

RAYADO FOLIAR DEL MAÍZ CAUSADO POR *Acidovorax avenae*

subsp. *avenae* EN VERACRUZ, MÉXICO

Adriana Rosalía Gijón-Hernández, Daniel Téliz-Ortiz, Carlos De León García-De Alba, Hilda Victoria Silva-Rojas, Rodolfo De la Torre-Almaraz y Dimas Mejía-Sánchez

RESUMEN

Siembras comerciales de maíz Asgrow 7573 (AS 7573) en los municipios de Tlaxicoyan, Paso de Ovejas y Cosoleacaque, Veracruz, México, en 2006-2007 presentaron una enfermedad caracterizada por manchas pequeñas en hojas, irregulares, de aspecto húmedo, que se extendieron a lo largo de la lámina foliar, formando rayas translúcidas, que se tornaban de color blanco-pajizo. Frecuentemente, el tejido presentó desgarramiento y aspecto atizonado. En ocasiones se observó una pudrición en las espigas envueltas por hojas enfermas. En algunas de las

plantas con síntomas se hicieron cortes transversales de los tallos y se observó necrosis vascular. En los medios de cultivo BK, AN y CPG se aislaron en todos los casos colonias bacterianas color blanco, redondas y convexas. La patogenicidad se confirmó en plántulas sanas de maíz. Las cepas bacterianas se identificaron como *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* con base en pruebas fisiológicas y bioquímicas. La especie *Acidovorax avenae* fue confirmada mediante PCR con el par de iniciadores RST63 y RST64 que amplificaron un fragmento de 209 pb.

Introducción

En México, una enfermedad no descrita anteriormente en maíz se presentó durante los ciclos 2003-2004 en tres municipios maiceros importantes en el estado de Veracruz: Paso de Ovejas, Cosoleacaque y Tlaxicoyan. Esta enfermedad ocasionó pérdidas hasta del 70%, según comentarios de los productores. Los patógenos asociados a este síndrome fueron *Burkholderia gladioli*, *Pantoea ananatis* y el fitoplasma del enanismo arbustivo del maíz (MBS). *B. gladioli* estaba asociada con síntomas de manchas acuasas, blanco-amarillentas en

hojas, que al coalescer formaban franjas longitudinales y algunas de las hojas se tornaban de color rojizo. En la corona, se observó una pudrición semiacuosa y necrosis. La mazorca mostraba necrosis y detención del desarrollo (Gijón *et al.*, 2008). *P. ananatis* se asoció a síntomas de manchas irregulares, verde oscuro de aspecto húmedo, con un halo amarillo en hojas. En síntomas avanzados, las manchas adquirieron un color blanco-grisáceo y las hojas tomaron una coloración rojiza (Gijón, 2009). El fitoplasma MBS se asoció con síntomas de amarillamiento, enrojecimiento y secado del follaje, reducción

en el crecimiento de la planta y falta de proliferación de mazorcas (Alcántara *et al.*, 2009).

Como parte del síndrome, se observaron síntomas diferentes a los antes descritos: plantas amarillentas, hojas con rayado translúcido a lo largo de la lámina foliar que posteriormente tomó un color café claro, se desgarraban terminando con aspecto necrosado. Se observó necrosis en los haces vasculares en cortes transversales del tallo. En la espiga en ocasiones se detectó pudrición. Estos síntomas, al igual que los causados por *B. gladioli*, *P. ananatis* y el fitoplasma MBS, inicialmente fueron identificados en el

cultivar comercial (cv) AS 7573 en los tres municipios mencionados.

A partir de la alarma epidémica con que se presentó este síndrome y las pérdidas de cosecha registradas, dada la importancia del maíz en el estado de Veracruz y debido a que la etiología del rayado foliar permanecía indefinida, el objetivo del presente estudio fue identificar el agente causal de la enfermedad.

