

# MARCHITEZ BACTERIANA DEL TOMATE CAUSADA POR EL BIOVAR 2 A, DE *Ralstonia solanacearum* EN ALGUNAS LOCALIDADES DEL ESTADO MERIDA-VENEZUELA

Rosaima García, Alba García y Luisa Delgado

FONAIAP-Mérida, Laboratorio de Fitopatología, Mérida-Venezuela

## RESUMEN

Desde el año 1995 en el estado Mérida, se vienen presentando casos de "dormidera" repentina en el cultivo de tomate, con características semejantes a las ocurridas en papa. Con el fin de determinar la etiología y la distribución de la "dormidera", se realizó un estudio, a partir de plantas y/o suelos de siembras ubicadas en las principales zonas productoras del estado: Tabay (1.900 - 2.020 msnm), Ejido (1.300 msnm), Lagunillas (1.100 msnm), Estanquez (900 msnm), Tovar (1.200 msnm) y Timotes (2.200 msnm). Para el aislamiento del patógeno se realizaron siembras en placas petri que contenían el medio de cultivo Cloruro de Trifenil Tetrazolio de Kelman (1954), utilizando el método de las cuadrículas, obteniéndose colonias puras después de la tercera réplica en el referido medio. La especie bacteriana se identificó de acuerdo a la metodología de Schaad (1988) y por serología. Para determinar el biovar se realizaron pruebas bioquímicas de utilización de azúcares y oxidación de alcoholes (Hayward, 1964). Las pruebas de patogenicidad se hicieron en plantas de tomate var. Río Grande, berenjena morada var. Egg plant, papa var. Caribay y pimentón var. Yolo Wonder. Los análisis resultaron positivos en una (1) finca de Tovar, en tres (3) de Ejido, en dos (2) de los alrededores de Tabay Municipio Santos Marquina y una (1) de Estanquez. En Lagunillas y Timotes no se encontró la enfermedad. Todos los aislamientos obtenidos resultaron ser *Ralstonia* (= *Pseudomonas*) *solanacearum*, biovar 2A. Los síntomas característicos de la enfermedad fueron: necrosamiento de las yemas, desintegración de los haces vasculares, frutos pequeños y marchitez. La aparición de la enfermedad pudo ser una consecuencia de la siembra continua de especies solanaceas, uso de herramientas contaminadas, escorrentía y/o la siembra de semilla infectada.

**Palabras clave:** *Ralstonia solanacearum*, Biovar, marchitez bacteriana.

## ABSTRACT

Since 1995, cases of sudden wilt have been present in tomato with similar characteristics to those occurring in potato. In order to determine the ethiology, and distribution of the wilt, a study was conducted by sampling plant and/or soil in tomato farms from the main productive areas of Merida State: Tabay (1900 - 2020 mosl), Ejido (1300 mosl), Lagunillas (1100 mosl), Estanquez (900 mosl), Tovar (1200 mosl) and Timotes (2200 mosl). To isolate the pathogen, samples were grown in Petri dishes with the Triphenyl Tetrazolium Chloride medium of Kelman (1954), by the quadricle method. Pure colonies were obtained after three (3) transfers in the same medium. The bacteria species was verified following the Schaad methodology (1988) as well as serology, and the biovar by biochemical tests of sugars utilization and alcohols oxidation of Hayward (1964), were performed. The pathogenicity tests were conducted on tomato plants 'Rio Grande', dwarf violet Eggplant, 'Caribay' of potato and sweet pepper 'Yolo Wonder'. Analysis resulted positive in one (1) farm from one locality in Tovar (El Amparo), in three (3) in Ejido, in two (2) in the environs of Tabay, Santos Marquina Municipality and in one (1) in Estanquez. In Lagunillas and Timotes the disease was not found. All isolations were *R. solanacearum* biovar 2 A; the characteristic symptoms observed were: necrosis of buds, desintegrated vascular system, small fruits and wilt. Probably, the disease could have been occurred by continuous cropping of Solanaceae, contaminated tools, water runnings and/or infected seed.

**Keywords:** *Ralstonia solanacearum*, Biovar, Bacterial wilt.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una de las hortalizas de mayor importancia en Venezuela, siendo cultivado en casi todo el territorio nacional. Las áreas de mayor producción en el país están

concentradas en la región central (Aragua y Carabobo) y centro occidental (Lara, Falcón y Portuguesa), en las cuales se cosecha casi el 70% de la producción nacional (FONAIAP-Lara, 1995).

