se observaron pequeñas franjas de color marrón pálido que se ensanchaban y producían luego franjas necróticas grandes; estos síntomas fueron más notorios en la variedad Nilo 2. El exudado gomoso sólo se observó durante las primeras horas del día y sobre las lesiones iniciales o entre la franja necrosada y la zona sana de la lámina foliar.

Los síntomas antes descritos aparecían por zonas en la plantación; estos parches de plantas enfermas aumentaban progresivamente y eran más notorios después de una o dos semanas de sequía, en cultivos de arroz secano. Al ini

Las pruebas patogénicas mostraron los primeros síntomas de la enfermedad a los 4-5 días de la inoculación. Estos consistieron en la presencia de lesiones acuosas a partir del área foliar punzada o cortada; cuando se cortó la hoja con tijera infestada, ésta tendía a encartucharse. Las lesiones progresaban de la región punzada hacia el ápice de la hoja o hacia abajo, cuando la hoja era cortada; estas lesiones mostraban franjas necróticas vasculares de color verde intenso a marrón pálido. Cuando la inoculación era por punción, la hoja se amarillaba en forma progresiva; hacia los quince días de la inoculación mostraba franjas anchas necróticas hasta el ápice foliar (Fig. 2); cuando era por corte de hoja, la necrosis alcanzaba hasta 1/4 - 1/2 del área foliar a los 15 días de la inoculación.

Las variedades inoculadas mostraron el mismo espectro de virulencia para cada aislamiento. De éstas, IR-8 y Bbt 50 se evaluaron como susceptibles, IR-2035-290-1908 y K8-1922, tolerantes y las demás variedades, como resistentes (Fig. 3).

Discussion

Los resultados muestran claramente que el patógeno bacterial aislado pertenece a la especie X. oryzae, agente causal del añublo bacterial del arroz, basados en que: a) los síntomas observados en el campo y los obtenidos por inoculaciones artificiales son idénticos a aquellos descritos como inducidos por X. oryzae (10); b) el patógeno bacterial se aisló usando los mismos dos medios que han sido desarrollados específicamente para aislar el agente causal del añublo bacterial (6, 14); c) las características culturales, morfológicas y fisiológicas del patógeno bacterial aislado en América son idénticas a aquellas registradas para X. oryzae (2, 10); d) usando los mismos métodos de inocu-

lación artificial, desarrollados para probar patogenicidad, virulencia y/o resistencia a X. oryzae (4, 7, 9), los síntomas se desarrollaron en un período igual que el registrado cuando se inocula X. oryzae por estos métodos (7, 10); y e) las variedades inoculadas mostraron el mismo tipo de reacción que la registrada al inocular con diferentes cepas asiáticas de X. oryzae (Weeraratne, comunicación personal; 5, 6, 7).

La presencia de éste patógeno en América puede ser debido a:

1. Un proceso evolutivo del patógeno, originado en este continente, que afectó primero malezas susceptibles y luego al arroz. Esta hipótesis ha sido registrada como la más probable para explicar la presencia de X. oryzae en Australia (1). Sin embargo, las siguientes evidencias sugieren que esta hipótesis no es convincente para el caso Americano: a) es conocido que el arroz y la mayoría de las malezas (Rottboellia exaltata, Paspalum spp., Panicum spp., Echinochloa colonum, Cyperus rotundus, etc) comunes en arrozales de América Tropical, han sido introducidas. Aunque se han observado síntomas parecidos a los del añublo del arroz en estas malezas, la presencia de tales especies y su afección estaban restringidas a áreas en donde se ha cultivado arroz; b) se observó que la enfermedad estaba ampliamente distribuida en la región del Caribe (México, Honduras, Salvador, Costa Rica, Panamá) y Sur América (Venezuela, Colombia y Bolivia). Esta distribución tan amplia, lógicamente sugiere un sistema rápido y eficiente de diseminación para vencer las barreras naturales con que están separadas las áreas arroceras del trópico americano. Si el proceso evolutivo hubiera ocurrido, deberían haber existido muchos centros simultáneos de evolución en áreas con características ecológicas diversas, ya que las zonas arroceras en donde la enfermedad ha

sido observada tienen marcadas diferencias ecológicas, sobretodo climáticas. Esto sería demasiado improbable. Además, un proceso evolutivo de este organismo implicaría lógicamente la existencia de biotipos diferentes entre si y entre los biotipos asiáticos. Los resultados obtenidos, aunque preliminares, demuestran lo contrario, sobretodo en lo relacionado a virulencia.

