



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

Universidad de Sonora
Centro de Investigaciones
Biológicas del Noroeste, S.C.

Volumen 9 No. 1 (Enero-Junio 2014): 24-36

INVURNUS

"En busca del conocimiento"

INVESTIGACIÓN

***Ralstonia solanacearum*: Una enfermedad bacteriana de importancia cuarentenaria en el cultivo de *Solanum tuberosum* L.**

Rueda-Puente, Edgar Omar ¹, Hernández-Montiel, Luis G. ², Holguín-Peña, R. J. ², Ruiz Espinoza, Franciso H. ², López Elías, Jesús ¹, Huez Lopez, Marco A. ¹, Jiménez León, José ¹, Borboa Flores, Jesús ¹ y Ortega-García, Jesús*³

1 Universidad de Sonora, Departamento de Agricultura y Ganadería, Hermosillo, Sonora, México.

2 Programa de Agricultura en Zonas Áridas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, La Paz, Baja California Sur, México.

3 Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias. H. Caborca, Sonora.

Resumen

A nivel mundial, la papa (*Solanum tuberosum*) constituye uno de los cultivos más importantes para la alimentación humana. En años recientes se ha detectado la bacteria *Ralstonia solanacearum* en algunas regiones de Estados Unidos (EUA) y Canadá, la cual provoca la enfermedad denominada marchitez bacteriana en el cultivo de la papa. Esta bacteria ocasiona una pudrición en el tubérculo, tallos y hojas de este cultivo y tiene la particularidad de diseminarse por semilla. Dada la cercanía con los EUA y Canadá, y siendo México un país importador de semilla de esos países, la probabilidad de una eventual introducción de esta enfermedad es significativa, especialmente en áreas con amplias extensiones de papa. La papa es una de las principales hortalizas producidas en México. En el año del 2013, la producción nacional de papa superó las 2,000,000 de toneladas. Este manuscrito presenta una revisión de la epifitología de *Ralstonia solanacearum* con el objetivo de divulgar algunos aspectos que auxiliaran a tomar decisiones sobre un manejo adecuado de esta enfermedad.

Palabras clave: Marchitez bacteriana, *Ralstonia solanacearum*, papa.

***Ralstonia solanacearum*: A bacterial disease of importance quarantine in the cultivation of *Solanum tuberosum* L**

Abstract

Worldwide, the potato (*Solanum tuberosum*) is one of the most important crops for human consumption. In recent years *Ralstonia solanacearum* has been identified in some regions of the United States and Canada. This bacteria is the causal agent of the potato bacterial wilt. Its main symptoms are rotten tubers, stems and leaves and it spreads by seed. Given the proximity to the U.S. and Canada and being Mexico a seed importer from these countries, the odds of an eventual introduction of this disease are significant. Potato is one of the main vegetables produced in Mexico; in the year of 2013, the national potato production exceeded 2,000,000 tons. We present in this paper a review of the epifitology of *Ralstonia solanacearum*, so this information can be helpful for the management of this disease.

Key words: Bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, potato.

*Autor para envío de correspondencia: Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, C.P. 83000, Hermosillo, México.

E-mail:jortega@guayacan.uson.mx

© 2014 Editorial UNISON — URN. Derechos reservados.

Introducción

Situación actual del cultivo de papa

A nivel mundial la papa junto con el arroz, el maíz y el trigo, constituyen los cuatro cultivos más importantes para la alimentación humana. En el 2013, en el mundo se cultivaron más de 10 millones de hectáreas de papa con una producción de 300 millones de toneladas. Los principales países productores de papa son Rusia, China, India, Polonia y Estados Unidos. En México las principales zonas productoras se localizan en lugares con altitudes que fluctúan de los 15 a los 2,000 msnm en entidades federativas como Baja California, Sonora y Sinaloa. En los últimos 10 años, los principales estados productores en la República Mexicana han sido: Sinaloa, estado de México, Nuevo León, Chihuahua, Sonora y Guanajuato, quienes en conjunto aportan el 60% del total de la producción nacional (Bolaños, 2006; Moctezuma, 2006).

Dentro de los citados estados productores, Sinaloa se ha destacado por ser el principal productor de papa en México. Además de ser un proveedor importante de la industria de las frituras y un destacado productor de semilla. El cultivo de esta hortaliza se ubica principalmente en las áreas de riego de la zona norte del estado, en los distritos de Guasave y los Mochis que es una entidad que pertenece al estado de Sinaloa. La principal variedad que se genera en dichas regiones son la Alpha, Atlántica y Diamante.

Clasificación de *Ralstonia solanacearum*. Marchitez bacteriana de la papa

El organismo causal de esta enfermedad llamada marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) (ex *Pseudomonas solanacearum*) o podredumbre parda, es un bacilo Gram negativo con un flagelo polar. Esta bacteria vive en el suelo (Smith *et al.*, 1995). La marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), es una enfermedad que devasta numerosos cultivos de importancia económica entre los que se cuentan el tomate, la papa, el plátano y algunas plantas de interés ornamental. Adquiere gran importancia en las zonas tropicales y subtropicales (Pradhanang *et al.*, 2003). La Marchitez Bacteriana o pudrición parda de la papa, (*Ralstonia solanacearum*), es la segunda enfermedad que limita la producción de papa; además afecta a un gran número de familias de plantas tanto cultivadas como silvestres, entre las cuales se encuentran la papa (*Solanum tuberosum*), el tomate (*Lycopersicon esculentum*), el pimiento (*Capsicum annum*), el plátano (*Musa sp.*), como los cultivos más afectados (Priou *et al.*, 2006).

Clasificación taxonómica de *Ralstonia solanacearum*

Acorde a Yabuuchi *et al.* (1995), la clasificación taxonómica de *Ralstonia* es la siguiente: Phylum:Gracillicutes; Clase:Bacteria; Orden:Bacteriales; Familia:Bacteriaceae; Genero:*Ralstonia*; Especie:*solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995). Se conocen tres razas de *Ralstonia solanacearum*: la raza 1 que afecta solanáceas y otras plantas, la raza 2 afecta a bananos, y la raza 3 que afecta papa (García *et al.*, 1999). El principal efecto fisiológico que causa (*Ralstonia solanacearum*) en sus hospederos se denomina marchitez, que se da cuando las hojas pierden turgencia y decaen junto con toda la planta, debido a una obstrucción de los tejidos conductores que transportan el agua y nutrientes a través del tallo (Gabor y Wiebe, 1997). A continuación se indican en el Cuadro 4, las diferentes denominaciones más importantes de *Ralstonia solanacearum*.

Tabla 1. Denominaciones de *Ralstonia solanacearum* (Rs).

País/ Idioma	Denominaciones
Perú	Bacteriosis, Podredumbre parda, Seca, Borrachera, Mata todo
Inglés	Brown rot, bacterial wilt
Francés	Bacteriose vasculaire, Pourriture brune.
Alemán	Braunfaule
Español	Marchitez bacteriana, Podredumbre parda
Portugués	Murcha bacteriana

(French, 1995).

Se ha descrito a esta bacteria como un microorganismo infeccioso, sin embargo, en cultivo, muta con facilidad perdiendo su patogenicidad. Sus propiedades han llevado a investigadores de todo el mundo a analizarlo, siendo uno de los microorganismos más estudiados en la historia; incluso, algunos lo señalan como el fitopatógeno más importante del mundo (APHIS y PPQ, 2004). A nivel mundial, los primeros indicios de la enfermedad surgieron en Italia en el año 1882, de allí se considera la posible diseminación a otras partes del mundo como Asia, África del sur, La India, Indonesia, Japón, Norte de Australia y Suecia y Holanda (López, 2004).