Igualmente, constituye uno de los alimentos más comunes en la dieta diaria de la población merideña. Ocupa el noveno lugar entre 26 hortalizas sembradas y aporta el 2% al valor de la producción hortícola estatal, lo cual garantiza la disponibilidad de consumo fresco de sus frutos (MAC, 1995).

En el estado Mérida, el tomate se siembra en pisos altitudinales que van desde 600 msnm hasta 1.900 msnm, en los cuales predominan temperaturas que oscilan entre 27°C y 18°C respectivamente.

Existen innumerables problemas que afectan la explotación del tomate en la región, reportándose como importantes los causados por insectos y enfermedades. La presencia de una enfermedad, comúnmente llamada "dormidera" en cinco de las siete localidades productoras, representa un riesgo potencial como factor limitante de la producción del cultivo, debido a que las condiciones climáticas (alta humedad relativa y temperatura), bajo las cuales se siembra, son muy favorables para su desarrollo. La enfermedad se presenta como marchitez repentina y flácida de las plantas, observándose necrosamiento en yemas, desintegración de los haces vasculares y frecuentemente el tallo se aprecia hueco. Los frutos no llegan a desarrollarse o cuando están maduros se desprenden del pedúnculo con facilidad. La raíz se ve sana. Las siembras usualmente muestran color castaño a marrón cuando se observan desde una distancia mayor de 50 m (Figura 1).

La marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, es una de las principales limitantes en la producción de solanaceas, especialmente papa y tomate. Pérdidas de un 29% han sido reportadas en la producción de frutos frescos de híbridos de



**FIGURA 1.** Epifitotía de la "dormidera" del tomate causada por *Ralstonia solanacearum* en el Municipio Campo Elías, estado Mérida (1997).

tomate (Hartman et al., 1991). En el tomate cultivado en Indonesia, las pérdidas varían de 24% a 32% en tierras bajas y de 15% a 26% en las variedades transplantadas (Hutagalung, conversación personal; citado por Hanudin y Machmud, 1994).

Diferencias en rangos de hospederos han sido utilizadas como base para la identificación de razas en *Ralstonia solanacearum*. Hasta ahora se han reconocido tres razas: Raza 1 que ataca solanáceas y otras plantas, la raza 2 a bananos y heliconias y la raza 3 a la papa. Dentro de estas razas existen numerosos patotipos relacionados con las áreas geográficas (Buddenhagen et al., 1962).

La ocurrencia del biovar 3 de *Ralstonia solanacearum* en tomate fue reportada en Himachal Pradesh de la India, en estudio donde los biovares fueron diferenciados en función de la utilización de ciertos azúcares y la oxidación de alcoholes (Hayward, 1964).

Tomando en consideración la existencia de esta nueva limitante de la producción de tomate en las tierras merideñas, la importancia económica del cultivo, y el peligro que la enfermedad representa para la continuidad de la siembra del cultivo en el estado; se realizó esta investigación con el objeto de conocer la distribución, etiología, e identidad de la variante patogénica y/o raza del patógeno; a fines de establecer las bases de un programa para el manejo de la misma.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Distribución de la enfermedad

Se realizó un muestreo en las principales áreas productoras de tomate del estado: Municipio Santos Marquina (1.900 - 2.200 msnm), Ejido (1.300 msnm), Lagunillas (1.000 msnm), Estanquez (900 msnm), El Amparo-Tovar (1.200 msnm), Bailadores (2.000 msnm) y Timotes (2.200 msnm). Se tomaron plantas sintomáticas y asintomáticas, las cuales fueron desinfectadas con alcohol isopropílico 80% y flameadas, cortando luego pequeños trozos de tallos que se maceraron dentro de bolsas plásticas con 5 ml de agua destilada estéril. A partir de las suspensiones resultantes se hicieron siembras en cuadrículas en cápsulas petri que contenían el medio de cultivo cloruro de trifeníl tetrazolio (TZC ó K+), de Kelman (1954), el cual es específico para *Ralstonia*

***solanacearum***. Las placas se incubaron por 72 h a 30°C. Las colonias obtenidas se transfieren tres veces al medio de Kelman sin tetrazolio (K-) hasta lograr la purificación. En la identificación de la especie bacteriana, se siguió la metodología descrita por (Schaad, 1988), determinando en las colonias, características del crecimiento (color, elevación, superficie), la morfología y las respuestas a las pruebas fisiológicas (crecimiento a 30°C y 41°C) y bioquímicas (reducción de nitratos, licuefacción de la gelatina, producción del NH<sub>4</sub>, crecimiento anaeróbico y reacción rápida de Gram con KOH al 3%).