2. Que el patógeno fue introducido por la importación de semilla infectada y/o infestada. Como el patógeno también ataca algunas malezas (10), su introducción pudo haber ocurrido por la importación de semilla de pastos o de arroz contaminadas de malezas infectadas (generalmente la semilla de pastos contiene mucho más impurezas que la de arroz). Se ha comprobado que este tipo de importación se ha hecho en varios países de Latinoamérica, sin ninguna precaución cuarentenaria del país exportador, importador o de ambos.

En Asia se ha comprobado que la semilla de arroz proveniente de lotes infectados se encuentra generalmente infectada y/o infestada (3, 12), pero se afirma que el patógeno no sobrevive por mucho tiempo sobre la semilla (8, 12). Sin embargo, esto no excluye la posibilidad de que unas pocas semillas infectadas hayan llegado a América en las numerosas importaciones que se han hecho, particularmente durante esta última década, ya que: a) se ha demostrado la diseminación del patógeno por medio de la semilla infestada (Ou, información sobre su viaje a la China); b) evidentemente se ha aislado al patógeno de semilla de arroz después de dos meses de la cosecha (8); y c) cada importación de arroz representa de cientos a millones de granos/ unidad de peso, lo que hace imposible detectar la presencia o ausencia del patógeno en cualquier importación por los métodos actualmente conocidos. Pocas semillas infectadas y/o infestadas pudieron haber constituido la fuente de inóculo primario para este continente. La diseminación, por semilla o por

otros métodos de diseminación conocidos, a partir de estos focos primarios, pudo luego haber ocurrido entre las diferentes zonas arroceras de Latinoamérica en forma más intensa y rápida.

Se debe tener en cuenta que la importación de arroz a Latinoamérica ha sido hecha por particulares y por entidades nacionales y/o internacionales, y que se han hecho importaciones indiscriminadas, de considerable volumen y sin tener precauciones cuarentenarias; esto lógicamente aumenta los riesgos de introducción de cualquier patógeno. Pero además, para dilucidar lo relacionado a la presencia de X. oryzae en el continente Americano, se necesita mucha más investigación, por ejemplo, sobre estudios ecológicos del patógeno en el continente; estudios comparativos sobre virulencia, fisiología y sensibilidad a fagos con cepas asiáticas; etc.

La dispersión observada de la enfermedad y la procedencia de las variedades atacadas, indican que parece que éste patógeno está en América desde hace algunos años: se encontraron afectadas tanto variedades nativas* y mejoradas como variedades introducidas hace más de 10 años (Nilo 2 a Panamá, por ejemplo); algunas plantaciones de variedades nativas estaban afectadas, pero en estas áreas se habían sembrado previamente variedades mejoradas o introducidas recientemente.

La severidad de la enfermedad observada fue en general de leve a moderada, presumiéndose que los daños económicos ocasionados fueron leves. Como las condiciones ecológicas (sobre todo climáticas) son diferentes a las zonas asiáticas en donde la enfermedad causa epifitotias, es posible que la enfermedad no llegue a ocasionar pérdidas considerables en algunas regiones. En América

* En América, variedad nativa es aquella que ha sido introducida desde
1920 años.

