

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Agentes Asociados a la Mancha Parda del Tomate *Solanum lycopersicum* Mill
en Buenavista, Saltillo

Por:

JOSÉ GUSTAVO RODRÍGUEZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Agentes Asociados a la Mancha Parda del Tomate *Solanum lycopersicum* Mill
en Buenavista, Saltillo

Por:

JOSÉ GUSTAVO RODRÍGUEZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

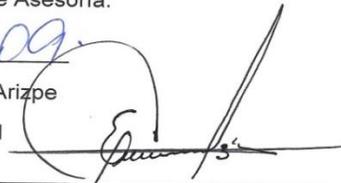
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



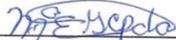
M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Coasesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2016



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad **Autónoma Agraria Antonio Narro**, por abrirme las puertas y ayudarme a culminar mis estudios a nivel licenciatura dentro del área de agronomía y culminar en la gran dicha de ser llamado Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, por darme los conocimientos necesarios.

Al *Dr. Abiel Sánchez Arizpe*, por ser mi asesor y aceptarme para la realización de este trabajo, por su dedicado esmero en la revisión de este trabajo, aportes para la realización del mismo, por ser un profesor muy comprometido con su trabajo y darnos las armas suficientes para ser unos buenos agrónomos.

A la *Dra. Ma Elizabeth Galindo Cépeda* por ser mi tutora en mi estancia en la escuela, gracias por los consejos y guiarme por buen camino y principalmente gracias por el apoyo para la realización de este trabajo y por la revisión del mismo, muchas gracias por todo.

al *Dr Mario Ernesto Vásquez Badillo* por la revisión del trabajo y por las aportaciones del mismo muchas gracias.

A todos los maestros del *Departamento de Parasitología* que me dieron clases, ya que ustedes contribuyeron en mi formación como ingeniero agrónomo y me dieron las bases para enfrentar problemas que se me presenten.

A todos mis compañeros de la *Generación de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo*, por todos los momentos de convivencia que pasamos y experiencias, espero saber pronto de ustedes.

A mis amigos *Leonardo Iván, Luis Enrique* por todo el compañerismo que hemos tenido durante estos años y por los momentos buenos que han pasado, por el apoyo, gracias por ser mis amigos, se les quiere.

A mis compañeros de cuarto Paraíso 15 *Raúl Vallarta, Luis Erasto, Héctor Jesús y Adrián Arenas* por todos los momentos buenos que pasamos y por vernos como uno más de la familia, al convivir el mismo hogar donde dormir. Por ser buenos amigos.

DEDICATORIAS

A DIOS

Primero y, antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio

A MI MADRE

Angélica García Jiménez

A mi Madre, por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en todo momento. Gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo que hemos vivido juntos, por los regaños que me merecía y que no entendía. Gracias Mamá por estar al pendiente durante toda esta etapa. Te amo mami, gracias por todo.

A MI HERMANO

Ángel Daniel Rodríguez García

Gracias por tu paciencia, gracias por preocuparte por tu hermano mayor, gracias por dejarme formar parte de tu vida, pero, sobre todo, gracias por estar en momentos importantes en mi vida hermanito, te quiero mucho y espero algún día tengas una profesión y seas mejor que yo, siempre estaré contigo, te quiero mucho hermanito.

A MIS ABUELOS

María Isabel Jiménez Estrada y Rodolfo García Franco

Les agradezco tantos momentos que pase y sigo pasando junto a ustedes, porque gracias a ustedes tengo a una madre magnífica, gracias por consentirme como solo ustedes como abuelos pueden hacerlo, y ayudarme en momentos difíciles. Los quiero mucho.

A MIS TIOS

Rodrigo, Flor, Jorge, Berna, Jaque y Leo

Por apoyarme cuando llegue a necesitar de ustedes, por ofrecerme su ayuda, tíos de verdad gracias por todo, desde sus consejos hasta sus conocimientos. Por todas gracias.

A MIS PRIMOS

Esmeralda, Vladir y Yael

Por apoyarme cuando necesito de ustedes, los quiero mucho.

A MIS AMIGOS DE LA CARRERA.

Ernesto, Abram, Jesús Efraín, Saúl, Oscar, Eduardo, Ángel, Alberto, Jorge, Diego Uriel.

Por qué más que simples amigos se convirtieron en mis hermanos, por nuestras visitas y convivencias a lo largo de los semestres, por la gran amistad que tengo con la mayoría de ustedes, por la perseverancia y constancia dentro de mi vida, esperando y les vaya muy bien donde quiera que vayan, espero y se lleven gratos recuerdos de mi.