Materiales y Metodos

Recolecta de material vegetal

Se recorrieron las áreas maiceras de los municipios Cosoleacaque, Tlaxicoyan y

PALABRAS CLAVE / Bacterias / Patogenicidad / PCR / Pruebas Bioquímicas / *Zea mays* /

Recibido: 22/04/2015. Modificado: 24/05/2016. Aceptado: 25/05/2016.

Adriana Rosalía Gijón Hernández. Ingeniera Agrónoma Parasitóloga y M.C. en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México. Doctora en Fitopatología, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Investigadora, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, (CENID-COMEF), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pe-

cuarias (INIFAP), México. Dirección: CENID-COMEF-INIFAP, Av. Progreso N° 5, Barrio de Santa Catarina, Del. Coyoacán. CP. 04010, Ciudad de México. e-mail: gijon.adriana@inifap.gob.mx

Daniel Téliz Ortiz. Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología, ENA, México. M.Sc. y Ph.D. en Fitopatología, Universidad de California en Davis, EEUU. Profesor Investigador, COLPOS, México. E-mail: dteliz@colpos.mx

Carlos De León García De Alba. Ingeniera Agrónoma, Escuela Nacional de Agricultura (ENA), México. M.Sc. y Ph.D. en Fitopatología, University of Wisconsin-Madison, EEUU. Profesor Investigador, COLPOS, México. e-mail: cdeleon@colpos.mx

Hilda Victoria Silva Rojas. Ingeniera Agrónoma, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. M.Sc. en Fitopatología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. Doctora en Ciencias en Fitopatología, COLPOS,

México. Profesora Investigadora, COLPOS, México.

Rodolfo De La Torre Almaraz. Biólogo, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). M.C. y Doctor en Fitopatología, COLPOS, México. Profesor, UNAM, México. e-mail: dardolfo@servidor.unam.mx

Dimas Mejía Sánchez. Licenciado en Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana, México. M.C. en Protección Vegetal, UACH, México. Profesor, UACH, México. e-mail: dimasms@gmail.com

MAIZE STRIPED LEAF CAUSED BY *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* IN VERACRUZ, MEXICO

Adriana Rosalía Gijón-Hernández, Daniel Téliz-Ortiz, Carlos De León García-De Alba, Hilda Victoria Silva-Rojas, Rodolfo De la Torre-Almaraz and Dimas Mejía-Sánchez

SUMMARY

An epidemic disease developed in commercial plantings of maize cv Asgrow 7573 in 2006-2007 in Tlalixcoyan, Paso de Ovejas and Cosoloacaque counties in the State of Veracruz, Mexico. Symptoms consisted in small irregular watery spots on the leaves, which coalesced into translucent strips, initially white-brown in color; later the tissue in the strips teared off and became of a papery appearance. Ears wrapped by the upper diseased leaves sometimes became rotten. Vascular ne-

erosis was observed in cross sections of stems with symptoms plants. In all cases, white, round and convex bacterial colonies were isolated in BK, AN and CPG media. Pathogenicity was confirmed in healthy maize seedlings. Bacterial isolates were identified as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* based on physiological and biochemical tests. Genus *Acidovorax* was confirmed by PCR using the RST63 and RST64 primers, which amplified a fragment of 209 bp.

MANCHA FOLIAR DO MILHO CAUSADO POR *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* EM VERACRUZ, MÉXICO

Adriana Rosalía Gijón-Hernández, Daniel Téliz-Ortiz, Carlos De León García-De Alba, Hilda Victoria Silva-Rojas, Rodolfo De la Torre-Almaraz e Dimas Mejía-Sánchez