En 1896, se hace referencia a la primera descripción del patógeno *Pseudomonas solanacearum*, como el causante de la marchitez Bacteriana, por Edwin F. Smith, cuya nomenclatura dada, sufriría modificaciones de acuerdo a estudios consecuentes del mismo Smith (Orozco, 2004).

En América Latina, fue localizada en 1965, en áreas amazónicas de Sur América, sobre grandes altitudes en Perú y Costa Rica, Guatemala (Loarca, 1987). *Ralstonia solanacearum* es afectada por la temperatura, la humedad del suelo y otros factores físicos y químicos del suelo, siendo más favorables las temperaturas altas de 28 °C a 35°C (Iglesia, 2008). En climas fríos (menos de 18°C), y en altitudes superiores a 2,500 msnm, la bacteria crece muy lentamente y convive en el cultivo, como infección latente, sin ocasionar daños aparentes ni presentar síntomas visibles. El material vegetativo de propagación, se convierte en portador asintomático de la bacteria que al ser sembrado, en lugares más calurosos, se desarrolla la enfermedad en el cultivo (Delgado *et al.*, 1999).

Sintomatología de *Ralstonia solanacearum* en papa

En la papa, los síntomas inducidos por *R. solanacearum* aparecen generalmente en el follaje de las plantas. Estos síntomas consisten en marchitamiento de las hojas más jóvenes en las partes terminales de las ramas, además. Los síntomas iniciales de amarillamiento leve se observan primero en un solo lado de la hoja o en una rama y no en la siguiente (Figura 1) (Gregory y Andrade, 1996). Los síntomas en el follaje son marchitez, enanismo y amarillamiento del follaje y pueden aparecer en cualquier estado de desarrollo de la planta. Las hojas marchitas palidecen, toman una coloración verde claro y finalmente se tornan de color castaño, sin que se produzca enrollamiento de los bordes a medida que se van secando los foliolos (Yu *et al.*, 2003).



Figura 1. Síntomas de *R. solanacearum* en planta de papa.

Los síntomas pueden encontrarse en los tubérculos de papa. El tubérculo infectado de papa puede revelar una decoloración gris-marrón. Mientras la infección progresa, la decoloración puede extenderse a la corteza del tubérculo con un exudado de lechoso (exudado mucilaginoso), que indica la presencia de células bacterianas, también puede ser observada en secciones recién cortadas de tubérculos infectados. Exudado bacteriano también puede ser visible en los ojos o en el punto donde el estolón se conecta al tubérculo (Figura 2). Estos signos o síntomas no pueden ser visibles temprano en el desarrollo de la enfermedad (Smith y Saddler, 2001).

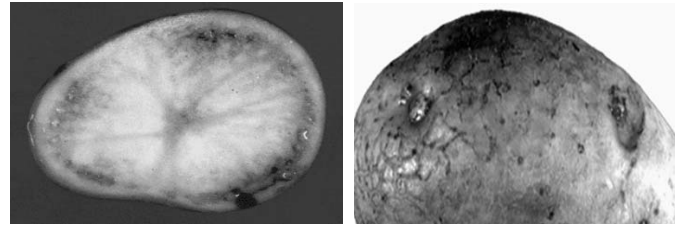


Figura 2. Síntomas de *R. solanacearum* en Tubérculos de papa.

Cuando el tubérculo está infectado de forma clara, si se corta transversalmente y se aplica una ligera presión, salen del anillo vascular gotas blanquecinas de exudado bacteriano. Este exudado se mezcla con la tierra y la mezcla de exudado bacteriano y suelo se seca y se adhiere a la superficie del tubérculo. Los tubérculos dejados en la tierra siguen su proceso de podredumbre; las bacterias continúan destruyendo los tejidos que rodea al anillo vascular y finalmente se rompe la piel apareciendo grietas. En este momento otros organismos penetran en el tubérculo y aceleran la podredumbre; lo que queda es una masa viscosa de olor desagradable (Figura 3) (Patrik y Maiss, 2000).



Figura 3. Daño causado por *R. solanacearum*, la exudación permite adhesión de tierra.

En tallos jóvenes, los líos vasculares infectados por *Ralstonia solanacearum* (*Rs*), pueden llegar a ser visibles como rayos largos y estrechos de color marrón oscuro. En plantas jóvenes y jugosas de variedades sumamente susceptibles, el desplome del tallo también puede ser observado. En infecciones bien avanzadas, las secciones transversales del tallo o del estolón pueden revelar una decoloración marrón de los tejidos infectados (Figura 4) (Swanson *et al.*, 2005). La zona vascular del tallo se vuelve marrón cuando es invadida por las bacterias. El taponamiento de los vasos del anillo vascular del tallo es lo que produce el marchitamiento y muerte de la planta, al cortar el suministro de agua a la zona superior de la misma. Un signo que puede servir para hacer el diagnóstico es la presencia de gotitas brillantes de color castaño grisáceo que exudan del xilema cuando se hace un corte transversal en el tallo. Si se ponen en contacto dos superficies de corte del tallo infectado y luego se alejan lentamente, se pueden ver hilos delgados de mucosidad (Caruso *et al.*, 2002).



Figura 4. Tallo de papa infectado de *Ralstonia solanacearum*.

Ralstonia solanacearum, se manifiesta con un amarillamiento previo a un enrollamiento en las horas más cálidas del día; los peciolo se encorvan hacia abajo como si la marchitez fuera debida a la falta de agua; la enfermedad al evolucionar, la marchitez de la parte aérea es en un principio unilateral identificando una coloración parda de los tejidos vasculares al realizar un corte trasversal en el tallo. Es importante señalar que esta marchitez puede ser confundida con los síntomas provocados por la bacteria Gram positiva *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicum* (Podredumbre anular). Sin embargo, se puede diferenciar ya que *R. solanacearum* produce la marchitez del follaje verde, mientras que *C. michiganensis*, induce la marchitez de un follaje clorótico amarillento (Bowman et al., 1982). Con base a esta síntomas, se le denomina comúnmente a *Ralstonia solanacearum* enfermedad de “la marchitez bacteriana”.

Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Ralstonia solanacearum, infecta una planta y penetra por el sistema de absorción radicular y entra en el sistema vascular, distribuyéndose a los vasos del tejido xilémico (tubo conductor) de forma vertical u horizontal (Watanabe, 2006). La bacteria se dispersa principalmente a través del suelo, sobreviviendo en este medio por largos periodos de tiempo. Además es posible su transmisión por medio del agua, equipo o por materiales infectados. Por ejemplo, se puede diseminar por medio del trasplante y la propagación de plantas infectadas, cuando se realizan cortes sin desinfectar el equipo que previamente ha tenido contacto con una planta infectada y una importante forma de diseminación se da por medio del riego (Aphis y PPQ, 2004). Cuando la bacteria afecta los cultivos de un país, región o zona, las posibilidades de diseminación son múltiples, como suelo infectado, aguas, labores culturales, etc., ya que es un patógeno del suelo y tiene la capacidad de persistir en él, aún sin el hospedante específico. Dicha capacidad va a depender de la raza presente, lo que dificulta la aplicación de medidas de control eficientes (Hernández y col., 2005). Los tubérculos infectados, son los principales medios de difusión de *Ralstonia solanacearum* (Rs). El desarrollo de la enfermedad depende de (temperatura y de humedad), la temperatura de 25° C favorecen la multiplicación

bacteriana. Los tubérculos infectados, pero sin síntoma de Rs, puede abrigar la bacteria y después transmitir el patógeno a los tubérculos de la progenie como infección latente. El patógeno puede sobrevivir en suelo. Además, las herramientas de trabajo que se utilizan para plantar y cosechar pueden también llevar la enfermedad a los campos sanos, porque están en contacto con el suelo infestado. La entrada de la bacteria en raíces de papa (*Solanum tuberosum* L.), es facilitada por las heridas hechas por las herramientas durante la cultivación. *Ralstonia solanacearum*, puede estar presente adentro de los sacos; donde ponemos los tubérculos infectados. Cuando ponemos los tubérculos sanos de la semilla en esos sacos, se infectan (Boudazin et al., 1999). El estado latente de la *Ralstonia solanacearum* plantea las mayores dificultades. Las bacterias son invisibles, salvo en pruebas especializadas. Los tubérculos parecen estar sanos, pero diseminarán la enfermedad en donde se siembren. Pueden comerse, ya que los mamíferos son inmunes al organismo y en su forma latente no alteran el sabor ni el valor nutritivo de los tubérculos. Esto último puede parecer una bendición, pero las bacterias pueden sobrevivir el recorrido por el sistema digestivo. Ni las plantas de tratamiento de aguas servidas les hacen daño, y cuando llegan al agua, las plantas acuáticas les sirven como punto de escala para su posterior proliferación conforme se dispersan por medio de sistemas de irrigación y regresan nuevamente a la tierra (CIP, 2004). La marchitez bacteriana persiste en el suelo durante todo el año. También se propaga de manera eficiente en suelos infectados, así como en el agua de riego. En general, la raza 3 sobrevive mejor bajo condiciones de alta humedad en suelo y temperatura baja; asimismo se disminuye su virulencia, cuando las temperaturas exceden los 35 ° C. La enfermedad es más severa en 24-35 ° C y rara vez se encuentra en climas templados donde la temperatura media de invierno para cualquier mes cae por debajo de 10 ° C (Stansbury y col., 2001).

Manejo de la enfermedad

El uso de semilla sana y la siembra en suelos libres del patógeno son los principales componentes para controlar y erradicar la marchitez bacteriana. Sin embargo, muchos son los factores adicionales que influyen en la incidencia de la bacteria tales como las condiciones ambientales (la temperatura y la humedad del suelo), la rotación con plantas no hospedantes, el uso de variedades menos susceptibles y de prácticas culturales (saneamiento y control de nematodos) (Rueda y col., 2006). Por lo tanto, sólo una estrategia de control integrado puede tener éxito para reducir la incidencia de la *R. solanacearum*, e incluso erradicarla. Esta estrategia es específica para cada lugar. Delos factores de control existentes, se deben seleccionar los que son factibles, apropiados y latente para descartar la presencia de *R. solanacearum*. En las áreas endémicas, donde hay escasez de tubérculos-semilla

sanos, una alternativa es el uso de semilla sexual de papa (TPS) o esquejes provenientes de micropropagación bajo condiciones controladas (French y col., 1995). Si un cultivo ha sido infectado con *R. solanacearum*, se debe evitar la siembra de papa u otros cultivos hospedantes por lo menos durante dos años. Se puede efectuar una rotación con cereales o pastos para eliminar el inóculo del suelo. La duración de la rotación necesaria para eliminar el inóculo varía, ya que la supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo depende de las condiciones ambientales (temperatura, humedad) y de las características del suelo (factores bióticos y abióticos). Después de la cosecha de un cultivo infectado con *R. solanacearum*, se deben eliminar del campo los rastrojos de papa y quemarlos. La maquinaria, los vehículos, los cascos de los animales usados para la tracción y los zapatos del personal que provienen de un campo infestado deben ser lavados por lo menos con agua antes de ingresar a otro campo. Se debe evitar el flujo del agua de un campo infestado hacia los campos vecinos. En las áreas infestadas, es preferible usar el agua de pozo en vez de las aguas provenientes de los ríos o canales de irrigación. Además, se debe evitar el transporte de tubérculos-semilla o papa de consumo provenientes de áreas infectadas para evitar la diseminación de la enfermedad. Aunque muchas veces es difícil controlar la comercialización de papa, ésta es una de las mejores medidas disponibles de prevención (French, 1994). Una vez que se haya detectado la enfermedad en un área, debe ser declarada en cuarentena para evitar la diseminación de la *Rs* hacia zonas no infectadas. Las medidas cuarentenarias restringen la producción de semilla de papa y prohíben la comercialización de papa de consumo hacia los países o regiones que no han sido afectadas con *Rs*. Esta situación afecta la economía de las regiones en cuarentena (French, 1994).

Importancia económica de *Ralstonia solanacearum*

Esta bacteria es responsable de pérdidas considerables que se producen en muchos cultivos hortícolas y en algunas solanáceas como es el cultivo de la papa donde deja inutilizadas grandes extensiones de tierras contaminadas con el agente (Iglesia et al., 2008). *Ralstonia solanacearum*, está distribuida por todo el mundo y tiene un amplio rango de hospedantes con variaciones fenotípicas y genotípicas, representando una grave amenaza para las producciones (Wicker et al., 2002). Cuando esta bacteria se instala en un país o región, las posibilidades de diseminación son múltiples (suelo infectado, aguas, labores culturales, etc.), ya que es un patógeno de suelo y persiste en él por muchos años aún sin el hospedante específico. Es importante considerar el origen de las semillas portadoras de las primeras infecciones para aplicar las medidas fitosanitarias. Entre los aspectos más importante en relación con esta enfermedad se encuentra el diagnóstico y detección del agente causal, para ello se usan técnicas serológicas (ELISA).

En Cuba la enfermedad es cuarentenada, pero se presentan las condiciones propicias de humedad y temperatura para el desarrollo y sobrevivencia de esta bacteria. Actualmente la padecen todas las islas del Caribe y países del continente Americano, provocando grandes daños anualmente en la cosecha o dejando tierras sin poder ser utilizadas por estar contaminadas (Álvarez y col., 2008). Se han informado pérdidas de un 29% en la producción a causa de *Ralstonia solanacearum*. En este cultivo, en Indonesia, las pérdidas varían de 24% a 32% en tierras bajas y de 15% a 26% en las variedades transplantadas. Las pérdidas causadas por la enfermedad, en general son enormes, pero no pueden ser estimadas con certeza debido a que hasta el año 2008, su impacto en la agricultura de subsistencia ha sido elevado, aunque indocumentado, y por el abandono en muchas partes del mundo de cultivos susceptibles a la marchitez (González y col., 2009). En la actualidad, toda Europa occidental mantiene un estricto sistema de cuarentena, pruebas y certificación. Recientemente, la llegada a los Estados Unidos de cepas parecidas a las de la papa en *geranium* planteó una amenaza inmediata y seria a la enorme industria estadounidense de la papa. Contener los brotes de marchitez bacteriana en Europa y los Estados Unidos costó millones, mantener una cuarentena para esta enfermedad implica un gasto enorme y recurrente, pero hay demasiado en juego. Una industria gigantesca, el suministro de un alimento básico y muchos sustentos dependen de la viabilidad sostenida de la producción de papa. Y en los países en desarrollo éste suele ser un asunto de vida o muerte (Prior y col., 2005).

