

CIENCIA DE LAS PLANTAS

Identificación de bacterias fitopatógenas y su relación con la germinación de semillas de maíz

Identification of Phytopathogenic Bacteria and Their Relationship with Maize Seed Germination

Samuel Ezequiel Bustos-Meza¹, Isaías Ezequiel Sánchez Gómez², Eliézer Hazael Lanuza Rodríguez³, Roger Iván Moreira Centeno⁴

¹ Ingeniero en Sanidad Vegetal, graduado de la Dirección de Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional Agraria, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2097-4817>/ezequiel.bustos.33821@gmail.com

² MSc. en Sanidad Vegetal, Universidad Nacional Agraria, Dirección de Ciencias Agrícolas, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6604-1660> / isanchez@ci.una.edu.ni

³ MSc. en Innovación Agropecuaria, Universidad Nacional Agraria, Dirección de Ciencias Agrícolas, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9717-4709>/eliezer.lanuza@ci.una.edu.ni

⁴ Licenciado en Extensión Agraria, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario y Calidad de Semillas, Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6883-5272>/roger.moreira@ipsa.gob.ni

Autor para correspondencia: isanchez@ci.una.edu.ni



RESUMEN

En Nicaragua el maíz se produce principalmente por pequeños y medianos productores; parte de la producción se destina al comercio y el resto se destina como semilla (siembra), no obstante, la producción se ve afectada por problemas ocasionados por patógenos, particularmente el grupo de las bacterias. Esta investigación se desarrolló con el objetivo de identificar fitobacterias asociadas a semillas de maíz y su efecto sobre la germinación. Se utilizaron 50 muestras de semillas proporcionadas por el Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria, las que procedían de Managua, Chinandega, León y Matagalpa, departamentos de Nicaragua. Para el aislamiento e identificación de las fitobacterias se utilizó la metodología de cámaras húmedas, medios de cultivos específicos, diferenciales, pruebas fenotípicas y los postulados de Koch para observar síntomas en plantas de 20 días de edad. Se realizaron pruebas de germinación en 400 semillas (cuatro repeticiones) por fitobacteria identificada y para el testigo y se observaron los síntomas producidos por las fitobacterias en las plántulas. Se obtuvieron 16 aislados de *Burkholderia andropogonis*

ABSTRACT

In Nicaragua, corn is produced mainly by small and medium producers, part of the production is destined for commerce and the rest is destined as seed (planting), however, production is affected by problems caused by pathogens, particularly the group of the bacteria. This research was developed with the objective of identifying genera and species of phyto-bacteria associated with corn seeds and the effect on germination. 50 seed samples provided by the Agricultural Protection and Health Institute were used, which came from the departments of Managua, Chinandega, Matagalpa and León. For the isolation and identification of phyto-bacteria, the methodology of humid chambers, specific culture media, differentials, phenotypic tests and Koch's postulates were used. Germination tests were carried out on 400 seeds by identified phyto-bacteria and a control, using the humid chamber technique, to determine the effect of phyto-bacteria on the seeds and the symptoms observed. 16 isolates of *Burkholderia andropogonis* (Smith) Gillis et al and one isolate of *Pseudomonas syringae* Van Hall were

Recibido: 14 de enero del 2024

Aceptado: 15 de agosto del 2024



Los artículos de la revista La Calera de la Universidad Nacional Agraria, Nicaragua, se comparten bajo términos de la licencia Creative Commons: Reconocimiento, No Comercial, Compartir Igual. Las autorizaciones adicionales a las aquí delimitadas se pueden obtener en el correo donald.juarez@ci.una.edu.ni

© Copyright 2024. Universidad Nacional Agraria (UNA).

CIENCIA DE LAS PLANTAS

(Smith) Gillis *et al* y un aislado de *Pseudomonas syringae* Van Hall. Los síntomas ocasionados por *Burkholderia andropogonis* (Smith) Gillis *et al* se manifestaron como manchas en las hojas de colores rojizas castañas y *Pseudomonas syringae* Van Hall, presentó síntomas en forma de manchas claras de forma elípticas con halos amarillos en la punta de las hojas bajas. Mediante la prueba de germinación se comprobó que las fitobacterias no inciden en la germinación de las semillas de maíz, pero si se observaron síntomas de la enfermedad en las hojas verdaderas y en las raíces.

Palabras clave: postulados de Koch, bioquímica, patogenicidad.

obtained. The symptoms caused by *Burkholderia andropogonis* (Smith) Gillis *et al* manifested as reddish-brown spots on the leaves and *Pseudomonas syringae* Van Hall presented symptoms in the form of clear elliptical spots with yellow halos at the tip of the lower leaves. Through the germination test, it was proven that phyto-bacteria do not affect the germination of corn seeds, but they do affect the growth of seedlings, affecting the true leaves and roots.