no existen tifones; la temperatura imperante en muchas zonas arroceras es moderada, sobre todo durante la estación lluviosa; en muchas zonas se cultiva arroz secano o por riego corrido, sin embalse. Estas y otras diferencias climáticas y de sistemas de producción de arroz en este continente, pueden minimizar la diseminación del patógeno, reducir el desarrollo de los síntomas y, consecuentemente, la ocurrencia de epifitias. Sin embargo, como al desarrollar las variedades mejoradas que se cultivan actualmente en este continente no se trató de involucrar resistencia a este patógeno ya que el continente era considerado libre de la enfermedad, y existen áreas en donde la precipitación pluvial es muy alta (mayor de 2.500 mm/año), puede que los riesgos de epifitias sean mayores a los esperados. Es necesario, consecuentemente, estudiar estos factores ambientales en relación con la presencia y severidad de la enfermedad y a la vez iniciar en los programas de mejoramiento la incorporación de resistencia en las variedades que se seleccionen en el futuro.

Agradecimientos

El autor expresa sus agradecimientos a los doctores: L. Johnson, H. Weeraratne y M. Rosero (Lider y fitomejoradores, respectivamente, del Programa de arroz del CIAT) y D. Webster (estudiante graduado, Universidad de Wisconsin), por su colaboración en la ejecución de este trabajo y en la observación de la enfermedad en varios países.

Bibliografía citada

1. Aldrick, S.J., I.W. Buddenhagen, and A.K. Reddy. 1973. The occurrence of bacterial leaf blight in wild and cultivated rice in northern Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 24:219-227.
2. Bergey, D.H. (ed.) *Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. 1975. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md. 1268 pp.
3. Chakravarti, B.P., and M. Rangaranjan. 1967. A virulent strain of Xanthomonas oryzae isolated from rice seeds in India. *Phytopathology* 57: 688-690.
4. Chien, C.C., and Y.C. Hung. 1970. Studies on the bacterial leaf blight of rice plant. I. Discussion on the inoculation methods and the selection of resistant rice varieties. *J. Taiwan Agr. Res.* 19: 46-50.
5. IRRI (The International Rice Research Institute). 1971. Annual Report for 1970. IRRI, Los Baños, Laguna, Philippines, 265 pp.
6. IRRI (The International Rice Research Institute). 1972. Annual Report for 1971. IRRI, Los Baños, Laguna, Philippines, 238 pp.
7. IRRI (The International Rice Research Institute). 1973. Annual Report for 1972. IRRI, Los Baños, Laguna, Philippines, 246 pp.
8. Kauffman, H.E. and A.P. Reddy. 1975. Seed transmission studies of Xanthomonas oryzae in rice. *Phytopath.* 65:663-669.
9. Kauffman, H.E., A.P. Reddy, S.P.Y. Hsieh, and S.D. Merca. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to Xanthomonas oryzae. *Plant. Dis. Repr.* 57:537-541.
10. Ou, S.H. 1972. Rice diseases. Commonwealth Mycological Institute (CMI), Kew, Surrey, England, 368 pp.

11. Ou, S.H., F.L. Nogue, and J.P. Silva. 1971. Varietal resistance to bacterial blight of rice. *Pl.Dis. Repr.* 55:17-21.
12. Srivastava, D.N., and Y.P. Rao. 1964. Seed transmission and epidemiology of the bacterial blight disease of rice in North India. *Indian Phytopath.* 17:77-78.
13. Thurston, H.D. 1973. Threatening plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 11:27-52.
14. Wakimoto, S. 1967. Strains of Xanthomonas oryzae in Asia and their virulence against rice varieties. Pages 19-24 in *Rice diseases and their control by growing resistant varieties and other measures.* Proc. Symp. Trop. Agr. Min. Agric. For., Tokyo, Japan. 250 p.