INDICE DE CONTENIDO

	.Págs.
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	x
INDICE DE CUADROS.....	xi
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
Justificación.....	3
Objetivo.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Origen del Tomate.....	4
Importancia Económica del Tomate.....	4
Clasificación taxonómica.....	5
Descripción Botánica.....	5
Raíz.....	5
Tallo.....	6
Hoja.....	6
Flor.....	6
Fruto.....	6
Semilla.....	7
Requerimientos Climáticos.....	7
Temperatura.....	7
Humedad.....	8
Luminosidad.....	8

Suelo	8
Bacterias Fitopatógenas	9
Bacterias que Causan Enfermedad en el Tomate	9
Clasificación Taxonómica	10
Morfología Específica de <i>Xanthomonas</i>	10
Sintomatología de la Enfermedad	11
Ciclo de la Enfermedad	12
Hongos que Causan enfermedad en el tomate	14
Género <i>Alternaria</i>	14
<i>Alternaria alternata</i>	14
Medios de Crecimiento para <i>Alternaria alternata</i>	15
Descripción Morfológica	16
Síntomas de la enfermedad.....	16
Ciclo de la enfermedad.....	17
Control de la Enfermedad.....	18
MATERIALES Y METODOS.....	19
Ubicación del Experimento	19
Material Utilizado	19
Observación del Material Colectado	19
Desinfección de las Muestras.....	20
Aislamiento de Patógenos	20
Tinción de Gram	21
Prueba de Gelatina.....	21
Prueba de Hugh- Leifson.....	21

Prueba de sacarosa.....	22
Pruebas de Arginina	22
Crecimiento en YDC	22
Identificación de Hongos	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Pruebas de Identificación para la Bacteria	23
Tinción gram.....	23
Licuefacción de gelatina	24
Prueba Hugh-Leifson	25
Prueba de sacarosa	26
Prueba de arginina	26
Crecimiento en YDC (Extracto de Levadura Dextrosa)	27
Identificación del hongo.....	28
CONCLUSION	29
LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1.- <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> aisladas en medio extracto de lavadura agar YDC	11
2.- Síntomas causados por <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> en cultivos de tomate	12
3.- Conidios de <i>A. alternata</i> con 1 a 9 septos transversales y varios longitudinales u oblicuos	16
4.- Síntomas causados por <i>Alternaria alternata</i>	17
5.- Departamento de parasitología, laboratorio de fitopatología UAAAN 2016	19
6.- Resiembra de colonias bacterianas	21
7.- Resultados de la siembra de muestras de tomate	
8.- Fotografía del microscopio de la bacteria Gram negativa y de forma bacilar aislado de planta de tomate UAAAN 2016	24
9.- Resultado de la prueba de licuefacción de gelatina de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2), M2 (tubo 3,4) y ultimo testigo	25
10.- Resultados de la prueba Hugh-Leifson de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2), M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo testigo	25
11.- Resultados de la prueba de sacarosa de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2) M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo testigo	26
12.- Resultados de prueba de arginina de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2) M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo testigo	27
13.- Colonia de consistencia mucoide, de color amarillo, desarrollado en YDC a las 48 horas de incubación	27
14.- Fotografía microscópica de esporas y micelio de <i>Alternaria alternata</i>	28

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
1.- Resultados de las pruebas realizadas a las muestras bacterianas de Tomate.....	27

RESUMEN

El tomate es la hortaliza más difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico. Las enfermedades constituyen un factor limitante en la producción de tomate en muchas partes del mundo. La mancha bacteriana es una enfermedad del tomate que causa considerables pérdidas en la producción, es causada por *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*.

La mancha parda del tomate causado por el hongo *Alternaria alternata* es la principal enfermedad del fruto para industria en el norte de Sinaloa. Los síntomas varían desde pequeñas lesiones superficiales de color café claro hasta lesiones necróticas hundidas en los frutos maduros y en condiciones de alta humedad, el hongo produce una capa negra de conidios sobre el tejido infectado. El objetivo de este trabajo fue encontrar cuales son los agentes que se encuentran asociados a la enfermedad conocida como mancha parda en el tomate y así poder identificarlos, las muestras que se utilizaron se colectaron en la UAAAN, los muestreos se realizaron de manera dirigida a plantas que presentaban síntomas de la enfermedad y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología para su aislamiento y caracterización posteriormente, se realizaron pruebas para poder llegar a identificar los patógenos que están asociados a las muestras colectadas. Las pruebas fueron las siguientes: en el caso de bacterias se realizó tinción de Gram, licuefacción de gelatina, prueba de sacarosa, prueba de Hugh - Leifson, prueba de arginina y crecimiento en YDC y la identificación del hongo se realizó en base a morfología colonial y el número de septos. Los resultados obtenidos demostraron que los patógenos asociados a esta enfermedad son: *Xanthomonas campestris pv vesicatoria* y *Alternaria alternata*.