Keywords: Koch's postulates, biochemistry, pathogenicity.

En los últimos años el comercio del grano de maíz ha aumentado en Nicaragua, así como la producción de semilla, esto trae como consecuencia la propagación de enfermedades provocadas por hongos y bacterias, estas últimas se propagan de manera más rápida lo que facilita su permanencia por largos periodos en el suelo y la semilla (Aviles *et al.*, 2021). Aproximadamente el 90 % de las plantas cultivadas a nivel mundial son propagadas por semillas, es común que éstas no tengan las condiciones óptimas de calidad fitosanitaria para su uso y comercialización, debido a la presencia de patógenos como las bacterias que pueden desarrollarse sobre o dentro de ellas. Las semillas se consideran la fuente más importante para la perpetuación de las bacterias; además, su longevidad es mayor en las semillas que en el suelo o en residuos de cosecha, y su estrecha relación con la semilla favorece las infecciones primarias tempranas (Navarrete *et al.*, 2014).

Las principales fitobacterias que afectan los tallos de la planta de maíz y ocasionan pérdidas en el cultivo son: *Dickeya zea*, que se transmite por semillas; *Xanthomonas translucens*, que afecta las hojas, *Clavibacter* spp., que se trasmite por semillas y está clasificada como un patógeno cuarentenado por representar un peligro de ingreso al país (Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria [IPSA], 2024). También *Pseudomonas syringae* y *Burkholderia andropogonis* que son patógenos foliares que afectan principalmente durante la fase vegetativa y se encuentran en reservorios en el suelo (Pérez *et al.*, 2012; Ocampo, 2013; Navarrete *et al.*, 2014).

Para evitar que fitobacterias en semillas contaminen el suelo y afecten a la producción, se debe de cumplir con lo establecido en el Reglamento Técnico Centro Americano 65.05.53:10 (Ministerio de Economía *et al.*, 2010), que indica que el material de propagación no debe de superar el 2 % de la presencia de microorganismo para la certificación fitosanitaria, dada por el Organismo Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) del país, en el caso de Nicaragua, el Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA).

El objetivo de esta investigación fue identificar fitobacterias asociadas a semillas de maíz (*Zea mays* L.) y su efecto sobre la germinación, lo que contribuirá a evitar la propagación de enfermedades bacterianas en los centros de producción y reducir las pérdidas económicas para los productores de semillas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. La etapa de identificación de fitobacterias se desarrolló en el laboratorio de bacteriología, ubicado en el Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario y Calidad de Semilla (CNDFCS), del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA) en el km 12 ½ Carretera Sur, comarca San José de La Cañada 2 km al Noroeste en Managua, Nicaragua, situado en las coordenadas geográficas de 12°04'49" de latitud Norte y 86°20'05" de longitud Oeste; las pruebas de patogenicidad se realizaron en el invernadero de la Dirección de Ciencias Agrícolas de la Universidad Nacional Agraria (UNA) en las coordenadas 12°08'45" latitud Norte y 86°09'46" longitud Oeste.

Origen de las muestras. Se utilizaron 50 muestras de semillas de maíz, las que fueron proporcionadas y codificadas de acuerdo con el orden de ingreso por el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario y Calidad de Semillas (LNDFCS) del IPSA durante los meses de mayo a julio del 2023. Estas semillas fueron proveídas por fincas en proceso de certificación y distribuidas de la siguiente manera: 17 muestras provenientes de Managua, con códigos MG001 al MG017, seis de Chinandega con codificación de CH001 a CH006, 23 de León con codificación LE001 a LE023 y cuatro de Matagalpa con codificación MT001 a MT004.

Diseño metodológico. La investigación fue del tipo experimental de corte transversal. Se utilizó un kilogramo de semilla y a partir de la muestra total; se utilizaron 100 semillas para el montaje de cámaras húmedas y posteriormente se aislaron las bacterias en medios de cultivos diferenciales, para identificar características morfológicas particulares,

CIENCIA DE LAS PLANTAS

y cultivos específicos (crecimiento selectivo) a partir de exudados bacterianos usando un asa redonda bacteriológica.

Las pruebas de patogenicidad y germinación se realizaron en el invernadero de la Dirección de Ciencias Agrícolas de la Universidad Nacional Agraria, mediante un diseño completamente aleatorizado (DCA). Para cada especie de fitobacteria identificada se utilizaron 20 plantas y 100 µl de suspensiones bacterianas por planta, además se utilizó un testigo absoluto con el mismo número de observaciones, para un total de 60 plantas.