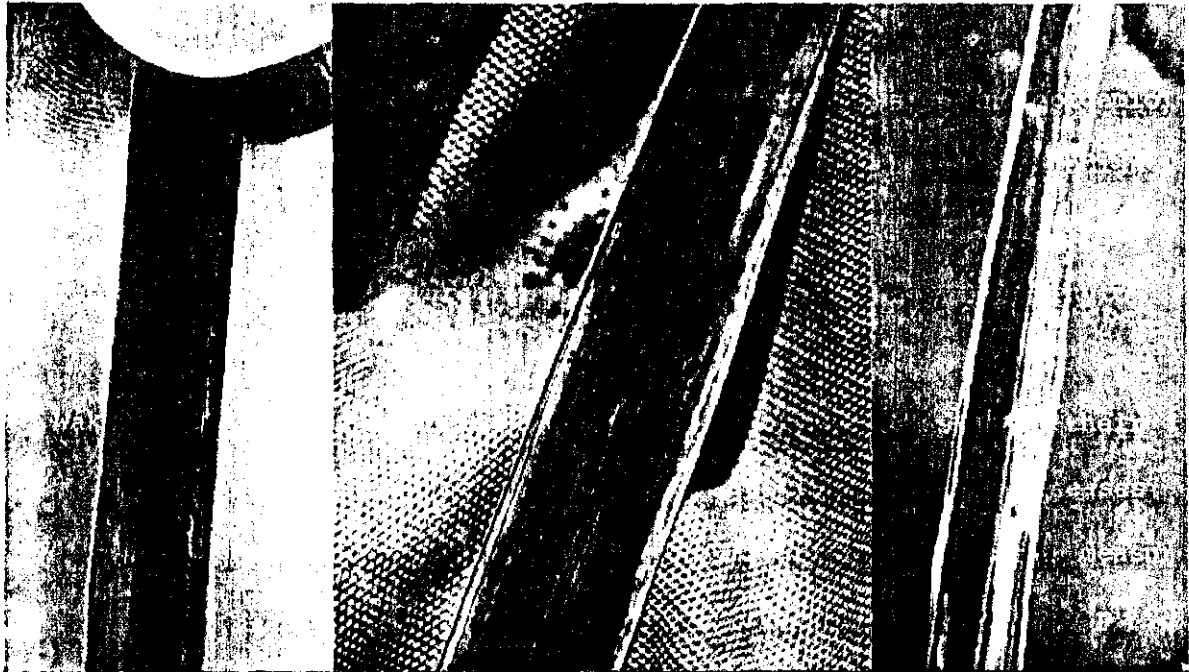


Fig. 1 Three stages of development of bacterial leaf blight in rice under field conditions. Left: initial symptoms on var. Nilo 2; center: symptoms after 10 days of infection; and right: symptoms after 20 days of infection on var. CICA 4.

Tres estados de desarrollo del añublo bacterial del arroz en condiciones de campo. Izquierda: síntomas iniciales en la variedad Nilo 2; centro: síntomas después de los 10 días de la infección; derecha: síntomas después de los 20 días de la infección en la variedad CICA 4.



Fig. 2 Reaction of Bluebonnet 50 to a Panama isolate (X.O. No. 5), inoculated by the puncture-technique, after 15, 12, 8 and 4 days of inoculation (from left to right, respectively). Plants were kept in a greenhouse at 28 °C and 80-90% relative humidity.

Reacción de la variedad Bluebonnet 50 inoculada con un aislamiento de Panamá por el método de punción. De izquierda a derecha: hojas después de 15, 12, 8 y 4 días de la inoculación. Las plantas se mantuvieron en un invernadero a 28 °C y 80-90% de humedad relativa.



Fig. 3 Reaction of six different rice varieties to a Panama isolate (X.O. No. 2) inoculated by the puncture-technique, 15 days after inoculation and incubation in a greenhouse at 28 °C and 80-90% relative humidity. From left to right: Bluebonnet 50 and IR8 (susceptible); K8-1922 and IR-2035-290-1908 (tolerant); Tadukan 1902 and Bg 90-2 (resistant).

Reacción de seis variedades de arroz a un aislamiento de Panamá (X.O. No. 2) inoculado por el método de punción y después de 15 días de la inoculación y encubación en un invernadero a 28 °C y 80-90% de humedad relativa. De izquierda a derecha: Bluebonnet 50 y IR8 (susceptibles); K8-1922 y IR-2035-290-1908 (tolerantes); Takudan 1902 y Bg 90-2 (resistentes).