

ESPECIES Y SUB-ESPECIES DE ERWINIA, CAUSANTES DE PUDRICIÓN BLANDA Y PIERNA NEGRA EN LA PAPA CULTIVADA, EN EL ESTADO MÉRIDA-VENEZUELA

Rosaima García

FONAIAP-Mérida, Laboratorio de Fitopatología, Mérida-Venezuela

RESUMEN

Con el objeto de iniciar un programa para el manejo de las enfermedades conocidas como pudrición blanda del tubérculo y pierna negra de la papa, causadas por bacterias del género *Erwinia*, se caracterizaron a nivel de especies y sub-especies aislamientos provenientes de campos infectados en sectores de El Valle, Mucuchíes, Pueblo Llano, Bailadores, La Mucuy, Capaz y Piñango estado Mérida. Para tal fin se colectaron tallos de plantas sintomáticas, las cuales fueron macerados en bolsas plásticas con 5 ml de agua destilada estéril y a partir de las suspensiones obtenidas se realizaron siembras en placas petri que contenían el medio de cultivo Kelman sin tetrazolio, utilizando el método de cuadrículas. Las colonias puras se lograron en la segunda réplica. Para identificar el género, los aislamientos se sembraron en medios de cristal violeta pectato (CVP), extracto de carne-dextrosa-carbonato de calcio (YDC) y King B. y luego se realizaron las pruebas de reacción rápida de Gram con KOH 3%, crecimiento en el medio anaeróbico de Hugh y Leifson, licuefacción de gelatina y características de crecimiento. Las pruebas de patogenicidad se hicieron en plantas y en rodajas de tubérculos de papa Granola. La caracterización de especies y sub-especies se hizo mediante las pruebas bioquímicas de producción de ácido a partir de azúcares, sensibilidad a eritromicina, crecimiento a diferentes temperaturas, y en NaCl 5%, y la reacción de la fosfatasa. Los resultados demostraron que las *Erwinia* spp están presentes en todas las localidades muestreadas. De 15 aislamientos puros, 13 correspondieron a *E. carotovora* ssp. *carotovora*, uno (1) a *E. carotovora* ssp. *atroseptica* (La Mucuy) y uno (1) a *E. chrysanthemi* (Capaz). Lo anterior indica que las enfermedades investigadas son causadas principalmente por *E. carotovora* ssp. *carotovora*.

Palabras clave: Pudrición blanda, Pata negra, *Erwinia*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* ssp. *atroséptica*.

ABSTRACT

To initiate a program for the management of the known diseases as soft rot of the tuber and black leg of potato, caused by bacterias of the genus *Erwinia*, isolations species and sub – species were characterized. The isolates were obtained from infested fields in the sectores of El Valle, Mucuchíes, Pueblo Llano, Bailadores, La Mucuy, Capaz y Piñango from Merida state. For this purpose symptomatic stem of plants were sampled, branches were ground in plastic bags with 5 ml of distilled sterilized water and cultures were established in Petri dishes in the Kelman medium without tetrazolium, by the quadricle method. Pure colonies were obtained in the second replica. In order to identify the bacterial genus, isolates were cultured in the crystal violet pectate medium (CVP), yeast extract-dextrose-CaCO₃ (YDC) and King B. medium (KB). Also it was conducted rapid test reaction of Gram with 3% KOH, growth in anaerobic medium of Hugh and Leifson, gelatin liquefaction and growing characteristics. The pathogenicity test were conducted in potato plant and potato loafs tuber Granola variety. The species and sub species characterization was conducted by the biochemical tests acid production from sugares, sensitivity to erithromycine, growing at several temperatures, and 5%-10% NaCl, and the phosphatase reaction. The resulted, it was shown that the *Erwinia* spp is present in all the sampled localities. The 15 pure isolates, 13 were *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, one of, *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (La Mucuy) and one of *Erwinia chrysanthemi* (Capaz). This indicate which the diseases researched was by caused principally of *E. carotovora* ssp. *carotovora*.