La prueba estándar de germinación se realizó basado en la metodología propuesta por la International Seed Testing Association (ISTA, 2016) utilizando 400 semillas por cada bacteria y el testigo absoluto (sin inoculación de fitobacteria), con el objetivo de obtener cuatro repeticiones de 100 semillas.

Aislamiento y purificación de fitobacterias a partir de semilla. Se empleó la metodología de aislamiento descrita por Sosa-Moss *et al.* (1997) que consiste en lavar con agua destilada la semilla para eliminar el tratamiento químico que se le aplica. Luego se agregó hipoclorito de sodio al 1 % durante 30 segundos y se procedió a lavar tres veces las muestras con agua destilada estéril con intervalos de un minuto entre lavado.

Las cámaras húmedas se realizaron utilizando platos Petri con un diámetro de 150 mm. Se depositó papel filtro en el fondo del plato Petri, posteriormente se adicionó agua destilada estéril, hasta obtener una humedad homogénea (Sosa-Moss *et al.*, 1997). Por cada muestra se utilizaron 100 semillas distribuidas en dos cámaras húmedas en las cuales se colocaron, con ayuda de una pinza estéril, 50 semillas por plato Petri (cámara húmeda). Las cámaras húmedas fueron incubadas por un periodo de 48 horas y a una temperatura entre 25 °C y 27 °C; finalizado el tiempo, se procedió a la observación de exudados bacterianos con el uso de un estereoscopio.

En las muestras que se observaron exudados bacterianos, se procedió al aislamiento y purificación de las bacterias, con ayuda de un asa redonda bacteriológica, se tomó una porción del exudado, y posteriormente se rayó en el medio de cultivo Agar Nutriente. Se incubaron los rayados bacterianos a 35 °C por 48 horas. Finalizada la incubación, se realizó la prueba de Gram con hidróxido de potasio (KOH) al 3 %, las bacterias que resultaron Gram negativas se transfirieron a medio de cultivo Agar Nutriente y se incubaron a 35 °C por 48 horas para continuar con el proceso de purificación.

Identificación de géneros de fitobacterias. Las colonias bacterianas purificadas se inocularon en medios de cultivo específicos, como: YDC (Levadura Dextrosa Carbonato, por su traducción al español), para observación de forma y

color de las colonias; oxidasa, para determinar citocromo-oxidasa, crecimiento a 40 °C para verificar la capacidad de desarrollo, fluorescencia, crecimiento aeróbico y anaeróbico, y crecimiento en medio agar *Xanthomonas* (XA). Esta metodología es la utilizada por el área de bacteriología del LNDFCS y las descritas por Schaad *et al.* (2001).

Pruebas fenotípicas para la identificación de especies de fitobacterias. Se aplicaron las pruebas bioquímicas descritas por Schaad *et al.* (2001) que consisten en: desdoblamiento de fuentes de carbono, di-hidrólisis de arginina, fluorescencia, licuefacción de la gelatina, crecimiento a 40 °C, tolerancia al NaCl (3 % y 5 %), crecimiento aeróbico y anaeróbico, oxidación-fermentación, oxidasa, reacciones bioquímicas en medios de cultivo King B (KB), *Xanthomonas agar* (XA), *Xanthomonas species* (SX), medio almidón (NAAL), caldo purpura de bromocresol (CPB). Para la inoculación de las pruebas bioquímicas se utilizó un asa bacteriológica y una asada por prueba líquida a utilizar, en el caso de medios sólidos se usó el método de rayado por estrías.

Prueba de patogenicidad (postulados de Koch). Cuando las fitobacterias estaban identificadas hasta especie, se prepararon suspensiones bacterianas con ayuda de la escala McFarland grado de turbidez 0.5 (uso comercial). Éstas se prepararon en tubos de ensayos con volumen de 10 ml de agua destilada estéril y con un asa redonda bacteriológica de tres milímetros se agregó el inoculo hasta obtener la turbidez deseada y una concentración de 1×10^8 UFC (unidades formadoras de colonias) aproximadamente. Se utilizaron aislados purificados con menos de 48 horas de crecimiento, para asegurar su virulencia (Chellemi *et al.*, 1994; McFarland 1907).

Se utilizaron 20 plantas sanas de maíz por cada fitobacteria inoculada, así como en el testigo absoluto (sin inoculación); estas fueron sembradas en un sustrato estéril para describir la sintomatología (Suryani *et al.*, 2012; Münch, 2003). A los 10 días después de la emergencia, se inocularon 250 µl de suspensión bacteriana en cada una de las plantas, específicamente el tallo, usando el método de punción con una jeringa hipodérmica. Se realizaron observaciones cada 24 horas hasta la aparición de síntomas en las plantas (Torres-González *et al.*, 2013). Al finalizar las observaciones (20 días después de la inoculación), se procedió a verificar mediante aislamiento y pruebas bioquímicas los patógenos identificados e inoculados.