Los aislamientos se hicieron reaccionar en membranas de nitrocelulosa siguiendo el Test de NCM ELISA específico para detección de ***Ralstonia solanacearum*** (Elphinstone y French, 1995; Gutarra y Gamboa, 1995).

Los aislamientos que reaccionaron positivamente se sembraron por estriación en otras placas con K-, con el propósito de utilizarlos en pruebas posteriores.

### Pruebas de Patogenicidad

Estas pruebas se condujeron en plántulas de papa var. Caribay, tomate var. Río Grande, pimentón Yolo Wonder y berenjena morada var. Eggplant. Las plantas de papa estaban creciendo en bolsas de polietileno (5 Kg) y las de tomate, berenjena y pimentón en vasos plásticos (250 gr) que contenían un sustrato a base de fibra de coco, arena y tierra (1:1:2), esterilizado por 2 h a 95°C. El inóculo utilizado fueron suspensiones bacteriales ajustadas hasta una concentración de 1 x 10<sup>6</sup> células/ml, de acuerdo a la escala de Mc. Farland (Barret, 1975).

El inóculo se aplicó con una inyectora en las axilas de hojas localizadas en la parte media de las plantas de 1,5 meses de edad. Seguidamente las plantas fueron cubiertas con bolsas plásticas que tienen dos perforaciones pequeñas e incubadas a 18 ± 3 °C en un ambiente con techo de láminas transparentes. De cada especie se utilizaron cuatro plantas/aislamiento y las cuatro (4) plantas testigos las cuales solo recibieron inyección de agua destilada esteril.

Cuando las plántulas presentaron los síntomas característicos de marchitez, se les realizó la prueba del flujo para detección de ***Ralstonia solanacearum*** descrita por Martin y French (1985), luego el flujo fue sembrado en placas con cloruro de

trifenil tetrazolio, y se incubaron durante 72 horas a 30°C, para verificar el desarrollo de las colonias características de la bacteria.

### Caracterización del biovar

Para tales efectos se realizaron los análisis de Carbohidratos (Hayward, 1964, 1976), basados en la utilización de los disacaridos celobiosa, lactosa y maltosa y la oxidación de los alcoholes hexosa, dulcitol, manitol y sorbitol. Para diferenciar el tipo de biovar, se utilizaron las metodologías de Hayward *et al.* (1989, 1991), Hayward (1994) y French *et al.* (1995), que contemplan utilización de los azúcares D(-) ribosa y D(+) trehalosa, producción de huecos en el medio (CVP) y patogenicidad en rodajas de papa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, se presentan los resultados obtenidos del muestreo realizado en las principales zonas productoras del estado Mérida. La enfermedad se encontró en una (01) finca de El Amparo-Tovar, en tres (03) de Ejido, una (01) de Bailadores, dos (02) de Santos Marquina y una (01) en Estanquez. En Timotes y Lagunillas no se encontró la enfermedad. La expresión de los síntomas de marchitez coincidió con temperaturas superiores a 18 °C y humedad relativa mayor de 90%.

La presencia de esta enfermedad en los campos señalados está relacionada con diferentes factores: En el Municipio Santos Marquina y Bailadores las fincas evaluadas son también productoras de papa y en ambas localidades se han sembrado tubérculos semilla importados o semilla pasilla, lo cual probablemente ha ocasionado la contaminación de los suelos con la bacteria. En el Municipio Campo Elías no se siembra papa, pero los productores han introducido semillas y herramientas desde el Municipio Santo Marquina vías a través de las cuales posiblemente ha sido introducida la bacteria. En El Amparo el caso es diferente, la única explicación de la presencia de la bacteria en un sólo sitio es que haya llegado por escorrentía de aguas, ya que en fincas ubicadas a mayor altura hacia Bailadores siembran papa, la cual es una zona considerada endémica para ***Ralstonia solanacearum***.

Los resultados coinciden con los reportados por Martín y French (1985); quienes indican que

**CUADRO 1.** Diagnóstico de la “dormidera” del tomate, causada por *R. solanacearum*, en localidades del estado Mérida. (1996-1997).