Palabras claves: Identificación, *Xanthomonas*, *Alternaria alternata*

INTRODUCCIÓN

El tomate es el principal producto en términos del valor de la producción en el grupo de las hortalizas que se cultivan en México. En 2012, éste ascendió a 13, 146 millones de pesos, monto que representó el 27.2% del valor de la producción de las hortalizas y el 3.2% del total del valor de la producción agrícola primaria en el país.

Asimismo, ocupa el primer lugar entre los productos agropecuarios en la generación de divisas por ventas al exterior. En 2013, reportó exportaciones por 1,780 millones de dólares, valor equivalente al 15.7% del total de las exportaciones agropecuarias mexicanas (Banco de México, 2014).

La enfermedad mancha bacteriana ocasionada por la bacteria *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*, es una de las enfermedades más importantes en los cultivos de tomate y chile en el Estado de Sinaloa, donde se localiza con una distribución general y en forma epidémica, ocasionando pérdidas en la producción (Cruz *et al.*, 1998).

Al cultivo del tomate lo afectan diversos agentes patógenos, pero la bacteria *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* está considerada como una de las más peligrosa. La mancha bacteriana se caracteriza por presentar lesiones necróticas en hojas, tallos y frutos. (Gitaitis, *et al.*, 1992).

Los problemas fitosanitarios constituyen el principal limitante del cultivo del tomate en las zonas productoras; por su importancia económica destacan las enfermedades fungosas; en particular, el tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. El Tizón temprano, ocasionado por *Alternaria solani* (Ellis y Martin) y el Moho negro del tomate, causado por *Alternaria alternata* los *alternata*, los cuales afectan ramas, pecíolos, hojas,

tallos y frutos, causando una disminución considerable de la producción (Fraire, 1993).

Este hongo *Alternaria alternata* infecta a los frutos maduros, los síntomas varían desde las pequeñas lesiones superficiales de color café claro hasta lesiones necróticas hundidas. En condiciones de alta humedad, el hongo produce una capa negra de conidios sobre el tejido infectado.

Justificación

El trabajo se realizó, ya que no se conoce cuál es el papel de los agentes que se encuentran en la enfermedad conocida como mancha parda del tomate, de ahí surge la importancia de la realización de este trabajo para conocer que agentes se encuentran presentes en la mancha y así poder llegar a su identificación.

Objetivo

Identificar los patógenos que están presentes en la mancha parda en el cultivo de tomate.

REVISION DE LITERATURA

Origen del Tomate

El origen del género *Solanum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecía como arvense entre los huertos. Durante el siglo XVI se consumían en México de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, pero para entonces ya había sido llevado a España y servía como alimento también en Italia. En otros países europeos solo se utilizaban en farmacias y así se mantuvieron en Alemania hasta el siglo XIX. Los españoles y portugueses difundieron el tomate a Oriente Medio y África, de allí a otros países asiáticos y de Europa se difundió a Estados Unidos y Canadá (Marroquín, 2005).

La gran diversidad varietal encontrada en la zona mexicana de Veracruz y Puebla llevó a Jenkins a considerar a México como el centro de origen del tomate cultivado de frutos grandes. El término tomate fue utilizado desde 1695 por los viajeros botánicos, quienes tomaron las palabras xitomate –xito-mate, con los que los aztecas designaban a esta planta. México está considerado a nivel mundial como el centro más importante de domesticación del tomate (Valadez, 1993).

Importancia Económica del Tomate

Para el cierre del año agrícola 2013, el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) estima que la producción nacional de tomate se ubique en 2.56 millones de toneladas de tomate, lo que representaría una disminución de 9.8% con respecto a la producción récord obtenida en 2012 (SIAP. 2014)

En términos de distribución geográfica, la producción de tomate está altamente concentrada; en cinco entidades se produjo el 59.7% del total nacional en 2012. Sinaloa aportó el 36.6% de la producción nacional de tomate y le siguen en importancia Baja California, Michoacán, Jalisco y Zacatecas, con 6.7, 6.0, 5.5 y 4.9% de la oferta nacional, respectivamente (USDA, FAS. 2013).

Clasificación Taxonómica

Reino: Vegetal

Sub-Reino: Embryobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-Clase: Dicotyledonae

Orden: Tubiflorae

Familia: *Solanaceae*

Género: *Solanum*

Especie: *lycopersicum L*

(Cronquist, 1984, Esquinas y Nuez, 1995; Peralta *et al.*, 2005)

Descripción Botánica

Raíz

El sistema radicular del tomate consta de una raíz principal pivotante; pudiendo llegar a una profundidad de más de 1.25 m, simultáneamente se producen raíces adventicias y ramificaciones secundarias que pueden llegar a formar una masa densa y de cierto volumen; los suelos ligeros y arenosos favorecen el desarrollo de raíces profundas (FAO, 2010).