Efecto de fitobacterias sobre la germinación. Se utilizaron 100 semillas de acuerdo con los procedimientos del laboratorio de bacteriología de los LNDFCS debido a que el cálculo de los porcentajes de síntomas observados en plántulas y porcentaje de semilla germinada se realizan con base a 100 semillas (Rueda-Puentes *et al.*, 2009).

CIENCIA DE LAS PLANTAS

Para inocular las semillas con las fitobacterias, primero se lavaron con hipoclorito de sodio al 1 % durante un minuto y se realizaron tres lavados de agua destilada estéril por 30 segundos cada lavado con el fin de eliminar restos de hipoclorito, posteriormente se secaron en papel toalla. Se preparó una suspensión bacteriana con agua destilada estéril a concentración de 1×10^8 ml (escala McFarland 0.5) y un volumen final de 100 ml. Las semillas fueron sumergidas en la suspensión bacteriana durante una hora (Beracochea, 2011; Suriani *et al.*, 2021; McFarland, 1907). Posteriormente se decantó el inóculo y se colocaron las semillas en cámaras húmedas para observar el efecto de las bacterias sobre la germinación; las cámaras se mantuvieron durante una semana a temperatura ambiente. Se utilizó un testigo absoluto que consistió en 120 semillas sin inoculación, únicamente se les aplicó agua destilada estéril (Beracochea, 2011; Suriani *et al.*, 2021).

VARIABLES EVALUADAS

Género y especie de fitobacterias. Se utilizaron medios de cultivos generales, selectivos y diferenciales y se complementó con pruebas fenotípicas.

Patogenicidad de fitobacterias. Se evaluó mediante los postulados de Koch donde se observaron los síntomas en las plantas, de tal manera que esto permitiera determinar la coincidencia con lo descrito en la literatura.

Efecto de las fitobacterias sobre la germinación. Se calculó el porcentaje de germinación sobre la base de 100 semillas por bacteria inoculada y el testigo absoluto, mediante el conteo del número de semillas emergidas diariamente y la presencia de la radícula, el porcentaje de germinación se determinó a los ocho días, además se observó el porcentaje de síntomas en las plántulas.

Análisis de datos. Se elaboró una base de datos en Microsoft Excel 365 empresarial. Las variables géneros y especies de fitobacterias, patogenicidad se analizaron con estadística descriptiva, mientras que el efecto de las fitobacterias sobre la germinación a través de un análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Género y especie de bacterias. De 50 muestras analizadas, 23 presentaron exudados bacterianos, las que posteriormente fueron purificados en Agar Nutritivo (AN), y sometidas a pruebas rápidas como: Gram, oxidasa y catalasa, resultando ser fitobacterias. Estas pruebas indicaron que 16 aislados bacterianos resultaron ser Gram negativas y oxidasa negativa (Cuadro 1).

No hubo reducción de nitratos, ni producción de indol, además se obtuvieron resultados positivos en el medio Oxidación / fermentación (O/F) para reacciones aerobias facultativas, mostrando que todos los aislados crecen en condiciones aeróbica y a partir de estos resultados, se descartó

Cuadro 1. Pruebas bioquímicas para la identificación de especies de fitobacterias en muestras de semillas de maíz según origen

| Códigos de muestras | Origen | Pruebas bioquímicas | | | | | | | | | | | Fluorescencia | Bacterias identificadas | |
|---------------------|------------|---------------------|----------|----------|-----------|----------|---------|--------|----------|---------|----------|---------|------------------|-------------------------|----------------------------------|
| | | KOH 3 % | Catalasa | Sacarosa | Threalosa | NaCl 3 % | Lactosa | H. Gel | Sorbitol | Oxidasa | Arginina | C 40 °C | | | O/F |
| MG004 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG012 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| CH004 | Chinandega | + | + | + | - | - | - | + | + | - | - | - | ±OF ^A | + | <i>Pseudomonas syringae</i> |
| LE008 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG008 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG016 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE005 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG011 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG002 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| MG010 | Managua | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE003 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE009 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE020 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE007 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE011 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |
| LE021 | León | + | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | ±OF ^A | - | <i>Burkholderia andropogonis</i> |

- reacciones negativas; + Reacciones positivas; ±OF^A para reacciones positivas en medio O/F en crecimiento aeróbico; NaCl3 %: crecimiento en cloruro de sodio al 3 %; Gel: licuefacción de la gelatina; C 40 oC: crecimiento a 40 oC; O/F: Oxidación / fermentación.