LOCALIDAD	CAMPOS MUESTREADOS	FINCAS		Código Aislamientos
		Positivo	Negativo	
MUNICIPIO SANTOS MARQUINA	- SAN RAFAEL DE TABAY (FINCA SEÑOR CARLOS NARANJO) 1.900 MSNM.	+		Ta1
	- MUCUY BAJA (1.500 MSNM)	+		M1
MUNICIPIO CAMPO ELIAS (EJIDO)	- FINCA LOS GUIMAROS (1.300 MSNM).	+		E1
	- MANZANO BAJO (1.200 MSNM).	+		E2
	- MANZANO BAJO	+		E3
MUNICIPIO SUCRE (LAGUNILLAS)	- SECTOR EL RINCON FINCA RUBEN. - LAGUNILLAS 1000 MSNM).		-	
MUNICIPIO SUCRE (ESTANQUEZ)	- SECTOR EL PORTACHUELO (600 MSNM).		-	
	- ASENTAMIENTO CAMPESINO SANTO DOMINGO.		-	
	- EDGAR PEÑA LOS CUCHARONES ASENTAMIENTO EL DORADON	+		D1
MUNICIPIO TOVAR	- EL AMPARO. SECTOR LA HONDA FINCA SAN RAFAEL (1.200 MSNM).	+		To1
MUNICIPIO RIVAS D. (BAILADORES)	- SECTOR MESA DE ADRIAN (LAS PLAYAS) 1.600 MSNM.	+		B1
	- SECTOR EL CHACAL (LAS PLAYAS) 1.750 MSNM.		-	
MUNICIPIO MIRANDA (TIMOTES)	- FINCA EL POTRERITO (1.900 MSNM)		-	
	- FINCA SR. JOAQUIN ALEMAN.		-	

+ = Presencia de *R. solanacearum*

- = Ausencia de *R. solanacearum*

*Ralstonia solanacearum* posee dos fuentes de inóculo: tubérculos-semilla infectados y suelos contaminados, pudiendo ser diseminada por el agua de riego y por el suelo adherido a zapatos y herramientas. Así mismo el desarrollo de la enfermedad depende principalmente de temperaturas altas, siendo escasa en suelos fríos, apareciendo los síntomas cuando la temperatura diurna es superior a 20°C y la temperatura promedio del suelo es mayor de 14°C.

### Pruebas de patogenicidad

Las plantas de papa y de tomate inoculadas con los aislamientos de *R. solanacearum* mostraron los síntomas de “dormidera” a los 3 días después de inoculadas, iniciando en una sola hoja y ocurriendo total marchitez a los 5 días en tomate, mientras que en papa ocurrió entre 5 a 8 días. Las prueba del flujo y siembra en el medio TZC resultaron positivas para *R. solanacearum*. Las plántulas de pimentón y

berenjena al igual que las plantas testigo no se marchitaron. Esto confirma que los aislamientos obtenidos corresponden a los agentes causales de la enfermedad, y que se trata de la raza específica de la papa, la cual bajo condiciones favorables, puede también atacar tomate (French *et al.*, 1994).

### Características de crecimiento, morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de los aislamientos

De todas las siembras realizadas, se obtuvieron 8 aislamientos puros, los cuales produjeron colonias blancas con el centro rosado, redondas con bordes ligeramente irregulares, haciéndose visibles a las 72 h en el medio TZC (Figura 2).

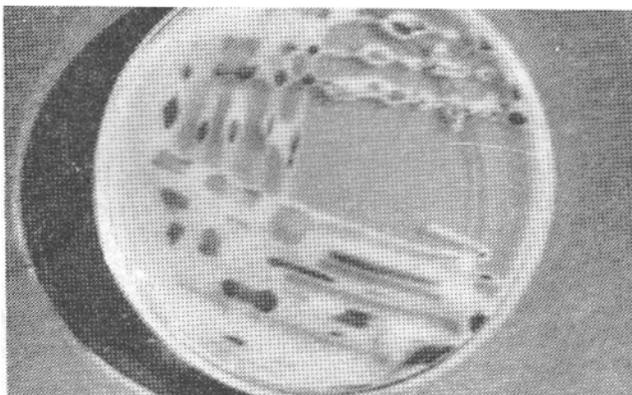


FIGURA 2. Colonias típicas de *Ralstonia solanacearum* en el medio cultivo específico Cloruro de Trifenil Tetrazolio.