Key words: Soft rot, Black leg, *Erwinia*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.), ocupa el cuarto lugar entre los principales cultivos alimenticios en el mundo (Horton, 1987). En Venezuela, ocupa el octavo lugar por la producción total y noveno lugar por

el valor económico de su producción (Ortega 1989,1988). Para el estado Mérida, es el cultivo de mayor importancia económica y de tradición hortícola. Para el año 1995, se sembraron 8.020,50

ha, aportando un 22% al valor de la producción vegetal del estado (MAC, 1995).

Existen innumerables factores que limitan la producción de papa, entre los cuales las enfermedades de origen bacteriano juegan papel preponderante, debido a las pérdidas que ocasionan.

En la papa cultivada en el estado Mérida las bacterias de mayor relevancia que han sido reportadas son: *Ralstonia* (= *Pseudomonas*) *solanacearum* E.F. Smith, agente causal de la marchitez bacteriana y *Erwinia* spp. causantes de la pierna negra y/o pudrición blanda del tubérculo (García, 1994). Estas bacterias representan un serio peligro para la continuidad del rubro, ya que producen infección latente en tubérculos-semillas y además, tienen capacidad de sobrevivir en el suelo dependiendo del manejo del cultivo, las condiciones edafoclimáticas y las especies o subespecies involucradas (Hooker, 1980).

La papa es afectada por tres especies de *Erwinia*: *E. carotovora* ssp. *atroséptica* (Eca), *E. carotova* ssp. *carotovora* (Ecc) y *E. chrysanthemi* (Echr). Estas bacterias pueden causar pudrición blanda en tubérculos almacenados o en tubérculos-semilla después de la siembra, y pierna negra en los tallos, dependiendo de la temperatura (Elphistone 1987; French y Gutarra, 1994).

Las especies del género *Erwinia*, tienen una distribución mundial, y por lo general se presentan donde quiera que se cultive papa. El rango de hospederos de *E. carotovora* ssp. *atroséptica* esta restringido a climas fríos, *E. chrysanthemi* es patógeno de numerosos cultivos tropicales y subtropicales, incluyendo rubros extensivos como el maíz, la piña y el arroz; mientras que *E. carotovora* ssp. *carotovora* esta distribuida en zonas tropicales y templadas. El número de hospederos de *E. carotovora* ssp. *carotovora* es mayor que el de *E. chrysanthemi* (Graham, 1972).

Las *Erwinias* pectolíticas que atacan los tubérculos y tallos de la papa no son patógenos agresivos, ya que sólo causan infección cuando existen factores predisponentes. Comúnmente se encuentran en estado latente en las lenticelas de los tubérculos, iniciándose la pudrición cuando a causa de la saturación del suelo por exceso de lluvias o de riego, se producen condiciones anaeróbicas. Sin embargo, cuando persisten las condiciones adversas para el cultivo, la infección avanza hasta los tallos ocasionando pudrición. Los tallos luego generalmente

adquieren una coloración oscura y debido a ello la enfermedad se denomina pierna negra o pata negra (Elphistone, 1987).

Debido a que la presencia de la bacteria en los campos productores trae consigo fallas en las siembras, pérdidas de cosechas e inconveniente en la comercialización del producto, existe la necesidad de generar un programa alternativo de manejo de la misma, siendo necesario iniciar un estudio de diagnóstico y caracterización del patógeno presente contra el que se deben apuntar estas medidas. En tal sentido el objetivo de esta investigación consistió en la caracterización de especies y sub-especies del grupo de *Erwinias*, que causan pudriciones blandas en el cultivo de la papa, en las principales localidades paperas del estado Mérida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

El muestreo se realizó en las principales zonas productoras de papa del estado Mérida: El Valle, Bella Vista, La Caña y La Culata, del Municipio Libertador (1.995-3.000 msnm), La Capellanía del Municipio Pueblo Llano (2.000 - 2.200 msnm), Bailadores del Municipio Rivas Dávila (1.744 msnm), La Mucuy del Municipio Santos Marquina (2.100 msnm), Capaz del Municipio Campo Elías (2.000 msnm), Timotes y Piñango del Municipio Miranda (2.030-3.500 msnm) y Mucuchíes del Municipio Rangel (3.100 msnm). Para determinar la incidencia por finca, se realizaron observaciones en zigzag, siguiendo las diagonales, y contabilizando las plantas sintomáticas cada cinco surcos.