Tallo

El tallo típico tiene de 2 a 4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos glandulares que salen de la epidermis (Nuez, 1995). Rodríguez *et al.*, (1984) citados por Tapia (1985) mencionan que el tallo es erguido durante los primeros 7 estadios de desarrollo, pero pronto se tuerce a consecuencia del peso, siendo necesario tutorarlo cuando se cultiva en invernadero.

Hoja

La hoja es compuesta y posee un número impar de folíolos verdes, que depende de la variedad y de la posición de la hoja en la planta; Asimismo la forma, dimensión, estructura, espesor y color son factores que también dependen de la variedad; En general las hojas de variedades tardías son más gruesas y más oscuras, aunque también influyen las condiciones de cultivo. Cuando la planta es muy vigorosa ocurre que la hoja se repliega alrededor del raquis, mientras que el abullonado de las hojas jóvenes puede ser debido a un estrés hídrico o a los pinzamientos, sobre todo en el tipo determinado (FAO, 2010).

Flor

Flor de pedúnculo corto, cáliz gamosépalo con 5 ó 10 lóbulos; El androceo presenta 5 o más estambres unidos a la corola; El gineceo presenta de 2 a 30 carpelos que originan los lóculos del fruto (Folquier, 1976). La floración del tomate se produce en forma de raíces simples o ramificados (distintos tipos de climas) en diferentes pisos o estratos, siendo lo normal que en cada inflorescencia pueda haber entre 7 y 10 flores, aunque en ocasiones pueden llegar hasta 50 (Maroto, 1989).

Fruto

El fruto del tomate es una baya globosa o piriforme de color generalmente amarilla, rosa o rojo, debido a la presencia de licopeno y caroteno en distintas y variable proporción; El tamaño del fruto depende principalmente

del número de óvulos fecundados, pero hay muchos otros factores que juegan un papel importante, como por ejemplo la nutrición, el riego, la temperatura y el número de lóculos. Con las variedades multiloculares se obtienen frutos grandes y acostillados cuando la planta tiene buen suministro de agua y nutrientes (FAO, 2010).

Semilla

Las semillas de tomate son pequeñas, reniformes de germinación superficial de color café y de 3 a 5 mm de largo con 2 a 4 mm de ancho; La superficie está cubierta de vellosidades, de pequeñas escamas y restos del tegumento externo las revestían esta conserva su poder de germinación durante cuatro o más años si se mantiene en condiciones adecuadas (FAO, 2010).

Requerimientos Climáticos

Temperatura

La temperatura óptima de desarrollo oscila entre 20 y 30°C durante el día y entre 1 y 17°C durante la noche; temperaturas superiores a los 30 - 35°C afectan la fructificación, por mal desarrollo de óvulos y al desarrollo de la planta en general y del sistema radicular en particular. Temperaturas inferiores a 12-15°C también originan problemas en el desarrollo de la planta. A temperaturas superiores a 25°C e inferiores a 12°C la fecundación es defectuosa o nula. La maduración del fruto está muy influida por la temperatura en lo referente, tanto a la precocidad como a la coloración, de forma que valores cercanos a los 10°C, así como superiores a los 30°C originan tonalidades amarillentas. No obstante, los valores de temperatura descritos son meramente indicativos, debiendo tener en cuenta las interacciones de la temperatura con el resto de los parámetros climáticos (Infoagro, 2012).

Humedad

La alta humedad relativa del aire tiene gran interés sobre todo durante la dehiscencia polínica y la consiguiente polinización y fecundación, siendo quizá la más adecuada entre un 55 y un 60%. Además de que, como cifras medias, el tomate, para cubrir su ciclo, requiere de unos valores de la integral térmica comprendidos entre 3,000 y 4,000 °C. Mencionan que la humedad influye sobre el crecimiento de los tejidos, fecundación de las flores y desarrollo de las enfermedades criptogámicas. Si la humedad relativa es menor a 50% no hay una buena retención de los granos de polen y las flores se desprenden de la planta; al disminuir la humedad relativa a menos del 40% se provoca deficiencia de calcio, ya que este elemento se absorbe mejor cuando existe transpiración normal que cuando disminuye (Chamarro, 2001).

Luminosidad

Valores reducidos de luminosidad pueden incidir de forma negativa sobre los procesos de la floración, fecundación, así como el desarrollo vegetativo de la planta. En los momentos críticos durante el período vegetativo resulta crucial la interrelación existente entre la temperatura diurna y nocturna y la luminosidad (Infoagro, 2012)

Suelo

La planta de tomate no es muy exigente en cuanto a suelos, excepto en lo que se refiere al drenaje, aunque prefiere suelos sueltos de textura silíceo-arcillosa y ricos en materia orgánica. No obstante, se desarrolla perfectamente en suelos arcillosos enarenados. El pH de los suelos puede ser desde ligeramente ácidos hasta ligeramente alcalinos cuando están enarenados. Es la especie cultivada en invernadero que mejor tolera las condiciones de salinidad, tanto del suelo como del agua de riego (Infoagro, 2012).