CIENCIA DE LAS PLANTAS

la presencia de *Dickeya zea*, debido a que crece en condiciones anaeróbicas. La prueba de Lugol en medio nutritivo enriquecido con almidón (NAAL), no mostró zona de inhibición, por tanto, no hay utilización del almidón, descartando la presencia de *Xanthomonas* spp en los aislados bacterianos.

Las colonias en el medio Yeast Dextrose Carbonate, por sus siglas en inglés (YDC) presentaron colores blancos-opacos, características similares a las descritas por Araque *et al.* (2008) y se determinó que todas las muestras, a excepción de la CH004 proveniente de Chinandega, no corresponde al género *Burkholderia* spp. Se determinó mediante pruebas bioquímicas que la bacteria identificada con el código CH004 presentó pigmentos fluorescentes no difusible, características similares a la obtenida por Sánchez *et al.* (2017), así como hidrólisis de la gelatina positivo, desdoblamiento de las fuentes de carbono: sacarosa y sorbitol, di-hidrólisis de la arginina negativo, oxidasa negativa y de acuerdo con Schaad *et al.* (2001) y Fernández (2015), identifican de manera fenotípica a esta fitobacteria como *Pseudomonas syringae* (Cuadro 1).

El género *Burkholderia* spp resultó con fluorescencia negativa, para las pruebas de desdoblamiento de fuentes de carbono sorbitol, lactosa, threalosa y licuefacción de la gelatina, resultados similares a los obtenidos por Quesada-González y García-Santamaría (2014) catalasa positiva, oxidasa negativa y sin crecimiento a 40 °C (Cuadro1). El resultado corresponde a la fitobacterias *Burkholderia andropogonis* según García y Rodicio (2007) y Fornos, *et al.* (2022).



Figura 1. Sintomatología en plantas de maíz inoculadas con *Burkholderia andropogonis*. A: Rayado en hojas bajas, B: manchas rojizas en el centro de la hoja, C: rayado longitudinal en las hojas.

Patogenicidad de fitobacterias. En la prueba de patogenicidad con la bacteria *Burkholderia andropogonis* se observaron síntomas iniciales en forma de rayado sobre las hojas bajas durante los primeros cinco días después de inoculado, a los nueve días se observó cambio de color hasta llegar a manchas rojizas que fueron más notable al llegar a los 13 días, en otras plantas inoculadas hubo pérdida de turgencia en las hojas y disminución en el crecimiento (Figura 1). En el caso de la prueba con la bacteria *Pseudomonas syringae*, se observó a los ocho días posteriores a la inoculación los primeros síntomas de clorosis en las hojas y en la zona de inoculación, a los 10 días se observaron las primeras manchas blancas en las hojas y a los 13 días se observó pérdida de turgencia acompañada de manchas grises a tonos blancos de forma elíptica en las hojas y un halo amarillento (Figura 2).

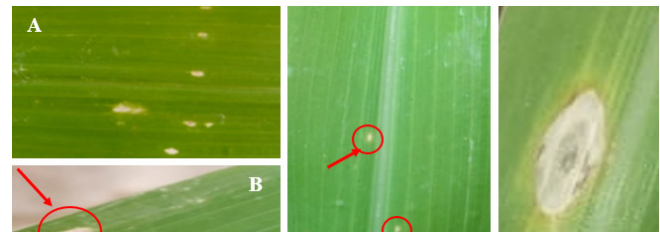


Figura 2. Sintomatología en hojas de maíz inoculadas con *Pseudomonas syringae*. A. manchas de color blanco, B. manchas blancas observadas en partes laterales de la hoja, C. manchas marrones iniciales en hojas basales, D. síntoma avanzado con halo

Los principales hospederos de *Burkholderia andropogonis* son las gramíneas y entre ellas el maíz, dañando las hojas y el crecimiento de las plantas jóvenes (etapa vegetativa). Se presenta como mancha con forma rectangular color marrón claro, frecuentemente rodeada de halo clorótico. Estas lesiones se extienden internervalmente hasta alcanzar unos 5 mm de ancho y entre 10 mm y 15 mm de largo, las que, en ocasiones, pueden coalescer (unirse). El tejido necrótico se torna claro y translúcido, con líneas evidentes a trasluz (Plazas *et al.*, 2019; De Rossi *et al.*, 2016).

Pérez *et al.* (2012) describen los síntomas producidos por *Burkholderia andropogonis* en las hojas como coloraciones rojas castañas, que pueden llegar a tener tonalidades amarillas en los bordes y que en su estado vegetativo las plantas pueden llegar a detener el crecimiento, estos síntomas coinciden con los observados en la prueba de patogenicidad en esta investigación.

Sil Palacios (2015), menciona que las manchas ocasionadas por *Pseudomonas syringae* son de color blanco o marrón, con un halo amarillento alrededor de ellas de forma circular o elíptica; en la prueba de patogenicidad en este estudio, se observa ésta misma característica.