RESUMO

Plantações comerciais de milho Asgrow 7573 (AS 7573) nos municípios de Tlalixcoyan, Paso de Ovejas e Cosoloacaque, Veracruz, México, em 2006-2007 apresentaram uma enfermidade caracterizada por manchas pequenas em folhas, irregulares, de aspecto úmido, que se estenderam ao longo da lâmina foliar, formando linhas translúcidas que se tornavam da cor branca-palha. Frequentemente, o tecido apresentou rasgos e aspecto deteriorado. Em ocasiões se observou um apodrecimento nas espigas envolvidas por folhas doentes. Em algumas das plantas sintomáticas foram realizados cortes

transversais dos caules e se observou necroses vasculares. Nos meios de cultivo BK, AN e CPG se isolaram em todos os casos colônias bacterianas, as quais se caracterizaram por apresentar cor branca, redondas e convexas. A patogenicidade se confirmou em plântulas sadias de milho. As cepas bacterianas se identificaram como *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* com base em provas fisiológicas e bioquímicas. A espécie *Acidovorax avenae* foi confirmada mediante PCR com o par de iniciadores RST63 e RST64 que amplificaram um fragmento de 209 pb.

Paso de Ovejas, Veracruz, México. En cada municipio se muestrearon 20 parcelas y se registró la ubicación geográfica de aquellas con presencia del síndrome, para lo cual se utilizó un GPS38 Personal Navigator (Garmin). Las muestras en cada parcela se recolectaron en diferentes ciclos de cultivo durante 2006 y 2007, en siembras del cv de maíz elotero AS 7573, el único que se siembra en la región de estudio.

Las muestras consistieron en hojas con rayado acuoso, espiga con pudrición y tallo con necrosis vascular. En cada municipio se tomaron 60 muestras.

Aislamiento e identificación del patógeno

El material con síntomas se analizó en el laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. Los materiales colectados fueron seccionados y desinfectados con

hipoclorito de sodio al 1% durante 1min y se lavó tres veces por 30seg con agua destilada estéril. Se realizaron cortes que se colocaron en tubos de ensayo con 10ml de agua estéril y se dejaron reposar durante 20min. Parte de la suspensión bacteriana obtenida, se sembró por estría cruzada en los medios casaaminoácidos, peptona glucosa (CPG), B de King (BK) y agar nutritivo (AN). Los cultivos fueron incubados a 30°C por 72h. Las colonias bacterianas individuales se purificaron y almacenaron a -80°C en glicerol 15%.

Los aislamientos se caracterizaron mediante la pruebas Gram (Gregersen, 1978), KOH al 3% (Suslow *et al.*, 1982), catalasa, oxidasa (Weller *et al.*, 1975; Trujillo y Hernández, 1992), hidrólisis del almidón, licuefacción de la gelatina, hidrolasa de arginina, producción de H₂S y crecimiento en D-xilosa, fructuosa, D-manitol, sorbitol y sacarosa (Schaad *et al.*, 2001).

Patogenicidad de los aislamientos

Se seleccionaron al azar 10 aislamientos bacterianos de morfología constante para probar su patogenicidad. Como hospedante se usaron 30 plantas sanas de maíz del cv AS 7573 de 45 días de edad.

El inóculo se obtuvo de un cultivo de la bacteria en BK a 30°C durante 48h, que fue resuspendido en 100ml de buffer de fosfatos PBS (137mM NaCl; 2,7mM KCl; 0,01M Na₂HPO₄; 1,8mM KH₂PO₄ y pH 7,4). Las hojas se hirieron superficialmente con una aguja 29G y se asperjaron con una suspensión bacteriana de 1×10⁷ UFC/ml ajustado en un espectrofotómetro (Jenway 6405 UV/vis). Las plantas se cubrieron con bolsas de plástico y se mantuvieron en un invernadero (28-30°C y 80% HR con luz natural) por una semana posteriormente, se retiraron las bolsas de plástico. Los testigos fueron inoculados con buffer de fosfatos y se mantuvieron bajo las

mismas condiciones. El desarrollo de los síntomas se observó durante 60 días y se realizaron reaislamientos a partir de los tejidos infectados en medio BK para cumplir con los postulados de Koch.