Se colectaron tallos y/o tubérculos con síntomas característicos de la enfermedad: enanismo, amarillamiento, pudrición del tallo con apariencia de tinte negro (Figura 1) y pudrición blanda en tubérculos (Figura 2). De estos tejidos se cortaron trozos de 2 cm de longitud, se lavaron con agua destilada estéril y se sumergieron por 1 min en alcohol isopropílico al 95%, realizando posteriormente un flameado. El tejido fue macerado en bolsas plásticas utilizando 5 ml de agua destilada estéril; luego de esta suspensión se tomaron ansadas para realizar la siembra en el medio Kelman sin tetracolin (K-) mediante el método de la cuadrícula. Las placas se incubaron a 27 ± 1 °C por 48 h. La purificación de las bacterias se logro después de dos réplicas sucesivas.



Figura 1. Para negra causada por *E. carotovora* ssp. *carotovora* en siembra del municipio Rangel, estado Mérida.



Figura 2. Podredumbre blanda causada por *Erwinia* spp. en tubérculos de papa.

Para identificar el género *Erwinia*, los aislamientos se sembraron en los medios CVP, YDC y King B., se inocularon en rodajas de papa y paralelamente se analizaron las características de las colonias (forma, textura, tamaño, color y elevación) en el medio Kelman con y sin tetrazolio (K+ y K-

respectivamente) y en Agar nutritivo (AN), , crecimiento anaeróbico (Hugh y Leifson, 1953), reacción rápida de Gram con KOH 3% y licuefacción de la gelatina (Schaad, 1988). Los aislamientos obtenidos se conservaron a 16 ± 2 °C en tubos de ensayo con agua destilada estéril.

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad, se realizaron en plantas de papa Var. Andinita de 45 días de edad, las cuales estaban creciendo en bolsas de polietileno (5 kg) y que contenían un sustrato a base de fibra de coco, tierra negra de páramo y arena en proporción 1:2:1 el cual había sido esterilizado durante 2 h a 90°C. Las inoculaciones se hicieron aplicando las suspensiones bacteriales (106 células/ml) sobre las axilas de dos hojas medias. Las plantas tratadas se incubaron a 25°C en un cuarto con techo de zinc transparente. Igualmente se inocularon rodajas de tubérculos de papa Granola. Para ello se seleccionaron tubérculos sanos, los cuales primeramente se lavaron con agua destilada estéril y luego con alcohol isopropílico 95%, sometiéndolos inmediatamente a flameado. Seguidamente se cortaron rodajas de 2 mm de ancho, se colocaron sobre cápsulas Petri que contenían papel filtro humedecido y rejilla previamente esterilizada. La inoculación se realizó aplicando dos gotas de las suspensiones bacteriales de cada aislamiento (106 células/ml). Las placas se incubaron por una semana a 28°C. Se utilizaron cuatro rodajas por aislamiento, considerando positiva la reacción al observar pudrición en los tubérculos y marchitez en las plantas. A partir de las 24 h después de la inoculación, los materiales se examinaron periódicamente. Como testigos se utilizaron cuatro plantas y cuatro rodajas de papa tratadas con agua destilada estéril e incubadas bajo las mismas condiciones señaladas anteriormente.

Caracterización de especies y sub-especies

Para la caracterización de especies y sub-especies se realizaron análisis del crecimiento in vitro y pruebas bioquímicas estándar (Dye, 1969, Graham, 1972 Lelliot, 1974). Las pruebas fueron las siguientes: producción de ácido a partir de lactosa, maltosa, trehalosa, producción de gas a partir de D. glucosa; crecimiento en cloruro de sodio 5%, prueba de la fosfatasa, sensibilidad a eritromicina al 10% y 20% y crecimiento a de 3°, 6°, 28°, 30°, 26°, 37° y 45°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de *Erwinia* spp. en algunas localidades del estado Mérida