La marchitez bacteriana de la papa (*Ralstonia solanacearum*), es un grave problema económico en Egipto, para investigar la supervivencia del patógeno y determinar el tiempo necesario los campos infestados son sometidos a medidas de cuarentena (Messiha y col., 2009). La mancha bacteriana de la papa ha sido reportada en 10 países en África, Burundi, Egipto, sur África, Tanzania y Uganda ocasionando serios problemas económicos (Elphinstone, 1996). Las plantas de papa han presentado síntomas de podredumbre parda, en algunos campos de Portugal, y se confirmó su existencia. Se implementó un programa nacional para vigilar a *Ralstonia solanacearum* (Cruz y col., 2008). *Ralstonia solanacearum* biovar 2, el agente causante de la podredumbre parda de la papa, ha sido responsable de grandes pérdidas de cultivos en el noroeste de Europa durante la última década. Los conocimientos sobre el comportamiento ecológico de *R. solanacearum* y sus antagonistas se requiere para desarrollar los procedimientos adecuados para su control y erradicación en los campos infestados (Van y col., 2002). Los brotes de la enfermedad de la podredumbre parda causada por *Ralstonia solanacearum* raza 3 se han traducido en pérdidas de 291 toneladas de papa, un valor aproximado de USD 171 000 desde el año 2005 más de tres temporadas de cultivo. La propagación gradual de la enfermedad de cuarentena

en Mauricio ha merecido un estudio de la población del patógeno (Khoodoo *et al.*, 2009). *Ralstonia solanacearum* causa la marchitez bacteriana de la papa, principalmente en cultivos de papa en Irán. Se encontró que *R. solanacearum*, raza 3, biovar 2, tiene 100 % de similitud a la cepa de biovar 2 de la papa en el Perú. Este es el primer informe de la presencia de *R. solanacearum* biovar 2 en Irán y el primer informe de la existencia de este grupo de *R. solanacearum* fuera de América del Sur (Nouri *et al.*, 2009).

Detección de *Ralstonia solanacearum*. Descripción de *Ralstonia solanacearum*

R. solanacearum es un bacilo Gram negativo, de 0.5 a 0.7 μm de ancho por 1.5 a 2.0 μm de largo. Presenta motilidad gracias a la presencia de uno a cuatro incluso más flagelos polares (Figura 5) (Jain *et al.*, 1998).

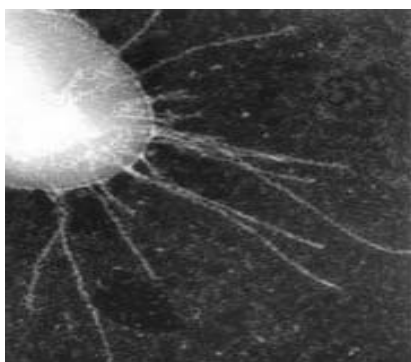


Figura 5. Micrografía de *R. Solanacearum*.

R. solanacearum, es una bacteria Gram negativa perteneciente a la familia de las Pseudomonadáceas. Se trata de un bastoncillo móvil por medio de un flagelo polar, aerobio estricto, no fluorescente; que posee una oxidasa que metaboliza la glucosa por vía oxidativa y que almacena poli-B- hidroxiburato en su citoplasma a partir de un medio rico en carbono. La especie ha sido subdividida en 5 biovars. La raza 1, afecta a las solanáceas y plataneras. La raza 2, provoca la enfermedad del moko en plátano. La raza 3, en papa y tomate. También la papa es afectada por la raza 1 en las zonas tropicales de baja altitud y por la raza 3 en zonas de montaña (Seal *et al.*, 1992). *Ralstonia solanacearum* es el agente causal de la mancha bacteriana que infecta más de 200 plantas de diferentes especies, que abarcan 50 familias botánicas. La raza 3, es responsables de importantes pérdidas económicas a la industria de la papa y amenazan la producción de cultivos ornamentales en todo el mundo (Guidot *et al.*, 2009).

Características bioquímicas de *Ralstonia solanacearum*

Se tienen los medios selectivos, entre estos están: Agar TZC (Medio Tetrazolio de Kelman) y SMSA. Éstos

son los más recomendados para el aislamiento de *R. solanacearum*, porque son muy específicos e incluso con algunas modificaciones, que podrían incluir la adición de antibióticos, permiten el crecimiento únicamente de esta bacteria. Además los medios se podrían usar para la caracterización de la raza y el biovar con que se cuenta (Directiva del consejo UE, 1998). En el medio de TZC, las colonias típicas de aislados virulentos de *R. solanacearum* son de color crema, planas, irregulares, con anillos de color rojo sangre en el centro. Las colonias avirulentas de *R. solanacearum* son butirosas y de color rojo fuerte (Anon, 1997). En el medio SMSA, las colonias típicas de los aislados virulentos de *R. solanacearum* son de color blanco lechoso, planas, irregulares y fluidas, y presentan centros de un marcado color rojo sangre. Las formas avirulentas de *R. solanacearum* desarrollan colonias menos fluidas, cuyo color oscila entre completamente rosa y rojo en el medio SMSA (Engelbrecht, 1994).

Detección de *Ralstonia solanacearum* mediante pruebas serológicas

Para conocer las propiedades antigénicas de *Ralstonia solanacearum* se utiliza la técnica ELISA (Enzyme Linked Inmunosorbent Assay), la cual es una prueba confiable y rápida para la detección de bacterias fitopatógenas, ya que permite detectar, en órganos de plantas, cantidades muy pequeñas de estos agentes y además permite estimar su concentración en el tejido enfermo (Rueda *et al.*, 2009). La sensibilidad de ELISA es superior a otras pruebas de diagnóstico, por lo que ha sido extensamente utilizada para la detección de patógenos en humanos, animales y plantas (Flores, 1997). El ensayo denominado sándwich de doble anticuerpo (DAS) es la variante más comúnmente utilizada de ELISA y constituye en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno, los antígenos o fitopatógenos reaccionan con los anticuerpos adheridos a la placa (Cruz, 1997).

Diagnóstico molecular de *Ralstonia solanacearum*

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), es una técnica de biología molecular descrita en 1986 por Kary Mullis, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta de partir de una única copia de ese fragmento original, o molde (Patrik y Rainey, 1999). La PCR en tiempo real mejora la sensibilidad de la detección y la especificidad y proporciona una herramienta importante para la detección rutinaria de *R. solanacearum* en muestras de suelo y para estudios epidemiológicos y ecológicos (Patrik and Rainey, 1999). PCR, facilita la detección de patógenos en pequeñas cantidades en el interior de un tejido vegetal. El método es de gran importancia en la

gestión de la enfermedad de la podredumbre parda o mancha bacteriana de la papa. Es suficiente para ser incluida en los programas control integrado de la enfermedad de marchitamiento (Grover y col., 2009). PCR mejora la sensibilidad de la detección de *Ralstonia solanacearum* y proporciona una herramienta importante para su detección rutinaria de muestras de agua del medio ambiente y para estudios epidemiológicos (Caruso y col., 2003).