Bacterias Fitopatógenas

Las bacterias fitopatógenas se conocen desde 1882; son, con mucho, el grupo más grande de procariotes fitopatógenos que mejor se conocen (Agrios, 2004). Este grupo de patógenos constituye el segundo en importancia, después de los hongos, si tenemos en cuenta el número y gravedad de las enfermedades que produce (Goto, 1990). La clasificación de las bacterias, al igual que la de otros organismos, nunca es estática y continuamente se proponen cambios. Actualmente, la clasificación de las bacterias se puede plantear.

Bacterias que Causan Enfermedad en el Tomate

Existe una gran variedad de enfermedades causadas por bacterias que dañan tallo, fruto y hojas en el cultivo de tomate; entre ellas se encuentran, la mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), la peca bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), tizón foliar bacteriano (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), la pudrición blanda (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), la marchitez bacteriana del tomate (*Ralstonia solanacearum*) y la necrosis medular (*Pseudomonas corrugata*) (Agrios, 2005).

Importancia de la mancha bacteriana en tomate

El género *Xanthomonas* comprende un grupo de bacterias fitopatógenas de gran importancia económica, ya que sus especies tienen como hospedero a más de 124 especies de plantas monocotiledóneas y 268 dicotiledóneas son hospedantes de *Xanthomonas* (Leyns et al., 1984). Entre las especies de *Xanthomonas campestris* es una de las más importantes pues consta de al menos 125 diferentes patovares que son diferenciados por el hospedante al que afectan (Bradbury, 1984).

La enfermedad causa la caída de flores, reflejándose en la producción y su rápida diseminación es favorecida por altas temperaturas (24-30°C). Las pérdidas causadas por la mancha bacteriana también repercuten en el costo de

los productos químicos utilizados como estrategias de control, como lo es el uso de fungicidas cúpricos (López & Quezado-Soares, 1997; Goode & Passer, 1980; Jones, 1997

Clasificación Taxonómica

Vauterin *et al.*, (1995) ubica a *Xanthomonas campestris pv vesicatoria* de la siguiente manera:

Filo: Proteobacteria

Clase: Gamma Proteobacteria

Orden: Xanthomonadales

Familia: Xanthomonadaceae

Género: *Xanthomonas*

Especie: *campestris*

Morfología Específica de *Xanthomonas*

Xanthomonas campestris pv. vesicatoria es una bacteria baciliforme, con dimensiones entre 0,7-1,0 x 2,0-2,4 µm, Gram-negativa, aeróbica estricta, móvil y con un flagelo polar. Se caracteriza por presentar colonias amarillas en medio agar nutritivo (AN), mucoides y/o de producir pigmentos (xanthomonadinas) la mayoría de ellas crecen muy lentas en medios de cultivo (Agrios, 2005).

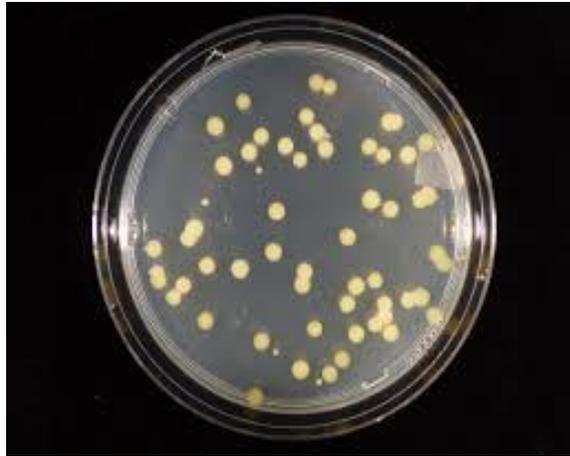


Figura 1. *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* aisladas en medio extracto de lavadura agar YDC

Sintomatología de la Enfermedad

Los síntomas de la mancha bacteriana ocurren en toda la parte aérea de la planta y se manifiestan en cualquier etapa fenológica del cultivo (Gitaitis *et al.*, 1992). Se caracteriza por presentar lesiones necróticas en hojas, tallos y frutos. En verano y climas cálidos la mancha bacteriana causa severas defoliaciones de plantas ocasionando pérdidas en la producción (Pohronezny *et al.*, 1986). En hojas, los primeros síntomas se presentan como ampollas irregulares, con bordes definidos de un color amarillo o verde claro a marrón oscuro o necrótico. En los frutos verdes aparecen pequeñas manchas acuosas que sobresalen ligeramente, tienen halos blancos verduscos y se extienden hasta alcanzar un diámetro aproximado de 3 a 6 mm (Agrios, 2005).