Reacción de hipersensibilidad en tabaco

Se infiltró una suspensión bacteriana 1×10⁷ UFC/ml en los espacios intercelulares de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum* var. *xanthi*) a través de la nervadura central. Las plantas tratadas se mantuvieron a 30°C durante 24h. Las hojas de tabaco testigo fueron infiltradas con agua estéril.

Caracterización molecular

Se extrajo ADN genómico de cuatro cepas bacterianas (ACITLALIX, ACICOSO, ACIPASO 1 y ACIPASO 2) mediante el método AP (Sambrook y Rusell, 2001) y se utilizó como control positivo una cepa de *Acidovorax avenae* proporcio-

nada por el Laboratorio de Bacteriología de la Universidad Autónoma Chapingo. El ADN fue resuspendido en 25µl de agua libre de nucleasas.

PCR específico para la especie

La identificación fue confirmada usando los iniciadores RST63 (5'TCCGGCGGCGCGCTCA CCGTGGTGCTG3') y RST64 (5'AGCGCGGCGGCGT AGGCGCG CGAG3') específicos para *Acidovorax avenae* (Schaad *et al.*, 2001). Para determinar la región en la que se anclaron los iniciadores, se realizó una búsqueda con la secuencia del genoma completo de *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (núm. accesión CP0025 21). Se anclaron en la posición 3,768,776 a 3,768,984, amplificando una región de 209 pb que corresponde a la secuencia parcial de la proteína motif: TFAM:TIGR00786. La proteína corresponde a PFAM: TRAP C4-dicarboxylate transport system permease DctM subunit, como fuera determinado en el presente trabajo.

La amplificación del ADN se efectuó en un volumen final de 25µl conteniendo 0,2µM de cada iniciador; 200µM dNTP's (Invitrogen®); 1X buffer para PCR; 1,5mM MgCl₂ (Invitrogen®); 2U de Taq polimerasa (Invitrogen®) y 10ng de ADN molde. El proceso de amplificación consistió en: desnaturalización inicial de un ciclo de 94°C durante 3min, seguido de 30 ciclos con 94°C durante 1min, 55°C por 30s y 72°C por 2min, con una extensión final de 72°C durante 7min. Se empleó un marcador molecular de 100 pb (Invitrogen®). Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa 1% a 80 V por 90min en amortiguador TBE. EL gel se tiñó con bromuro de etidio (SIGMA®).

Secuenciación y alineamiento

Se realizó la secuenciación del ADN de tres cepas (ACITLALIX, ACICOSO y ACIPASO1) en un equipo Genetic Analyzer 3100 (Applied Biosystem). Las secuencias fueron alineadas y la homología se

determinó en el servidor del National Center for Biological Information (NCBI, 2016).

Resultados y Discusion

Material vegetal

El rayado foliar del maíz se caracterizó por manchas acuosas, inicialmente amorfas, que coalescieron en rayas de 2mm de ancho, color blanco pajizo a lo largo de la hoja (Figura 1). Esto es diferente al bandeado foliar causado por *B. gladioli*, el cual es de color rojizo y de 8mm de ancho (Gijón *et al.*, 2008). En la espiga, ocasionalmente, se observó una pudrición, debido a que las hojas superiores afectadas la envolvían (De León, 1984; CIMMYT, 2004). En 10 plantas sintomáticas se hicieron cortes transversales y se observó necrosis vascular.

Aislamiento e identificación del patógeno

De las 180 muestras recolectadas se obtuvieron 100 aislamientos bacterianos en BK, AN y CPG, de morfología constante y única, de los cuales se seleccionaron 10 para tipificarlos. Las colonias se caracterizaron como cremosas, redondas y convexas (Schaad *et al.*, 2001).

Las cepas bacterianas seleccionadas fueron Gram-negativas y aeróbicas. Todas (Tabla I) mostraron respuesta positiva a catalasa, oxidasa, hidrólisis del almidón, licuefacción de la gelatina, la producción de H₂S y reducción de nitratos (Weller *et al.*, 1975; Schaad *et al.*, 2001). En BK no produjeron fluorescencia y se observó una



Figura 1. Hojas de maíz con síntomas de rayado bacteriano ocasionado por *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*.