Los resultados obtenidos (Cuadro 1) demostraron que las *Erwinias* spp. se encuentran presentes en todos los sitios muestreados, los cuales están ubicadas desde los 1.744 msnm (Bailadores) hasta los 3.500 msnm (Piñango). Esta información soporta la opinión de (Graham, 1972), quien señaló que las *Erwinias* spp. aparecen donde quiera que se cultive papa. La incidencia vario entre 10 y 70%, siendo el promedio general 25%. Los mayores índices de incidencia se detectaron en siembras de papa Granola existentes en La Mucuy (70%), Bella Vista (60%) y Timotes (40%). Lo anterior evidencia la importancia que tienen las especies de *Erwinia* en las explotaciones papícolas del estado Mérida y, además, deja entrever la necesidad de que en cualquier programa de Manejo de la pudrición de tubérculos y “pata negra” causados por *Erwinia* spp., se tome en alta consideración la contaminación de la Var. Granola, la cual es la que más se cultiva en la región andina.

Del total de aislamientos obtenidos se seleccionaron 15 que mostraron capacidad de desarrollarse en los medios AN, K+ y K-. En AN y K-, produjeron colonias pequeñas de color blanco grisáceo con bordes ligeramente ondulados (Figura 3), centro levantado, las cuales de hicieron visibles a las 48 h después de incubación a temperaturas entre 27 y 30°C. En el medio K+, las colonias fueron pequeñas, rojas, opacas con bordes irregulares a ondulados, que en el estereoscopio se observaron estrellados. Con ciertas excepciones en el medio YDC, las colonias aparecieron de color blanco y no mucoides, mientras que el medio King B. no produjeron pigmento fluorescente, excepto un aislamiento. En el medio CVP específico para *Erwinia* spp, originaron huecos profundos (Figura 4). En el medio anaeróbico se desarrollaron normalmente. Licuaron la gelatina y en presencia de KOH al 3% formaron hilo, resultando Gram negativas. Además presentaron forma de bastoncitos con flagelos peritricos.

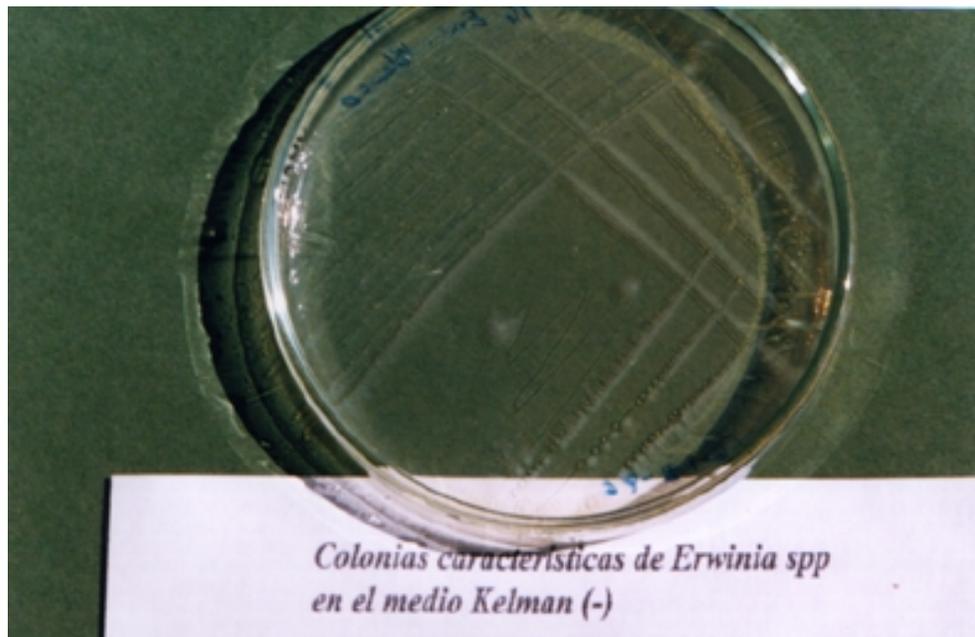
Todas estas características permitieron ubicar los aislamientos en el género *Erwinia*, coincidiendo con lo reportado por Cuppels y Kelman (1974) en cuanto a la selectividad del medio CVP para aislar *Erwinia* spp. de plantas con problemas de podredumbre.