En el medio extracto de carne dextrosa-carbonato de calcio (YDC), las colonias fueron de color blanco cremoso, convexas, de superficie lisa y borde ligeramente irregular, casi redondas, y en el medio agar King B., no produjeron pigmentos fluorescentes. Las bacterias son abastionadas, no forman esporas ni cápsulas, Gram-negativa, reducen nitratos, producen amoníaco, son aeróbicas y licuan o no la gelatina muy lentamente. El desarrollo óptimo de todos los aislamiento ocurrió cuando se incubaron por 72 horas a 30° C y luego a temperatura ambiente (20 ± 5°C); no crecieron a 41°C. Presentaron uno o un penacho de flajelos en uno de los extremos. En las pruebas serológicas reaccionaron positivamente tomando una coloración violácea suave. Estas características permiten identificar a la especie bacteriana como *Ralstonia solanacearum* (Hayward, 1964, 1976; Kelman, 1953, 1954).

### Caracterización del biovar y/o raza

En el Cuadro 2, se aprecia que los aislamientos utilizaron como fuente de carbono los disacaridos celobiosa, lactosa, maltosa, pero no D (-) ribosa ni D (+) trehalosa. No oxidaron los alcoholes, dulcitol, manitol y sorbitol. Degradaron la pectona y mostraron alta patogenicidad en papa a 25°C. Estas reacciones demuestran que la variante presente es el biovar 2A. Debido a que los aislamiento sólo fueron patogénicos en tomate y papa, se relacionan con la

CUADRO 2. Resultados de las pruebas de caracterización de los aislamientos de *R. solanacearum* provenientes de tomate.

Pruebas	Ta1	M1	E1	E2	E3	D1	To1	B1
Producción de hilo en KOH 3%.	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato reductasa	+	+	+	+	+	+	+	+
NH	+	+	+	+	+	+	+	+
Medio anaeróbico	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatinasa	±	±	±	-	-	-	±	±
Crecimiento a 30°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 41°C	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Uso para su crecimiento de:</b>								
Celobiosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+
D(-) ribosa	-	-	-	-	-	-	-	-
D(+) trehalosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Degradación de pectona (CVP)	±	+	+	+	±	+	±	-
Patogenicidad a papa	+	+	±	±	+	+	+	±
Reacción serológica en NCM Elisa	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Reacción positiva  
 += Reacción lenta, pero positiva  
 - = No hay reacción

raza 3 específica de papa, la cual es patógena en tomate. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Buddenhagen y Kelman (1964), French *et al.* (1993), Hayward (1964, 1976, 1994) Hayward, *et al.* (1989, 1991). El biovar 3, también ha sido reportado causando marchitez bacteriana en la India (Kalha y Sood, 1994), el cual según Buddenhagen y Kelman (1964) esta relacionado con la raza 1. Sin embargo, French *et al.* (1993) y French (1994), han señalado al tomate como hospedero del biovar 2, cuando en el suelo existe alto potencial de inóculo y predominan temperaturas altas.

Reportes realizados en Venezuela García *et al.* (1993) y García (1995), sobre el incremento de la incidencia de marchitez bacteriana en la papa cultivada en las principales áreas productoras de este tubérculo, donde también se siembran tomate, o se encuentran en áreas circundantes, pueden explicar la presencia del biovar 2 en la zona y por ende en el cultivo del tomate.

La enfermedad representa un serio peligro para la continuidad del cultivo en el estado Mérida, ya que según los propios productores se presenta en forma muy virulenta. La bacteria puede haber llegado por escorrentía de agua, utilización de herramientas previamente usadas en siembras de papa infectadas, parcelas utilizadas con ambos cultivos y probablemente, a través de semilla infectada.