Giménez *et al.* (2017) mencionan a *Pseudomonas syringae* como patógeno de la planta de maíz, ocasionando síntomas en la parte foliar, también puede permanecer de

CIENCIA DE LAS PLANTAS

manera inactiva en todo el ciclo del cultivo actuando como saprofito y endófito, lo que dificulta su detección, además de ser oportunista y en condiciones óptimas para su desarrollo, se vuelve una bacteria epífita y al ser transmitido por semillas, es común detectarlo en las primeras etapas fenológica.

Efecto de fitobacterias sobre la germinación. El porcentaje de germinación de las semillas inoculadas con *Burkholderia andropogonis*, *Pseudomonas syringae* y el testigo absoluto no difieren estadísticamente ($p=0.1654$), lo que indica que las semillas inoculadas con las bacterias no afectan la germinación, sin embargo, se presentan porcentajes mayores al 40 % de daños en raíces y hojas, que podrían afectar el crecimiento de las plantas (Cuadro 2).

Los síntomas observados en plántulas inoculadas con *Pseudomonas syringae* manifestaron manchas en hojas de color blanco o marrón, con un halo amarillento alrededor de ellas de forma circular o elíptica, también se observó necrosis en raíces, mientras que las plántulas inoculadas con *Burkholderia andropogonis* manifestaron manchas y necrosis en la primera hoja verdadera (fase fenológica V₁), con tonalidades rojizas-castañas; además se observó tejido necrosado en raíces. Las plántulas no inoculadas (testigo absoluto) no manifestaron síntomas de enfermedad (Figura 3).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación y síntomas observados según inoculación con fitobacterias

| Bacterias inoculadas | PSG | SOEP (%) |
|----------------------------------|-----|----------|
| Testigo | 91 | 0 |
| <i>Burkholderia andropogonis</i> | 87 | 52 |
| <i>Pseudomonas syringae</i> | 88 | 43 |

PSG: Porcentaje de semilla germinada, SOEP: Síntomas de daño observados en plántulas.

Stefanova *et al.* (2009) y Ocampo (2013) mencionan que *Pseudomonas syringae* y *Burkholderia andropogonis* se pueden transmitir por escorrentías, salpicaduras y la más común por semilla; los síntomas se pueden observar en cualquier momento de la etapa vegetativa pero no afecta su poder germinativo, por lo tanto, los síntomas observados en las plántulas fueron ocasionadas por las fitobacterias, los que se presentan posterior a la emergencia, ocasionando daños únicamente en el crecimiento de las plantas.

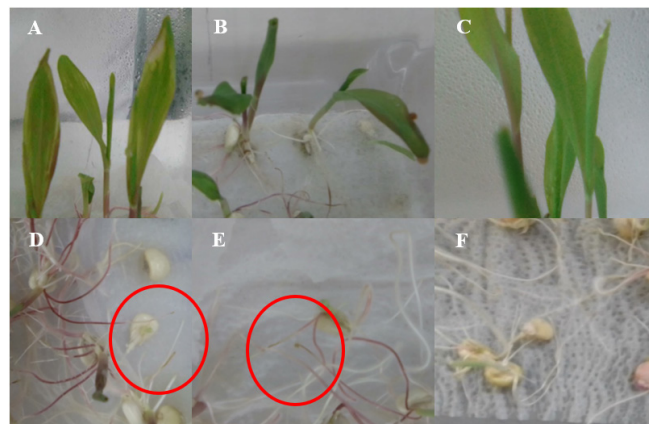


Figura 3. Síntomas observados en plántulas de maíz. A: semillas inoculadas con *Pseudomonas syringae*, B: semillas inoculadas con *Burkholderia andropogonis*, C: semillas sin inoculación, D: necrosis de color marrón en raíces producida por *Pseudomonas syringae*, E: necrosis de color marrón en raíces producida por *Burkholderia andropogonis*, F: raíces sin síntomas.

Navarrete- Maya (2013) menciona que las bacterias pueden llegar a la semilla antes de la cosecha y pueden sobrevivir durante meses. Al sembrarse y en presencia de las condiciones favorables como humedad y temperatura, esta infectará la planta mas no afectará el poder germinativo.

Barret *et al.* (2016) indican que existe un amplio número de microorganismos que afectan a las semillas, y señala que, para calcular el nivel de afectación de estos complejos bacterianos, se requiere de la observación de síntomas en plántulas emergidas. También explica que, el manejo de estos patógenos en la semilla es complejo porque se hospedan en el embrión, y aunque se trate la semilla con algún producto preventivo, los efectos causados por las bacterias aparecerán en etapas vegetativas iniciales o en las etapas reproductivas.