Pruebas de patogenicidad

Todas las plantas inoculadas presentaron síntomas de marchitez y pudrición en el tallo a los cinco días después del tratamiento. Igualmente causaron pudrición total en las rodajas de tubérculos a los seis

Cuadro 1. Detección e incidencia de *Erwinia* spp en 12 localidades papícolas del estado Mérida (1996).

Municipio	Localidad	Altura (msnm)	Variedad	Incidencia Promedio (%)	Aislamientos (No)
Libertador	El Valle	1995	Andinita	10	2
Libertador	La Caña	2800	Granola	20	1
Libertador	Bella Vista	2500	Granola	60	1
Libertador	La Culata	3000	Granola	10	1
Pueblo Llano	La Capellanía	2000	Andinita	10	2
Miranda	Timotes	2100	Granola	40	1
Miranda	Timotes	2030	«	20	1
Rivas Dávila	Bailadores	1744	Granola	20	1
Santos Marquina	La Mucuy	2100	Granola	70	1
Campo Elías	Capaz	2000	Granola	10	2
Rangel	Mucuchíes	3100	Granola	10	1
Miranda	Piñango	3500	Granola	20	1
TOTAL	-	-	-	300	25
Promedio	-	-	-	25	-

**Figura 3.** Colonias de *Erwinia* ssp. en Kelman (-).

días, después de la inoculación, observándose entre 24 a 48 h, exudados cremosos, degradación del tejido donde se colocó el inóculo, agrietamiento en los tejidos circundantes. Posteriormente, las rodajas se tornaron acuosas y de color marrón casi a negro. Las plantas y rodajas usadas como control, no mostraron los síntomas señalados anteriormente.

Las bacterias recuperadas de los exudados producidos en plantas y rodajas, en el medio selectivo CVP; produjeron huecos y presentaron todas las características descritas para *Erwinia*. Lo anterior confirmó que los aislamientos inoculados atacan la papa y son los causantes de los síntomas anteriormente señalado.



Figura 4. Imagen donde se aprecian los huecos (flechas) producidos por *Erwinia* spp. en el medio CVP.

Caracterización de especies y sub-especies

En el Cuadro 2, aparece la caracterización de los 15 aislamientos evaluados; los cuales por diferencias en el comportamiento bioquímico se ubicaron en tres especies.

En el Cuadro 3, se aprecia que los aislamientos provenientes de El Valle, Bella Vista, La Culata, La Capellanía, Bailadores, Miraflores, Timotes, Pueblo Llano, Mucuchíes y Piñango, tienen las siguientes características: Capacidad de producción de ácido a partir de lactosa, pero no de la trehalosa y la maltosa, y además no produjeron gas a partir de glucosa; crecieron en presencia de NaCl al 5% y 10%, fueron insensibles a la eritromicina a concentraciones menores o iguales al 10%. Crecieron a 28, 30, 35, 36 y 37°C. Los aislamientos que presentaron estas características se identificaron como *E. carotovora* ssp. *carotovora*. Mientras que, un aislamiento procedente de La Mucuy produjo ácido a partir de: la trehalosa y la maltosa, pero no de la lactosa, y además formó gas a partir de glucosa, creció en presencia de NaCl al 5% - 10%, fue insensible a la eritromicina en concentraciones menores al 5% pero no al 10%, se desarrolló en temperaturas entre 3 y 6°C, estando su óptimo entre 28 y 30°C pero no creció a 37 y 45°C; condición que lo caracteriza como *E. carotovora* ssp. *atroséptica*. Un aislamiento proveniente de Capaz El Diamante, produjo pigmento

azul fluorescente el King B., produjo gas a partir de glucosa pero no produjo ácido a partir de lactosa, maltosa y trehalosa, se desarrolló en NaCl al 5 y 10%, presentó sensibilidad a eritromicina en concentraciones menores e igual al 10%, creció a 28, 30, 35, 36 y 45°C, pero no a 3 y 6°C, siendo identificado como *E. chrysanthemi*.