Poco después los halos desaparecen y las manchas se van tornando de color marrón y de textura áspera (Jones, 1997). Estas lesiones tienden a ser hundidas en el centro y elevadas por los márgenes. Una enfermedad conocida como peca bacteriana del tomate se parece a la mancha bacteriana pero es ocasionado por la bacteria *Pseudomonas syringae pv.*, tomate. Las lesiones que causa en hojas, tallos y el fruto son similares (pero más pequeñas) que las que causa *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* (Agrios, 2005),

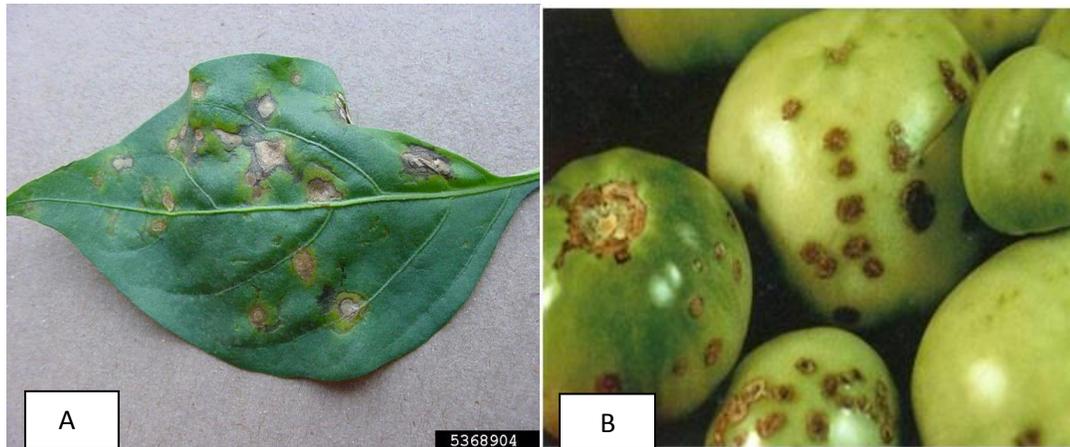


Figura 2. Síntomas causados por *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* en cultivos de tomate A) manchas necróticas en tejido foliar. B) heridas necróticas en fruto. (Disponible en Guía de enfermedades de tomate pdf)

Ciclo de la Enfermedad

La bacteria penetra dentro de las hojas a través de las estomas. En los frutos se introduce mediante heridas provocadas por insectos picadores, como la chinche verde (*Nezara viridula*) por la acción del granizo, o bien por el granizo y por partículas de arena muy finas arrastradas por vientos muy fuertes. Una vez dentro de la cavidad estomatal, la bacteria provoca una hinchazón y rompimiento de la epidermis. Después se extiende hacia otros espacios intercelulares adyacentes, y destruye el tejido. Posteriormente la mancha se seca y el tejido se colapsa (Jones, *et al.*, 1991).

En tejidos jóvenes de hojas y frutos estimulan la división celular; la hipertrofia es ocasionada por cantidades muy pequeñas de amonio, que es producido por la bacteria.

Las bacterias se diseminan a través de la semilla infestada, por la lluvia y durante las labores de cultivos. Sobrevive en residuos de plantas muertas durante dos años, en semillas secas de tomate durante 16 meses, en plantas

de tomate y en la rizósfera de algunos cereales de invierno; la bacteria no sobrevive en el suelo como células individuales (Jones *et al.*, 1991).

Las temperaturas de 24 a 30°C, así como la humedad relativa especialmente gotitas de agua son necesarias para el desarrollo de la enfermedad (Jones *et al.*, 1991)

Control de la Enfermedad

La desinfección de la semilla es importante para un buen inicio de la producción de plántulas libres de las bacterias. Se recomienda la desinfección de la semilla con agua caliente a 50°C durante 30 minutos o tratar la semilla con productos químicos como el Arasan 75. En plántulas que se producen en invernaderos con cubierta de plástico, se debe de regar solamente cuando sea necesario. Tratamientos al agua con bactericidas/algicidas resultan de gran utilidad y a muy bajo costo si se implementan en forma continua. También conviene aplicar cualquier método que ayude a reducir la temperatura dentro del invernadero, sobre todo durante los meses más calurosos. Lo anterior no favorece el desarrollo de la enfermedad. Las aspersiones con productos químicos a base de cobre mezclados con antibióticos completan el manejo de la enfermedad. En el campo, la alternativa de control es el uso de fungicidas a base de cobre mezclados con ditiocarbamatos de manganeso, así como la aspersión de antibióticos como el sulfato de estreptomicina. La rotación de cultivos es recomendable para eliminar las fuentes de inóculo (residuos de cosecha y plantas muertas) en el campo (Stall, 1993)