Interacciones entre *Ralstonia solanacearum* y sus plantas huésped

Las bacterias de *Ralstonia solanacearum* presentan una capa de protección contra la deshidratación. Esa capa esta formada por exopolisacáridos (EPS), los cuales están formados en su mayoría por ácidos orgánicos y carbohidratos. Los EPS pueden actuar como intercambiadores de iones, concentrando minerales y nutrientes, así como vinculantes de compuestos tóxicos. Particularmente en el contexto de la interacción patógena con células vegetales, los EPS pueden impedir el reconocimiento de la planta de papa hacia el patógeno por el sistema de defensa de la planta; generalmente realizándolo por bloqueo de aglutininas o lectinas o bien desintoxicando fitoalexinas o especies reactivas de oxígeno. Además, los EPS también median en la adhesión a la superficie de la raíz promoviendo la infección y posterior colonización, lo cual es un requisito previo para el desarrollo de la enfermedad. El peso molecular de los EPS en el género *Ralstonia* varía de uno a 10 MDa. Actualmente los estudios de EPS están siendo encaminados a detectar si existe una región y que papel desempeña realmente en la patogenicidad (Holger et al., 1999).

Por otra parte se han identificado enzimas extracelulares que actúan en el reconocimiento de las primeras etapas de la infección. Enzimas extracelulares como celulasas y pectinasas capaces de degradar las paredes de las células vegetales. Asimismo las enzimas extracelulares secretadas por la bacteria también contribuyen al marchitamiento debido a la degradación del xilema y células adyacentes y parenquimatosas. Entre otro factor de interacción de la bacteria con el huésped figura un plásmido nativo donde al parecer esta involucrado el gen de patogenicidad (Holger y col., 1999).

Factores que afectan la supervivencia de *Ralstonia solanacearum* en el agua

La enfermedad bacteriana comúnmente conocida como marchitez bacteriana de la papa *Ralstonia solanacearum* puede causar daños considerables ya sea directamente por las pérdidas de cultivos durante el crecimiento y el almacenamiento, rechazo de los lotes de semillas infectadas, o en particular, debido a los gastos derivados de

las medidas adoptadas para impedir una nueva difusión de este organismo de cuarentena. Un solo tubérculo infectado con *Ralstonia solanacearum* puede ser suficiente para dar lugar a graves consecuencias y a daños económicos, debido a una tolerancia nula para la enfermedad (Mills et al., 1997).

El patógeno es de amplia distribución geográfica; informes indican que está distribuida en treinta un países de los cinco continentes. Sólo a través de una intensa y bien estructurada campaña de erradicación, la diseminación de *Ralstonia solanacearum* puede ser reducida. Este patógeno es conocido como un organismo biotrófico que puede desarrollarse en plantas hospederas. Sin hospedantes la bacteria puede sobrevivir si esta se limita a una baja actividad metabólica y con una baja competencia microbiana (Van der Wolf y col., 2002).

Actualmente, se le ha estado dando importancia al agua de riego como un factor de sobrevivencia, sobre todo aquella que proviene de partes superficiales y que es utilizada para el riego de un cultivo de papa o como disolvente para agentes de protección de los cultivos. Asimismo, la contaminación de aguas superficiales con *Ralstonia solanacearum* es más peligrosa si las malezas sobre todo aquellas solanáceas infectadas se desarrollan a las orillas de los ríos (Mills y col., 1997). Lo anterior ha sido corroborado con especies bacterianas como *Ralstonia solanacearum*, organismo causal de la "vaquita" o "podredumbre parda de la papa", que se le ha visto asociada con malas hierbas perennes que crecen a lo largo de ríos jugando un papel importante en la epidemiología de esta enfermedad (Van der Wolf et al., 2002).

Métodos de control de *Ralstonia solanacearum*. Control químico de *Ralstonia solanacearum*

El método de control de patógenos más generalizado en la agricultura, especialmente en la lucha contra enfermedades fungosas y bacterianas, es el químico. El primer fungicida, descubierto en 1882, se conoció como la pasta bordelesa (Alexopoulos y col., 1996), y marcó el comienzo del control químico de las enfermedades en plantas. El control químico de la enfermedad en tomate provocadas por *Ralstonia solanacearum* se basa en el uso de tratamientos con productos cúpricos de oxiclورو de cobre, sulfato cúprico, óxido cuproso, o Kasugamicina. Así como rociar plantas con estreptomycin antes del trasplante y aplicar mezclas de mancozeb y cobre tras el trasplante y antes de la incidencia de la enfermedad (Bolaños, 2006). Tales métodos de control previenen la multiplicación bacteriana pero no son siempre controles adecuados del inóculo llevado en la semilla. Desafortunadamente, el uso frecuente de pesticidas y los antibióticos contra la planta y bacterias patógenas ha llevado a la selección de poblaciones bacterianas resistentes

contra los antibióticos. Aunado a lo anterior existen restricciones gubernamentales en el uso de los compuestos de cobre, que son ampliamente utilizados para el control de las enfermedades bacterias en la planta, estos compuestos han sido limitados en los países de la unión europea por la regla 473/2002 debido a su impacto en el ambiente, y por su toxicidad para el hombre, provocan irritación en la piel, en el tracto respiratorio y los ojos. Además son de un alto costo no se consigue fácilmente y se dispone de un limitado número de productos y en su mayoría afectan a organismos benéficos (Bolaños, 2006).

Control biológico

El control biológico es una de las tantas herramientas disponibles para utilizar en el programa de manejo integrado de enfermedades de las plantas. En años recientes, se han incrementado los casos exitosos de control biológico el cual se basa en emplear un agente de control con propiedades similares al patógeno y aprovechar una serie de interacciones ecológicas: competencia, antagonismo o antibiosis (Ducrot, 2005). El desarrollo de agentes de control biológico es más complicado que el control químico, ya que introduce un tercer ser vivo en la interacción. Los mecanismos de control biológico para bacterias son básicamente los mismos que para el control biológico de hongos. Uno de los más frecuentes es la producción de metabolitos, capaces de actuar específicamente sobre las bacterias o de amplio espectro o de bacteriocinas activas frente a microorganismos de un cierto género o especie (Fravel, 1989). El control biológico de la gobernadora (*L. tridentata*) ha probado tener efectos bactericidas al evaluar in vitro diversas dosis del extracto etanólico contra las bacterias fitopatógenas *Pseudomonas solanacearum*, *Erwinia amylovora*, los extractos de *L. tridentata* mostraron una excelente acción bactericida contra *Pseudomonas solanacearum* (Velásquez, 1983), indicando que en el Norte de la República Mexicana, esta planta se distribuye ampliamente y puede jugar un importante papel en su producción (CONABIO, 2006). En Okinawa, Japón; se analizaron 14 plantas silvestres, por su actividad microbiana contra *Ralstonia solanacearum*.

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son biodegradables, amigables con el ambiente y poseen bajos o inexistentes niveles de toxicidad, lo que permite que sean utilizados en cualquier ambiente (Cheng et al., 2009). Las plantas tienen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias aromáticas, siendo la mayoría fenoles o sus derivados oxígeno-sustituídos. En general son metabolitos secundarios (es decir, que no tienen un papel esencial en el metabolismo de la planta) de acuerdo a Walton y Brown (1999). Estos productos nombrados comúnmente esencias son sustancias olorosas volátiles contenidas normalmente en los vegetales. Su

volatilidad los diferencia de los aceites fijos que producen los lípidos, los cuales son particularmente abundantes en las Retaceas, Umbelíferas, Mirtáceas y Labiadas (Torres, 2004). Son compuestos del agradable olor de determinadas plantas y algunos con poder antimicrobiano como el mentol obtenido de la menta (*Menta piperita*) y la capsaicina de la planta conocida como pimiento rojo (*Capsicum annuum*) o chile (Figura 6) (Domingo y López, 2003).