Las pruebas de crecimiento a diferentes temperaturas y de sensibilidad a eritromicina, son definitivas para la diferenciación de especies y sub-especies de *Erwinia*. Se puede observar que estos aislamientos de *Erwinia* formaron colonias características a temperaturas entre 28 y 30°C; pero solamente *E. carotovora* ssp. *carotovora* se desarrolló en presencia de eritromicina a concentraciones menores o igual al 10%, *E. carotovora* ssp. *atroséptica* y *E. chrysanthemi* no crecieron en eritromicina 10%. Sólo el aislamiento de *E. carotovora* ssp. *atroséptica* creció a temperaturas entre 3 a 6°C, mientras que *E. chrysanthemi* se desarrolló a 45°C. Los aislamientos de *E. carotovora* ssp. *carotovora*, no crecieron a 3, 6 y 45°C.

Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Cother y Sirvasithamparam (1983), Dye (1969, 1981), Thomson et al. (1981) y Schaad (1988); quienes señalan a estas tres especies de *Erwinia* como las principales causantes de pudrición blanda y/o pata negra en papa como sigue: *E.*

Cuadro 2. Caracterización de especies y sub-especies de *Erwinia*, según prueba bioquímicas y fisiológicas en diferentes localidades del estado Mérida.

Aislamiento Procedencia	Producción de ácido o gas a partir de:				NaCl		Formación de huecos en el medio CVP	Licuefacción de la gelatina	Pudrición de la papa	Sensibilidad Eritromicina			Crecimiento en T°					Especies Erwinia		
	Lact	Malt	tréh	G	5%	10%				> 10%	10%	< 10%	3	6	28	30	36		37	45
El Valle La Caña	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	(Ecc)
Bella Vista	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
La Culata	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
La Capellanía	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
La Capellanía	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
Bailadores	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
Capaz Miraflores	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
Timotes	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	E.c.c
Timotes	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	E.c.c
Mucuchies	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	Ecc
Piñango	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	Ecc
La Mucuy	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	Eca
Capaz El Diamante	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	Echr

L = Lactosa
M = Maltosa
T = Trehalosa
G = Glucosa

Ec.c. = *Erwinia carotovora* Sub sp. *carotovora*
Ec.a. = *Erwinia carotovora* Sub sp. *atroseptica*
E.c.h.r = *Erwinia chrysanthemi*

+ = Reacción positiva
- = Reacción negativa

Cuadro 3. Resumen de las Pruebas de identificación de *Erwinia* spp. de papa provenientes de 12 localidades papícolas del estado Mérida

PRUEBAS	<i>E. carotovora</i>		<i>E. chrysanthemi</i>
	E.c.c	E.c.a	
Formación de huecos en el medio CVP	+	+	+
Hidrólisis de la gelatina	+	+	±
Pruebas de Gram KOH al 3%	+	+	+
Pudrición de papa	+++	+++	++
Producción de ácido a partir de:			
Lactosa	+	-	-
Maltosa	-	+	-
Trehalosa	-	+	-
Producción de gas a partir de Glucosa	-	+	+
Tolerancia al NaCl			
5%	+	+	+
10%	+	+	+
Sensibilidad a Eritromicina:			
< 10%	-	-	-
= 10%	-	+	+
> 10%	+	+	+
Crecimiento a T° de:			
3 - 6 °C	-	+	-
28 °C	+	+	+
30 °C	+	+	+
36 °C	+	+	+
37 °C	+	-	+
45 °C	-	-	+

+ = Reacción Positiva; - = No hay reacción; +++ = Reacción Positiva. Pudrición total

carotovora ssp. *carotovora*, *E. carotovora* ssp. *atroséptica* y *E. chrysanthemi*.

La formación de huecos en CVP fue observada en *E. carotovora* ssp. *atroséptica* a 28°C, en *E. carotovora* ssp. *carotovora* a 28 y 30°C, pero no a 37°C, y en *E. chrysanthemi* a temperaturas desde 28 hasta 45°C. Esto concuerda con lo publicado por Perombelón y Kelman (1980).