Las aspersiones con productos químicos a base de cobre mezclados con antibióticos completan el manejo de la enfermedad. En el campo, la alternativa de control es el uso de fungicidas a base de cobre mezclados con ditiocarbamatos de manganeso, así como la aspersión de antibióticos como el sulfato de estreptomicina. La rotación de cultivos es recomendable para

eliminar las fuentes de inóculo (residuos de cosecha y plantas muertas) en el campo (Jones *et al.*, 1991).

Hongos que Causan enfermedad en el tomate

Alternaria alternata es la principal enfermedad del cultivo de tomate; Este hongo causa lesiones irregulares de color café en las hojas y termina secándolas, especialmente en la parte basal. También a los frutos, tanto en el campo como en almacenamiento, formando lesiones localizadas en todo el fruto, especialmente en la parte superior, donde se deposita el rocío y allí el hongo absorbe nutrientes secretados por el fruto; También se le encuentra en la parte apical, especialmente cuando previamente ha existido daño por pudrición apical. La pudrición del fruto es seca, de color café negruzca y puede penetrar profundo (Bruna, 2003).

Género *Alternaria*

El género *Alternaria* contiene especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de materiales y productos; Como saprobias pueden deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos, tal como micotoxinas; Como patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados; Es necesaria una identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo (Andersen *et al.*, 2001).

Alternaria alternata

Es un hongo presente en todos los continentes, causa la muerte de las plantas, daña al fruto y disminuye el rendimiento; las lesiones en frutos disminuyen su valor comercial atacando al tomate, papa, berenjena, zanahoria,

papaya entre otros muchos hospederos, sobreviviendo de una estación a otra, en el suelo y restos de cultivos (Agrios, 2005).

Medios de Crecimiento para *Alternaria alternata*

Las características del crecimiento constituyen uno de los criterios para la clasificación; en medio de cultivo Czapek- Levadura *A. alternata* produce colonias con un diámetro de 56 a 63 mm en tan solo 1 semana a 27°C, son chatas y ligeramente algodonosas con micelio aéreo de color gris verdoso y al reverso de color negro parduzco; Mientras que las cepas de *A. infectoria* forman escasos conidios, tienen un micelio algodonoso y el reverso de la colonia es oscuro en el centro rodeado de un anillo anaranjado pálido (Andrews, 1992).

Los cultivos de *A. alternata* en medios de cultivo PDA; al principio son blancos, pero se torna a un gris oscuro con bordes blancos a las 48 hrs. posteriormente, la colonia se extiende cubriendo la caja de Petri; la esporulación es abundante, de color casi negro donde los conidióforos son verde olivo y septados (Jones *et al.*, 1997)

Clasificación Taxonómica

Alexopoulos *et al.* (1996), ubica *Alternaria alternata* de la siguiente manera:

Phylum.....Ascomycota
 Clase.....Euscomycetes
 Orden.....Pleosporales
 Familia..... Pleosporaceae
 Género.....*Alternaria*
 Especie.....*alternata*

Descripción Morfológica

Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados, en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular, que por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, formándose largas cadenas de 10 o más conidios (Jones *et al.*, 1997). Las cadenas aparecen en los cultivos como manojos densos y aislados (Roberts *et al.*, 2000).

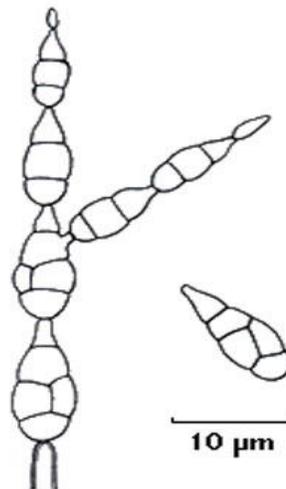


Figura 3. Conidios de *A. alternata* con 1 a 9 septos transversales y varios longitudinales u oblicuos. (<http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/htextocubierta.pdf>).

Síntomas de la enfermedad

Los síntomas en hojas y fruto son característicos de la enfermedad: manchas alargadas café oscuro a negro, con anillos concéntricos; Las áreas afectadas se oscurecen ligeramente hasta llegar a negro; Este manchado comienza alargándose ligeramente hasta la parte superior de la planta hasta que la planta muere; en el fruto, las lesiones son firmes, hundidas y a veces con anillos concéntricos con un denso gris oscuro a verde olivo, sobre estas lesiones se produce abundantes fructificaciones (Jones *et al.*, 1997).