TABLA I
CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGICA DE AISLAMIENTOS DE *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* DE MAÍZ cv AS 7573 CON SÍNTOMAS DE RAYADO FOLIAR, PROCEDENTES DE VERACRUZ, MÉXICO (2006-2007)

Características	Cepas aisladas de maíz	Reportada ^a
Hipersensibilidad en tabaco	+	+
Reducción de nitrato	+	+
Producción de H ₂ S	+	+
Hidrólisis de almidón	+	+
Fluorescencia en BK	-	-
Licuefacción de gelatina	+	+
Hidrolisis de arginina	-	-
Utilización de fuentes de carbono:		
Sorbitol	+	+
Manitol	+	+
Xilosa	+	+
Sacarosa	-	-
Maltosa	-	NR
Oxidasa	+	+
Catalasa	+	+

+: reacción positiva, -: reacción negativa, NR: no reportado.
^a Según Schaad *et al.* (2001).

respuesta negativa a hidrolasa de arginina. Las 10 cepas utilizaron D-xilosa, D-manitol, sorbitol, pero no sacarosa, ni maltosa (Schaad *et al.*, 2001). Con base en la morfología, fisiología y características bioquímicas, los 10 aislamientos fueron identificados como *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Sin. *Pseudomonas avenae* subsp. *avenae*) (Willems *et al.*, 1992; Schaad *et al.*, 2001). La enfermedad se descubrió por primera vez en caña de azúcar en Hawái, EEUU y en Queensland, Australia, en la década de 1920 (Martin y Wismer, 1961).

Patogenicidad de los aislamientos

La patogenicidad de *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*

quedó demostrada con las pruebas de patogenicidad en plantas de maíz cv AS 7573. Todas las plantas presentaron síntomas a los 15 días después de la inoculación (DDI). Las hojas de las plantas inoculadas presentaron manchas acuosas color verde olivo (Figura 2a). A los 30 DDI, las manchas coalescieron y se extendieron a lo largo de la hoja formando un rayado translúcido (Figura 2b). A los 40 DDI el rayado bacteriano se tornó de color blanco-pajizo (Figura 2c) (McGee, 1988; De León, 1984; CIMMYT, 2004; White, 2004). Los síntomas antes mencionados correspondieron a los observados en campo. Las plantas testigo permanecieron sanas. Las temperaturas de 28-30°C en el invernadero aceleraron la producción

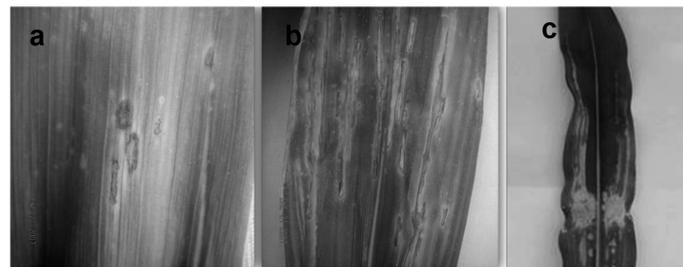


Figura 2. Síntomas desarrollados en pruebas de patogenicidad de *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* en maíz cv AS 7573. a: manchas acuosas verde olivo en hojas, b: rayado foliar, c: rayado color blanco-pajizo.

de los síntomas ocasionados por *A. avenae* subsp. *avenae*. Hu *et al.*, (1997) indican que las condiciones que favorecen la expresión de los síntomas de las subespecies de *A. avenae* son los tejidos jóvenes y temperaturas entre 27 y 30°C. Heridas, aberturas naturales como estomas e hidátodos y la humedad relativa elevada, son los factores necesarios para el desarrollo y reproducción de la bacteria (Bradbury, 1973).

Las bacterias aisladas de las plantas de maíz fueron positivas a la reacción de hipersensibilidad en tabaco; 24h después de la infiltración se observó necrosis en las hojas.