## CONCLUSIONES

El biovar 2 A de *Ralstonia solanacearum*, el cual es específico de la papa, es el causante de la "dormidera" del tomate en el estado Mérida. Este patógeno se ha vuelto endémico en tomate.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRET, T. J. 1975. Preparation of bacterial vaccine. pp. 1-6. In Proceeding of the first workshop of Phytobacteriology. R.N. Godman (ed.). Columbia University of Missouri.
- BUDDENHAGEN, I.W y A. KELMAN 1964. Biological and Physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 203-230.
- BUDDENHAGEN, I. W., H. SEQUEIRA y A. KELMAN. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum* Phytopathology. 52-726 (Abstract).
- ELPHINSTONE, J.G y E.R. FRENCH. 1995. Enfermedades bacterianas de la papa. Detección de *P. solanacearum* en cultivo de papa. Centro Internacional de la Papa (CIP). Unidad Técnica de Capacitación 4. Fascículo 1.4. En: Memorias del Taller Internacional sobre Control de Marchitez bacteriana de la papa para Centroamérica y El Caribe. Lima-Perú.
- FONDO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS-CENTRO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS DEL ESTADO LARA. (FONAIAP-Lara). 1995. Producción de hortalizas (En la Región Centro Occidental). 2 ed. ampliada. Maracay, Venezuela. p. 208.
- FRENCH, E.R.1994. Control Integrado de la marchitez bacteriana de la papa, CIP Vol. 20 No. 2 pp. 8-11.
- FRENCH, E. R, P. ALEY, E. TORRES y U. NYDEGGER. 1993. Divesity of *Pseudomonas solanacearum* in Rew and Brazil. Pages 70-77 in Harmat, G. L. and A. C. Hayward (ed.). Bacterial with Proceedings of an International Conference Held al Kaochsiung, Taiwan, 28-31. October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. Canmberra, Australia. pp. 70-77.
- FRENCH, E. R, L. GUTARRA y P. ALEY. 1995. Medios de cultivo para el aislamiento, mantenimiento e identificación de *Pseudomonas solanacearum*. Enfermedades Bacterianas CIP. Unidad Técnica de Capacitación 4. En: Memorias del Taller Internacional sobre Control de Marchitez bacteriana de la papa para Centroamérica y El Caribe. Lima-Perú.
- GARCÍA, R, B, PAZ y L, DÍAZ. 1993. Estudio de la marchitez bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum*. Fitopatol. Venez. 6: 2 (Resumen)
- GARCÍA, R. 1995. Incidencia y Distribución de la Marchitez Bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum* en las principales zonas paperas del estado Mérida. Venezuela. p.74. En: Memorias de XVII Reunión de Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP) Mérida, Estado Mérida, 09 al 15 de Julio.
- GUTARRA, L. y S. GAMBOA. 1995. Enfermedades de la Papa. Detección Serológica de *P. solanacearum* por NCM-Elisa. Centro Internacional de la Papa (CIP). Unidad Técnica de Capacitación 4. Fascículo 1.5. En: Memorias del Taller Internacional sobre control de matchitez bacteriana de la papa para Centroamérica y El Caribe. Lima-Perú.
- HANUDIN y M. MACHMUD. 1994. Effect of bactericide Terlai and *Pseudomonas fluorescens* on bacterial wilt of tomato. ACIAR.(Australian Centre for International Agricultural Reserch). Bacterial Wilt Newsletter. 10: 10-12.
- HARTMAN, G. L y W. F, HONG. and T. C. WANG. 1991. Survey of bacterial wilt on fresh maket hybrid tomatoes in Taiwan. Plant Protection Bulletin (Taiwan) 33:197-203.
- HAYWARD, A.C. 1964. Characteristic of *Pseudomonas solanacearum*. Journal of Applied Bacteriology. 27: 265-277.

- HAYWARD, A. C. 1976. Some techniques of importance in the identification of *Pseudomonas solanacearum*. pp. 137-142. In: Planning Conference and Workshop on the ecology and control of bacterial with caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina State Univ.
- HAYWARD, A.C., H.M. EL-NASHOOR, L. DE LINDO y V. NYDEGGER. 1989. The use of microtiter plates in the phenotypic characterization of phytopathogenic *Pseudomonas*. pp.595-598. In: Proc 7 th.Int Conf. Plant Pathog. Bact. Budapest, Hungary.
- HAYWARD, A.C., L. SEQUERA, E.R. FRECH H. EL. NASHOAR y U. NYDEGGER. 1991. Tropical variant of Biovar 2 of *Pseudomona solanacearum*. Phytopathology 82: 608 (abstract).
- HAYWARD, A. C. 1994. Systematics and Phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. pp. 123-125. In: Hayward, A. C. and G. h. Hartman (eds) Bacterial wilt. The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, U.K.
- KALHA, C. S. y A.K. SOOD. 1994. Occurrence of Biovar 3 of *Pseudomonas solanacearum* on tomate in Himachal Pradesh. ACIAR. Bacterial Wilt Newsletter. 10: 10.
- KELMAN, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. North Carolina Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin 99, p.194 p.
- KELMAN, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium Phytopathology 44: 693-695.
- MARTÍN C. y E.R. FRENCH. 1985. La marchitez bacteriana de la papa. Boletín de Información Técnica. No. 13. CIP. Lima Perú. pp. 1-16.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA. 1995. En: Archivos de la División de Planificación y Estadística. Sector Agrícola del Estado Mérida. UEDA-Mérida.
- SCHAAD, N.W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogens bacteria. 2da. Edition AAS press St Paul Minnesota. pp.1-81.