CONCLUSIONES

Se identificaron las fitobacterias *Pseudomonas syringae* y *Burkholderia andropogonis* y se determinó que no inciden en la germinación de las semillas, sin embargo, en la fase vegetativa se observan síntomas asociados a las afectaciones producidas por ambas fitobacterias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araque, Y., Vitelli-Flores, J., Ramírez, A., Alonso, G. y Rodríguez Lemoine, V. (2008). Identificación bioquímica y PCR especie-específica de cepas de *Burkholderia cepacia* de origen hospitalario y ambiental en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 28(2), 82-88. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562008000200003&lng=es&tlng=es
- Aviles Peralta, Y. A., Rodríguez Ortega, E. y Betancourth Lagos, G. (2021). Estudio econométrico sobre el rendimiento productivo de granos básicos en Nicaragua (arroz, maíz y frijol), 2007-2017. *Revista de Investigación SIGMA*, 8(2), 31-41. <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/Sigma/article/view/2558>

CIENCIA DE LAS PLANTAS

- Barret, M., Guimbaud, J. F., Darrasse, A., & Jacques, M. A. (2016). Plant microbiota affects seed transmission of phytopathogenic microorganisms. *Molecular plant pathology*, 17(6), 791. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6638484/pdf/MPP-17-791.pdf>
- Beracochea, M. (2011). *Respuesta de variedades comerciales de maíz (Zea mays L.) a la inoculación con bacterias endófitas-diazótrofas nativas* [Tesis de licenciatura, Universidad de la República de Uruguay]. Repositorio Institucional. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1666/1/uy24-15387.pdf>
- Chellemi, D. O., Dankers, H. A., Olson, S. M., Hodge, N. C., & Scott, J. W. (1994). Evaluating Bacterial Wilt-resistant Tomato Genotypes Using a Regional Approach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(2), 325-329. <https://doi.org/10.21273/JASHS.119.2.325>
- De Rossi, R., Guerra, F., Plaza, M. C., Vuletic, E., Brücher, E., Guerra, G. y Magnone, G. (2016). *Enfermedades del maíz en las últimas cinco campañas*. https://www.researchgate.net/profile/Roberto-De-Rossi-2/publication/310794438_ENFERMEDADES_DEL_MAIZ_EN_LAS_ULTIMAS_CINCO_CAMPANAS/links/5836f96b08ae3d91723bb044/ENFERMEDADES-DEL-MAIZ-EN-LAS-ULTIMAS-CINCO-CAMPANAS.pdf
- Fernández García, E. M. (2015). Variabilidad genética e fenotípica de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, agente causal del cancro de la actinídea, en la región de Entre Douro e Minho. *Agrotec: revista tecnico-científica agrícola*. <http://www.agrotec.pt/noticias/variabilidade-genetica-e-fenotipica-do-agente-causal-do-cancro-da-actinidea-na-regiao-do-entre-douro-e-minho>
- Fornos Reyes, D. V., Herrera Peralta, N. J., Sanchez Gómez, I. E. y Rodriguez Zamora, M. J. (2022). Identificación fenotípica y molecular de *Burkholderia* spp en panículas de arroz (*Oryza sativa* L.). *La Calera*, 22(39), 134-139. <https://doi.org/10.5377/calera.v22i39.15205>
- García A, J. y Rodicio, M. R. (2007). Caída de botón floral en kiwi causada por *Pseudomonas viridiflava* y *Pseudomonas syringae* en el principado de Asturias. *Boletín de sanidad vegetal y plagas*, (33), 517-525. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/bsvp_33_04_517_525.pdf
- Giménez Pecci, M. P., Maurino, M. F., Druetta, M., Torrico, A. K., Oleszczu, D., Guerra, F. A., Guerra, G. D, De Rossi, R. L., Plaza, M. C., Brücher, E., Barontini, J., Ferrer, M. y Laguna, I. G. (2017). Enfermedades del maíz de siembra tardía causadas por virus, mollicutes y bacterias. En L. Borrás y S. Uhart (Eds), *El mismo maíz un nuevo desafío* (pp. 128-146). Dow Agrosociences. <http://www.maizar.org.ar/documentos/maiztardio/primerocompendio/compendio1.pdf>
- Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria. (2024). *Lista de plagas reglamentadas, Nicaragua 2024*. https://pflanzengesundheits-julius-kuehn.de/dokumente/upload/ni_2024-v5_qso_es.pdf
- International Seed Testing Association. (2016). *Reglas internacionales para el análisis de las semillas*. https://vri.umayor.cl/images/ISTA_Rules_2016_Spanish.pdf
- McFarland J, M. D. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *The Journal of the American Medical Association*, 49(14), 1176-1178. <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/444820>
- Ministerio de Economía, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, Secretaría de Industria y Comercio, Ministerio de Economía Industria y Comercio. (2010). *Reglamento técnico centroamericano RTCA 65.05.53:10: Insumos agropecuarios. Requisitos para la producción y comercialización de semilla certificada de granos básicos y soya*. <https://acortar.link/ydDYxJ>
- Münch, R. (2003). Review: on the shoulders of giants Robert Koch. *Microbes and Infection*, 5(1), 69–74. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)00053-9](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)00053-9)
- Navarrete- Maya, R., Aranda -Ocampo, S., Rodríguez -Mejía, M. de L., Moya -Hernández, S. L. y González -Ochoa, M. G. (2014). Bacterias fitopatógenas en semillas: su detección y regulación. *Revista mexicana de fitopatología*, 32(2), 75-88. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61243856001.pdf>
- Navarrete-Maya, R. (2013). Generalidades de la transmisión de bacterias fitopatógenas por semillas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(Suplemento 1). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20153180140>
- Ocampo, S. A. (2013). Enfermedades bacterianas asociadas a semillas de cereales. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(1), 71-72. <https://rmf.smf.org.mx/suplemento/docs/suplemento.pdf>
- Pérez, T. R., Carmona, D. J. C., Cebada, R. J. A. y Munive, H. J. A. (2012). Patogenicidad bacteriana en maíz (*Zea mays*). *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 1(1), 1-15. <https://www.ciba.org.mx/index.php/CIBA/article/view/13/11>
- Plazas, M. C., Vilaró, M. L., Guerra, F. A., De Rossi, R. L., Vuletic, E., Conci, L. R. y Guerra, G. D. (2019). Bacteriosis foliares del cultivo de maíz en Argentina. *Investigación Ciencia y Universidad*, 3(4), 90. http://repositorio.umaza.edu.ar/bitstream/handle/00261/1596/ICU%20V3N4%202019_resumen%20p90.pdf?sequence=1&isAllowed=y