Caracterización molecular

La confirmación de los aislados para la especie se realizó con los iniciadores específicos RST63 y RST64, citados por Schaad *et al.* (2001), que amplificaron un fragmento de ~209 pb. No hubo amplificación con la cepa de *Erwinia* spp. usada como testigo negativo (Figura 3).

Secuenciación y alineamiento

Las cepas secuenciadas de ACITLALIX, ACICOSO y ACIPASO1 presentaron una homología del 100%, respectivamente, con una secuencia del banco de genes (Genbank) (Acc. 002521) que corresponde a *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, lo cual confirmó su identidad (NCBI, 2016).

Los síntomas observados en el ciclo de siembra 2003-2004

en los municipios maiceros del estado de Veracruz donde se hizo el muestreo fueron posiblemente causados por *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, enfermedad bacteriana conocida como rayado foliar del maíz. Este patógeno es de importancia económica debido a que afecta a varios hospedantes, incluyendo avena, trigo, caña de azúcar, mijo, cola de zorra, arroz y ave del paraíso (Shakya y Chung, 1985; Kadota, 1996; Prathuangwong *et al.*, 2004; Seijo y Peres, 2011). En Tailandia se han registrado pérdidas económicas hasta del 30% (Techati, 2008). Gijón (2009) reportó que en el año 2007 se tuvo una incidencia de la enfermedad de 45,9% en el cv AS 7573 en el municipio Tlalixcoyan, Veracruz. Además, a esta bacteria se le considera con potencial para su transmisión por semilla (Kihupi *et al.*, 1996; Krittidetch *et al.*, 2013). Lamentablemente, en México no hay estudios sobre formas de dispersión, epidemiología, detección y transmisión, lo cual la convierte en una amenaza para los cultivos que son susceptibles a este patógeno, aunado a que puede ser confundida con otras enfermedades bacterianas que atacan al maíz, tales como *P. stewartii* subsp. *stewartii* y *B. gladioli*. De la presente investigación nace la necesidad de considerarla en los programas de manejo del cultivo en las zonas maiceras importantes de México.

Conclusión

Se determinó que *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* fue una de las bacterias asociadas al síndrome de la enfermedad del maíz, que se presentó en Veracruz, México.

REFERENCIAS

Alcántara MS (2009) *Detección e Incidencia del Fitoplasma Maize Bushy Stunt y su Relación con el Rendimiento en el Maíz en el Estado de Veracruz, México*. Tesis. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 36 pp.

Bradbury JF (1973) *Pseudomonas alboprecipitans*. En *C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*. N° 371. Commonwealth Mycological Institute. Kew, RU.

CIMMYT (2004) *Enfermedades del Maíz: Una Guía para su Identificación en el Campo*. 4ª ed. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. El Batán, México. 119 pp.

De León C (1984) *Enfermedades del Maíz: Una Guía para su Identificación en el Campo*. 3ª ed. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. El Batán, México. 114 pp.

Gijón HA, Téliz OD, Cárdenas SE, De León C, Mora AA, Mejía SD, De La Torre AR, Quiroga MR (2008) Leaf stripe and stem rot caused by *Burkholderia gladioli*, a new disease of maize in México. *Plant Dis*. 92: 12-49.

Gijón HA (2009) *Etiología de Tres Enfermedades Bacterianas de Maíz (Zea mays) en Veracruz, México*. Tesis. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 81 pp.

Gregersen T (1978) Rapid method for distinction of gram-negative from 251 gram-positive bacteria. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol*. 5: 123-127.

Hu FP, Young JM, Triggs CM, Wilkie JP (1997) Pathogenic relationships of the subspecies of *Acidovorax avenae*. *Australas. Plant Pathol*. 26: 227-238.

Kadota I (1996) Studies on the pathogen of bacterial brown stripe of rice and its ecology. *Bull. Hokuriku Nat. Agric. Exp. Stn*. 38: 113-171.