Figura 6. Planta de menta y chile.

Mecanismos de acción de aceites esenciales contra *Ralstonia solanacearum*.

Los aceites esenciales han demostrado poseer características insecticidas, antioxidantes, anti-bacteriano, antifúngicos, antiviral (Burt, 2004; Kordali et al., 2005). Se ha demostrado que los géneros *Origanum* (orégano) y *Thymus* (Tomillo), Cinnamom (Canela), tienen propiedades antioxidantes, relacionadas con los compuestos fenólicos, carvacrol y el timol que pueden ser utilizados bajo ciertas condiciones como fungicidas y bactericidas, para inducir la lisis rápida de la célula bacteriana (Figura 7) (Basim et al., 2004). Los mecanismos de acción de los diversos compuestos orgánicos de las plantas son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles se atribuye a la oxidación de compuestos en la célula del carvacrol; se ha reportado que se encuentra presente en aceite esencial de orégano en un 60 a 70% y en tomillo 45%, la inhibición de crecimiento de muchos patógenos por carvacrol ha sido reportada en varios artículos sin embargo, no se ha definido el mecanismo de acción de este (Cowan, 1999).

El aceite de tomillo puede generar un rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos (Oussalah, 2006). Los triterpenos pueden actuar siguiendo diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma celular provocando su muerte (Pelczar y Reid, 1992). De los alcaloides se ha postulado que se intercala con el ADN, el de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999). Otro estudio reporta que los componentes del aceite esencial interfieren



Figura 7. Plantas de orégano, tomillo y canela para Aceites esenciales.

con las funciones de permeabilidad de membrana celular (Lambert y col., 2004).

En la búsqueda de sustancias naturales que permitan desarrollar nuevas estrategias para controlar y eliminar de plagas se han realizado numerosas investigaciones con aceites esenciales, y se ha observado que actúan como bio-controladores debido a la presencia de metabolitos secundarios los cuales están implicados en el control biológico contra organismos fitopatógenos, y en ciertos casos, activando procesos de defensa en la planta, brindando una protección preventiva (Castillo, 2004; Kagale et al., 2004; Ducrot, 2005). Esos metabolitos son las fracciones líquidas volátiles que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas; por lo general son mezclas complejas de hasta 100 componentes, entre ellos: terpenoides, fenoles aromáticos, éteres, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma característico de la planta donante (Batish et al., 2008; Shiva, 2007).


Los aceites esenciales son biodegradables, amigables con el ambiente y poseen bajos o inexistentes niveles de toxicidad, lo que permite que sean utilizados en cualquier ambiente (Cheng et al., 2009). Lo anterior se ha reflejado en el interés que han mostrado los investigadores para obtener nuevos conocimientos sobre el potencial de las plantas aromáticas, sobre las bacterias fitopatógenas, como se describe en la siguiente investigación donde se evaluó la actividades antibacterianas de los aceites esenciales de las plantas medicinales contra el crecimiento del *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* utilizando los aceites esenciales obtenidos de las plantas de orégano (*Origanum syriacum*), tomillo (*Thymra spicata*), menta (*Mentha spicata*) y lavanda (*Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*). El resultado indicó que el aceite esencial del tomillo fue el más eficaz de inhibir el crecimiento de *Cmm*, seguido por los aceites de orégano, menta y lavanda (Soylu et al., 2003). Los aceites esenciales derivados de plantas como el timol y la palmarosa son biofumigantes efectivos contra *R. solanacearum* en invernaderos, pero se necesitan evaluaciones en campo antes de su uso práctico para el manejo de la enfermedad (Laurila et al., 2003; Pradhanang et al., 2005).

Conclusiones

Solanum tuberosum, figura entre los principales cultivos proveedores de alimento humano. Desafortunadamente, durante el desarrollo fenológico de la papa, se encuentra sujeto a la participación de macro y microorganismos que afectan su productividad. Entre los microorganismos de orden fitopatológico, resalta la enfermedad denominada "marchitez bacteriana", la cual está generada por el agente causal de *Ralstonia solanacearum* anteriormente *Pseudomonas solanacearum*. México es un país importador de semilla procedente de Estados Unidos de América y Canadá, principalmente, las probabilidades de una eventual introducción de *Ralstonia solanacearum* son significativas, especialmente en áreas con amplias extensiones de papa. La presente revisión, nos orienta a ampliar el conocimiento sobre la epifitología de *Ralstonia solanacearum* ya que la importancia del conocer la biología de cualquier agente causal de enfermedades juega un papel primordial para evitar un manejo inadecuado cuando de epidemias en nuevos suelos agrícolas se trate. Las diferentes técnicas de diagnóstico en el material de siembra, aunado al conocimiento bioquímico y fisiológico de la bacteria, aumentan las posibilidades de lograr el estatus libre de patógenos en los campos agrícolas de nuestro país. La situación ideal es la generación de un entorno libre de patógenos utilizando materiales de siembra sin patógenos o resistentes a los patógenos o enfermedades, pero esta situación no es siempre posible en la práctica. Por lo tanto, es importante emplear estrictos esquemas de certificación a través de diversas rutas que incluyen: (i) detección, con la posterior destrucción del material infectado o contaminado de la cadena de producción; (ii) sistemas producción de material libre de patógenos; (iii) desinfección superficial de plantas o semillas contra patógenos bacterianos epífitos; y (v) evitación o descontaminación de los factores de producción contaminados, tales como el sustrato, suelo o agua de riego.

Agradecimientos

Al Fondo Sectorial de Investigación en Materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Filogenéticos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

(Conacyt) y Secretaria De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa) por la propuesta aprobada: "Detección De Enfermedades Bacterianas de Importancia Cuarentenaria En Material Vegetativo De Importación En Zonas Agro-Productoras" con Clave de Registro: 12067. Asimismo se agradece a la Fundación Produce-Sonora, por el proyecto aprobado: "Estrategias de control para organismos fito-patógenos que afectan la producción de hortalizas en la región de Guaymas y costa de Hermosillo y/o Tecnologías de control para organismos que afectan la producción de Solanaceas en el estado de Sonora". 