CIENCIA DE LAS PLANTAS

- Quesada-González, A. y García-Santamaría, F. (2014). *Burkholderia glumae* en el cultivo de arroz en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 371-381. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/15452/14942>
- Rueda-Puente, E. O., Villegas-Espinoza, J. A., Gerlach-Barrera, L. E., Tarazón-Herrera, M. A., Murillo-Amador, B., García-Hernández, J. L., Troyo-Diéguez, E. y Preciado-Rangel, P. (2009). Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 345-354. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v27n4/v27n4a9.pdf>
- Sánchez, M. C., Clemente, G. E., Yommi, A. K., Alippi, A. M. y AdelC, R. (2017). *Detección y caracterización de Pseudomonas patógenas de kiwi en la provincia de Buenos Aires*. <https://host170.sedici.unlp.edu.ar/server/api/core/bitstreams/2594236c-4ddb-4c39-b1cc-ea3899fc88b6/content>
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria*. In *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria*. American Phytopathological Society (APS Press).
- Sil Palacios, G. (2015). *Caracterización de Pseudomonas sp. asociadas a diferentes variedades de maíz* [Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio Institucional. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/594409fe-9cd3-4065-af53-8a1c633e0280/content>
- Sosa-Moss, C., Perdomo R, F., Brathwaite, C. W. y Salazar C, J. J. (1997). *Manual de técnicas para el diagnóstico de las enfermedades de las plantas. Diagnóstico fitosanitario II*. IICA. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/10352/BVE20067884e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Stefanova, M., Sala, P. I. A., Damasceno, J. P. y Marques, A. S. (2009). Optimización de la recuperación de *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* por la modificación de dos medios de cultivo. *Tropical Plant Pathology*, 34(3), 178-181. <https://www.scielo.br/j/tpp/a/GpPw8QCgbRLRF9BB7BYCqJG/?format=pdf&lang=es>
- Suriani, Patandjengi, B., Junaid, M., & Muis, A. (2021). The presence of bacterial stalk rot disease on corn in Indonesia: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 911, 1-11, <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/911/1/012058/pdf>
- Suryani, L., Aini, L. Q., Sugiharto, A. N., & Abadi, A. L. (2012). Characterization of bacterial pathogen causing wilt and leaf blight on corn (*Zea mays*) by physiological, biochemical, and molecular methods. *Agrivita, Journal of Agricultural Science*, 34(3), 286-295. <https://agrivita.ub.ac.id/index.php/agrivita/article/view/169/572>
- Torres-González, C., Casas, M. y Díaz Ortiz, J. E. (2013). Manejo de *Ralstonia solanacearum* raza 2 a través de productos químicos y biológicos. *Itecknet*, 10(2), 217-223. <http://www.scielo.org.co/pdf/itec/v10n2/v10n2a09.pdf>