Es de destacar que se están empleando nuevas técnicas para la diferenciación de los grupos o subespecies de *Erwinia* que causan pudrición blanda en papa. La diferenciación de erwinias del grupo *carotovora* ha sido realizado por RAPD-PCR. (Maki y Karjalaine, 1994).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las enfermedades conocidas como pudrición blanda y pata negra, causadas por *Erwinia* spp, se encuentran ampliamente distribuidas en las áreas papícolas del estado Mérida, siendo *E. carotovora* ssp. *carotovora* la especie más comúnmente encontrada.

Debido a que *E. carotovora* ssp. *carotovora* tiene un amplio rango de hospedantes, se recomienda iniciar un programa de manejo del cultivo, haciendo énfasis en un sistema de rotación de cultivos donde no se incluyan especies de la familia Solanaceae, en tal sentido se sugiere maíz y trigo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COTHER, E. J. y K. SIVASITHAMPARAM. 1983. *Erwinia*: The "carotovora" group. pp. 87-106. In P.C: Fahy and G. J. Persley (eds). Plant bacterial diseases. A diagnostic guide. Academic Press, Australia.
- CUPPELS, D. y A. KELMAN. 1974. Evaluation of selective medium for isolation of soft rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology* 64: 468-475.
- DYE, D. W. 1969. A taxonomic study of the genus *Erwinia* II: The 'carotovora' group. *N. Z. J. Sci* 12:81-97.
- _____. 1981. A numerical taxonomic study of the genus *Erwinia* N.Z.J. Agric. Res. 24: 223-229.
- ELPHISTONE, J. G. 1987. La pudrición blanda y pierna negra de la papa, *Erwinia* ssp. Boletín de Información Técnica 21. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima Perú. pp. 1-18.
- FRENCH, E.R. y L. GUTARRA. 1994. Pudrición blanda y pierna negra causadas por *Erwinias*. p. 53. En: Memorias del taller sobre enfermedades bacterianas de la papa. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima-Perú.
- GARCÍA, R. 1994. Estudio de enfermedades bacterianas causadas por *Pseudomonas* y *Erwinia* en el cultivo papa. Informe de Gestión. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Mimeografiado. p. 42.
- GRAHAM, D.C. 1972. Identification of soft rot coliform bacteria. pp. 273-279. In: Proc. 3rd. Int. Conf. Plant Pathog. Bacteria Wageningen, 1971.
- HOOKE, W. J. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. Lima-Perú. pp. 37-42.
- HORTON, D. 1987. Underground crops. p. 10. In: Long-term trends in production of root and tubers. Morriton, A.R. USA, Winrock Internacional.
- HUGH, R. y E. LEIFSON. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66: 24-26.
- LELLIOT, R. A 1974. Genus XII *Erwinia*. pp. 332-339. In: R.E. Buchanan y N.E. Gibbons (eds). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, EE.UU.
- MAKI, T. y R. KARJALAINEN. 1994. Differentiation of *Erwinia* ssp. *atroseptica* and *carotovora* by RAPD-PCR. *Ann. Appl. Biol. (UK)*. 125(2): 301-309.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA. En: Archivos de División de Planificación y Estadística. Sector Agrícola del Estado Mérida. UEDA-Mérida 1995.
- ORTEGA, C.E. 1988. Producción de semilla de papa en Venezuela. pp. 1-27. En: Producción de semilla de papa y transferencia de tecnología en Venezuela. FONAIAP-PRODETEC-CEE-JUNAC PADT, Rural - PRACIPA - CIP - Gobernación - IAN.
- ORTEGA, C.E. 1989. Producción de semilla de papa en Venezuela. pp. 1-43. En: Curso sobre Producción de papa. Barquisimeto, Venezuela. FONAIAP-Estación Experimental Lara. PRACIPA.
- PEROMBELON, M.C.M. y A. KELMAN. 1980. Ecology of the soft rot erwinias. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 361-387.
- THOMSON, S.V., D.C. HILDEBRAND y M.N. SCHROTH. 1981. Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 71: 1037-1042.
- SCHAAD, N.W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria 2nd ed. APS Press. St. Paul Minnesota, EE.UU. pp. 37-55.