Bibliografía

- Alexopoulos, C., C. Mims y M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. 4ta ed. Wiley. Nueva York, EEUU. p. 869.
- Álvarez, E., A. Iglesia., A. García y E. Blanco. 2008. Optimización de métodos serológicos para la detección de *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi. Rev. Protección vegetal. 23 (1):10.
- Anon, M. 1997. Intermin testing scheme for the diagnosis, detection and identification of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in potatoes. Publication 97/64/EC, Official Journal European Communities. 273:1-25.
- Aphis y PPQ, 2004. New Pest Response Guidelines *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2; Southern wilt of Geranium. Editado por Joel Floyd. Riverdale, USA. USDA. p.19.
- Basim, E., H. Basic., E. R. Dikcstein y J. B. Jones. 2004. Bacterial Canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* on greenhouse-grow tomato in the Western Mediterranean region of Turkey. Plant Disease. 88:1048.
- Batish, D., H. Singh., R. Kohli y S. Kaur. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecol. Manage. In Press. Doi:10. p. 1016.
- Bolaños, C. J. 2006. El cultivo de papa. En revista: de riego, p-14.
- Boudazin, G., A. C. LeRoux., K. Josi., P. Labarre and B. Jouan. 1999. Design of division specific primers of *Ralstonia solanacearum* and application to the identification of European isolates. European Journal of Plant Pathology. 105:373-380.
- Bowman, J. E and L. Sequeira. 1982. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in potato:infectivity titrations In relation to multiplication and spread of the pathogen. Am. Potato. J. 59:155-164.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology. 94: 223-253.
- Castillo, J. 2004. Determinación de Metabolitos Secundarios en Plantas Silvestres del Parque Nacional Terepaima, Municipio Palavecino, estado Lara. Tesis. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Venezuela. p. 103.
- Caruso, P., M. T. Gorris., M. Cambra., J. L. Palomo., J. Collar and M. M. López. 2002. Enrichment double-antibody sandwich indirect enzyme-linked immunosorbent assay that uses a specific monoclonal antibody for sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in asymptomatic potato tubers. Appl. Environ. Microbiol. 68:3634-3638.
- Caruso, P., E. Bertolini., M. Cambra and M. M. López. 2003. A new and sensitive co-operational polymerase chain reaction for rapid detection of *Ralstonia solanacearum* in water. Journal of Microbiological Methods. 55:257-272.
- CIP. 2004. Informe anual 2004: Centro internacional de la papa. http://www.cipotato.org/publications/annual_reports/2004spa/ar2004_06.asp.18/03/2010.
- Cruz, L., M. Eloy., F. Quirino and H. Carrinho. 2008. *Ralstonia solanacearum* biovar 1 associated with a new outbreak of potato brown rot in Portugal. Phytopathologia Mediterranea. 47:87-91.
- Cruz, F. M. 1997. Ensayo de Inmoadsorción con Enzimas Ligadas (ELISA) para la detección de virus fitopatógenos. En: manual de métodos de detección e identificación de fitopatógenos. Departamento de fitopatología. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- CONABIO. 2006. Capital natural y bienestar social. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, México. p. 17.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 10:564.
- Cheng, S., J. Liu., C. Huang., y. Hsui., W. Chen and S. Chang. 2009. Bioresource Technology. 100:457-464
- Delgado, L., A. García and R. García. 1999. Marchitez bacteriana del tomate causado por el biovar 2 de *Ralstonia solanacearum* en algunas localidades del estado Mérida, Venezuela. Forest. 43(2):183-189.
- Directiva 98/57/ce del consejo UE. 1998. Método de diagnóstico e identificación de *Ralstonia solanacearum*. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. España. Julio. 20:1-30.
- Domingo, D. y B. M. López. 2003. Plantas con actividad antimicrobiana. Rev. Esp Qimoterap. España. 16(4):385-393.
- Ducrot, P. H. 2005. Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticida activity of natural products from higher plants. pp. 47-58.
- Elphinstone, J. G. 1996. Survival and possibilities for extinction of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in cool climates. Potato Res 39:403-410.
- Engelbrech, M. 1994. Modification of a semi-selective medium for the isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum*. Bacterial Wilt Newsletter. 10:3-5.
- French, E. R., L. Gutarra., P. Aley and J. Elphinstone. 1995. Culture media for *Pseudomonas solanacearum* isolation, identification and maintenance. Phytopathology. 30:126-130.

- French, E.R. 1994. Strategies for integrated control of bacterial wilt of potatoes. In *Bacterial wilt: the disease and its causative agent Pseudomonas solanacearum* (eds. Hayward, A. C. and Hartman, G. L.). p. 199-207.
- Flores, M. C. 1997. Ensayo de Inmunoadsorción de Enzimas Ligadas (ELISA). México. p. 1.
- Fravel, D. R. 1989. Role of antibiotics in the biocontrol of plant disease. *Annual Review of Phytopathology*. 26:75-91.
- Iglesia, A., E. Álvarez., Y. Martínez y A. García. 2008. Diagnóstico molecular de la marchitez bacteriana. *Rev. Protección vegetal*. 23(2):75-79.
- Jain, R. K., S. S. Pappu, H. R. Pappu, A. K. Culbreath and J. W. Todd. 1998. Molecular diagnosis of tomato spotted wilt tospovirus infection of peanut and other field and greenhouse crops. *Plant Dis*. 82:900-904
- Gabor, B y W. Wiebe. 1997. Enfermedades del tomate. California, USA. *Seminis Vegetable Seed Inc.* p. 92.
- García, R., A. García and L. Delgado. 1999. Distribución, incidencia y variabilidad de *Ralstonia Solanacearum*, agente causal de la marchitez bacteriana de la papa en el estado de Mérida. *Bioagro*. 11(1):12-23.
- Gregory, P y H. Andrade. 1996. Principales enfermedades, nematodos e insectos de la papa. Ed. Stella. Lima-Perú. pp.7 y 8.
- González, I., Y. Arias y B. Peteira. 2009. Interacción planta-bacterias fitopatógenas: caso de estudio *Ralstonia solanacearum*- plantas hospedantes. *Rev. Protección veg*. 24(2):69-80.
- Grover, A., W. Azmi., S. M. P. Khurana and S. K. Chakrabarti. 2009. Multiple displacement amplification as a pre-polymerase chain reaction (pre-PCR) to detect ultra low population of *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuchi et al. (1996). *Letters in Applied Microbiology*. 49(5):539-543.
- Guidot, A., M. Elbaz., S. Carrere., M. L. Siri., M. J. Pianzola., P. Prior and C. Boucher. 2009. Specific Genes from the potato brown rot Strains of *Ralstonia solanacearum* and Their Potential Use for Strain Detection. *Phytopathology*. 99(9):1105-1112.
- Hernández, Y., N. Mariño., G. Trujillo and C. U. de Navarro. 2005. Invasión de *Ralstonia solanacearum* en tejidos de tallos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Rev. Fac. Agron*. 22(2):185-194.
- Holger, J., B. Rainer, A. Burger, J. Ahlemeyer and R. Eichenlaub. 1999. Interaction between *Clavibacter michiganensis* and its host plants. *Environmental Microbiology*. 1 (2), 113-118.
- Kagale, S., T. Marimuthu., B. Thayumanavan., R. Nandakuman and R Samiyappan. 2004. Physiological and Molecular Plant Pathology. 65:91-100.
- Khoodoo, M. H. R., E. S. Ganoo and A. S. Saumtally. 2009. Molecular Characterization and Epidemiology of *Ralstonia solanacearum* Race 3 biovar 2 Causing Brown Rot of Potato in Mauritius. *J Phytopathol*. 10:1-10.
- Kordali, S., A Fakir, A. Mavi and A. Yildirim. 2005. Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from three Turkish *Artemisa* Species. *J. Agric. Food. Chem*. 53:1408-1416.
- Lambert, R. J., G. W. Hanlon y S. P. Denyer. 2004. The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*, *J Appl Microbiol*. 96(2):244-253.
- Laurila, J., M. C. Metzler, C. A. Ishimaru y V. M. Rokkaa. 2003. Infection of plant material derived from *Solanum acaule* With *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicum*: temperature as a determining factor in immunity of *S. Acaule* to bacterial ring rot. *Plant Pathology*. 52: 496-504
- Loarca, M. J. L. 1987. Estudio del patosistema *Solanum-Pseudomonas* y alternativas de control químico aplicado a semilla, en dos municipios del departamento de Quetzaltenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. P.64.
- López, T. J. G. 2004. Evaluación del solarizado para el control de *Ralstonia Solanacearum*, en el cultivo de tomate *Lycopersicum esculentum* en la aldea el tempisque, Agua Blanca, Jutiapa. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. p. 43.
- Messiha, N. A., A. H. C. Van Bruggen., E. Franz., J. D. Janse., M. E. Schoeman., A. J. Termorshuizen and A. D. Van Diepeningen. 2009. Effects of soil type, management type and soil amendments on the survival of the potato brown rot bacterium *Ralstonia solanacearum*. *Applied Soil Ecology*. 43:206-215.
- Mills, D., B. W. Russell and J. W. Hanus. 1997. Specific detection of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicum* by amplification of three unique DNA sequences isolated by subtraction hybridization. *Phytopathology* 87:853-861.
- Moctezuma, G. R. 2006. Relevancia de la papa en México. En revista: productores de Hortalizas. Ed. Meister. México. p. 16.
- Nouri, S., M. Bahar and M. Fegan. 2009. Diversity of *Ralstonia solanacearum* causing potato bacterial wilt in Iran and the first record of phylotype II/biovar 2T strains outside South America. *Plant Pathology*. 58: 243-249.
- Ooshiro, A., K. Takaesu., M. Natsume., S. Taba., K. Nasu., M. Uehara and Y. Muramoto. 2004. Identification and use of a wild plant with antimicrobial activity against *Ralstonia solanacearum*, the cause of bacterial wilt of potato. *Weed Biology and Management*. 4:187-194.
- Orozco, M. E. F. 2004. Colonización de raíces de malezas por *Ralstonia solanacearum*, biovars 1, 2 y 3. In métodos moleculares para diagnóstico de patógenos y mejoramiento para resistencia en vegetales. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. pp. 4-19.
- Oussalah, M. J. 2006. Diversity of plants vs *Ralstonia solanacearum* causing potato bacterial wilt *Food Prot*. 69:046-1055.
- Pastrik, K. H and F. A. Rainey. 1999. Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies

- michiganensis by Polymerase Chain Reaction-based techniques. *Journal of Phytopathology*.147:687-693.
- Pastrik, K. H and E. Maiss. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* in Potato Tubers by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Phytopathology*. 148:619-626.
- Pelczar, M. J y R. D. Reid. 1992. *Microbiología*. Ed. Pueblo y Educación. La Habana Cuba. p. 664.
- Pradhanang, P.M., P. Ji., M.T. Momol., S.M. Olson., J. L. Mayfield and J.B. Jones. 2005. Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Plant Dis*. 89:989-993.
- Pradhanang, P.M., M. T. Momol., S. M. Olson and J. B. Jones. 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Dis*. 87:423-427.
- Priou, S., L. Gutarra and P. Aley. 2006. An improved enrichment broth for the sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* (biovars 1 and 2A) in soil using DAS-ELISA. *Plant Pathology*. 55:36-45
- Prior, P. H., C. Allen and A. C. Hayward. 2005. Bacterial Wilt disease and the *Ralstonia solanacearum*:species complex. *The American Phytopathological Society*. p. 510.
- Rueda, P.E. O., M. A. H. Tarazón, F. A. Hernández, B. Murillo y J. L. García. 2006. Producción de Antisuero contra la Mancha Bacteriana del Fruto [*Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (Schaad, Sowell, Goth, Colwell y Webb) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters y De Ley] y detección en el Cultivo de Sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad.) en la Comarca Lagunera, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 24: (2) 129-135.
- Rueda-Puente Edgar Omar, Maricela Duarte Medina, Ana Gabriela Alvarado Martínez, Adrián Mauricio García Ortega, Mario Antonio Tarazón Herrera, Ramón Jaime Holguín Peña, Bernardo Murillo Amador, José Luís García Hernández, Arnoldo Flores-Hernández and Ignacio Orona-Castillo. 2009. *Clavibacter michiganensis* ssp *sepedonicus*: Una Enfermedad Bacteriana En El Cultivo De Papa (*Solanum Tuberosum* L.) En Sonora, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10 169 – 175.
- Seal, S. E., L. A. Jackson and M. J. Daniels. 1992. Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction amplification. *Appl. Environ Microbiology*. 58(11):3579-3761.
- Smith, J. J. and G. S. Saddler. 2001. The use of avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* to control bacterial wilt disease. pp.159-176.
- Smith, R. A., P Jones., J. G. Elphinstone and S. M. D. Forde. 1995. Production of antibodies to *Pseudomonas solanacearum*, the causative agent of bacterial wilt. *Food and Agricult. Immunol*. 7:67-79.
- Stansbury, C., S. McKirdy., A. Mackie and G. Power. 2001. Bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* - race 3 . Exotic threat to Western Australia. *Agriculture Western Australia*. No. 7. ISSN 1443-7783.
- Shiva, R. C. 2007. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Departamento de Sanidad y Anatomía de Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. p. 173.
- Soylu, S., E.M. Soyly., I.A. Bozkurt and A.D. Kaya. 2003. Antibacterial activities of essential oils from oregano, thyme, rosemary and lavender plants against *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, the causal agent of halo blight of bean. *Ovidius Univ. Ann. Med. Sci. Pharm*. 1:40-44.
- Swanson, J. K., J. Yao., J. Tans-Kersten and C. Allen. 2005. Behavior of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent infection of geranium. *Phytopathology*. 95:136-143.
- Torres, C. M. 2004. Investigación en la transformación secundaria de fruto, tubérculos, flores y hoja o tallo de especies pertenecientes al ecosistema andino. Informe técnico Jardín botánico. Subdirección de ciencias botánicas. Bogotá D. C. pp. 2-14.
- Walton, N. J and D. E. Brown. 1999. Chemical from plants. perspectives on plants secondary products. Imperial College Press.
- Watanebe, J. 2006. Informe final de apoyo al laboratorio de biotecnología de la FAUSAC. Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 50.
- Wicker, E., L. Grassart., D. Mian., R. Coranson., D. Duféal and C. Guilbaud. 2002. *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita moschata*, and *Anthurium* spp., new hosts of *Ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies). *Bact.Wilt Newsl*. 17: 20-21.
- Yabuuchi, E., Y. Kosako., I. Yano., H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. & *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiology and Immunology*. 39:897-904.
- Yu Q., A. M. Alvarez., PH Moore., F. Zee, M.S. Kim and A. de Silva. 2003. Molecular diversity of *Ralstonia solanacearum* isolate from ginger in Hawaii. *Phytopath*. 93:1124-1130.
- Van der Wolf, J. M., J. R. C. M. Beckhoven, A. Hukkanen, R. Karjalainen and P. Muller. 2005. Fate of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, the Causal Organismo Bacterial Ring Rot of Potato, in Weeds and Field Crops. *J. Phytopathology* 153, 358-365.
- Van, O., M. Cassidy., J. Kozdroj., J. T. Trevors and E. D. J. Van. 2002. polyphasic approach for studying the interaction between *Ralstonia solanacearum* and potential control agents in the tomato phytosphere. *Journal of Microbiological Methods*. 48:69-86.
- Velásquez, M. J. L. 1983. Evaluación del poder bactericida

o bacteriostático de la fracción etanólica de la resina de Gobernadora contra las bacterias fitopatógenas *Erwinia amylovora*, *E. atroseptica* y *Pseudomonas solanacearum*.

Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. p.57.