Kihuppi AL, Mabagala RB, Mortensen CN (1996) Occurrence of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* in rice seed in Tanzania. *Afr. Plant Prot*. 5: 55-58.

Krittidetch A, Wilawan C, Dusit A (2013) Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* in commercial corn seeds and its correlation with seedling transmission. *Afr. J. Biotechnol*. 12: 6376-6381.

Martin JP, Wismer CA (1961) In Martin JP, Abbott EV, Hughes CG (Eds.) *Sugarcane Disease of the World*. Vol. 1. Elsevier. Amsterdam, Holanda. pp. 109-126.

McGee DC (1988) *Maize Diseases: A Reference Source for Seed Technologists*. APS Press. St. Paul, MN, EEUU. 149 pp.

NCBI (2016) National Center for Biological Information. www.ncbi.nlm.nih.gov/ (Cons. 23/04/2016).

Prathuangwong S, Juthawanthana P, Ketsuwan K, Kasem S (2004) An outbreak of new bacterial diseases of corn in Thailand. *Proc. 1st Kasetsart Univ. Corn and Sorghum Res. Program Workshop*. Ayutthaya, Thailand. pp. 19-21.

Sambroock J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 3rd. Cold Spr. Harbor Lab. Press. Nueva York, EEUU. 1: 1.32-1.34.

Seijo TE, Peres NA (2011) First report of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* causing bacterial leaf stripe of *Strelitzia nicolai*. *Plant Dis*. 95: 1474.2.

Shaad NW, Jones JB, Chun W (2001) *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3ª ed. APS Press. St. Paul, MN, EEUU. 373 pp.

Shakya DD, Chung HS (1985) *Pseudomonas avenae* causing bacterial brown stripe disease of rice in Korea. *Kor. J. Plant Pathol*. 1: 38-43.

Suslow TV, Schroth MN, Isaka M (1982) Application of rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* 72: 917-918.

Techati N (2008) *Identification and Genetic Diversity of Bacterial Leaf Streak of Corn*. Tesis. Kasetsart University. Bangkok, Thailand.

Trujillo G, Hernández Y (1992) Bacteriosis en el maíz *Zea mays* L. causada por *Pseudomonas avenae*. *Agron. Trop*. 42: 239-247.

Weller D, Ritchie D, White J (1975) *Isolation and Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Phytopathol. Congress. St. Paul, MN, EEUU. 23 pp.

White GD (2004) *Plagas y Enfermedades del Maíz*. APS-Mundi-Prensa. México. 78 pp.

Willems A, Goor M, Thielemans S, Gillis M, Kersters K, De Ley J (1992) Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *Avenae* subsp. nov. comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 42: 107-119.

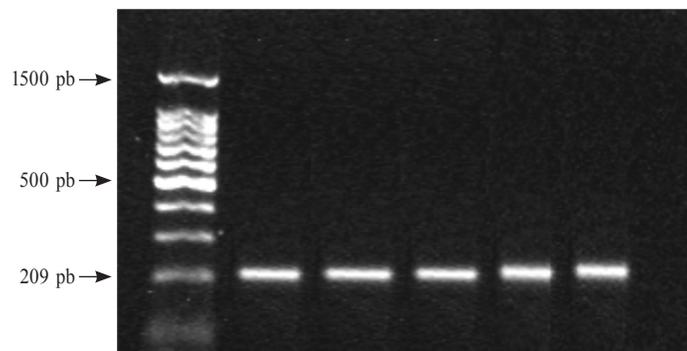


Figura 3. Amplificación del producto PCR de ~209 pb con los iniciadores RST63 y RST64 para *Acidovorax avenae*. Línea 1 a la 4 cepas aisladas de maíz cv AS 7573, procedentes de Veracruz, México. Línea 5, control positivo (*Acidovorax avenae*), Línea 6, control negativo (*Erwinia* spp). M: marcador molecular de 100pb (Invitrogen®).