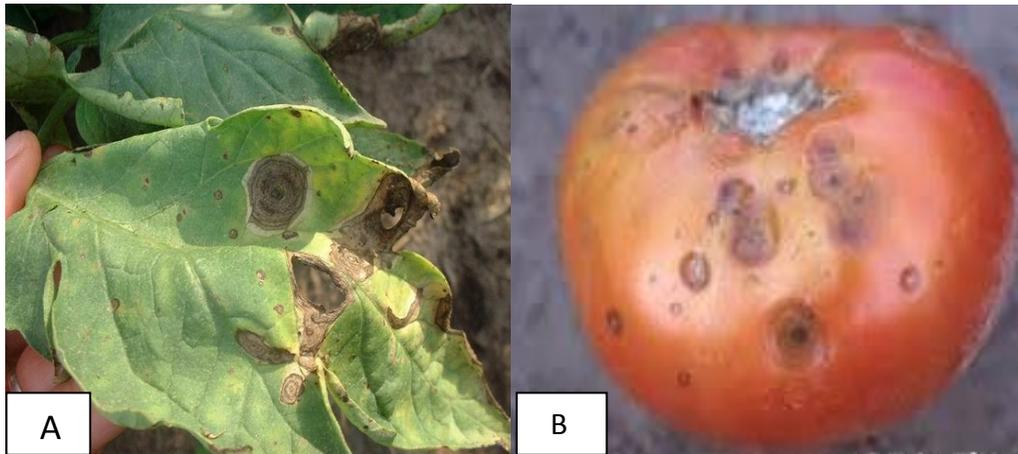


Figura 4. Síntomas causados por *Alternaria alternata*. A) Daños causados en las hojas B) Daños ocasionados en el fruto. (Disponible en plagas y enfermedades del tomate en almerxa control racional pdf)

Ciclo de la enfermedad

Los hongos de la pudrición negra son importantes saprofitos y causan enfermedad en el fruto, la infección ocurre cuando las esporas son diseminadas por aire, sobre la planta o cuando la planta entra en contacto con el suelo infestado y en el fruto cuando éste presente una herida penetra por la cutícula o pericarpio; La germinación e infección puede infectar plantas heridas; penetrando por lesiones en la cutícula de la hoja o del fruto, en plantas poco vigorosas o estresadas son más susceptibles; también la falta de nutrientes, aumenta la susceptibilidad (Jones *et al.*, 1997).

Control de la Enfermedad

Para controlar la enfermedad se deben realizar precauciones higiénicas por medio de controles preventivos y técnicas culturales, se recomienda la eliminación de malezas, plantas y frutos enfermos; manejo adecuado de la ventilación y el riego; utilización de semillas sanas o desinfectadas, así como de trasplantes sanos y fertilización equilibrada (Bravo *et al.*, 2006).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Experimento

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio geográficamente sobre las coordenadas 25° 22" Latitud Norte y 101° 00" Longitud Oeste; Con una altura sobre el nivel del mar de 1743 m. Ubicada en Buenavista a 7 Km al sur de la Ciudad de Saltillo, Coahuila.



Figura 5. Departamento de parasitología, UAAAN, 2016

Material Utilizado

Se muestrearon y se tomaron muestras de dos parcelas diferentes de tomate, estas se encontraron en el campo experimental El Bajío (UAAAN).

Observación del Material Colectado

Lo primero hacer montas del material recolectado. Se colocó una gota de lactofenol en un porta objetos para enseguida colocar la muestra que se raspo con una aguja de disección y se colocó el cubre objetos, ya teniendo la monta del hongo en el portaobjetos se pasó a observar en el microscopio compuesto

enfocado con el objetivo 4x para poder ubicar la estructura del hongo, luego al objetivo de 10x para observar las primeras partes del hongo y por último se ajustó a un objetivo de 40x.

Desinfección de las Muestras

Se realizó una serie de procedimientos para evitar la contaminación que pudiera afectar el trabajo que se está realizando.

Con lo que se comenzó primeramente fue con la desinfección de la superficie de la cámara de flujo laminar utilizando alcohol, enseguida se realizaron pequeños cortes del material vegetal. Se prosiguió con la desinfección de los cortes, esto se realizó con hipoclorito de sodio al 3% por tres minutos para luego enjuagar por tres veces con agua destilada estéril, también por tres minutos. De ahí se colocaron los cortes en sanitas con la ayuda de unas pinzas y se dejaron secar los cortes por un periodo de una hora.

Se prosiguió a sembrar en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Se colocaron cuatro cortes por caja. La siembra se realizó en la cámara de flujo laminar previamente desinfectado, una vez terminado de sembrar se sellaron con cinta transparente (Kleen pack), donde se incubaron con temperatura constante de 25° C por siete días.

Aislamiento de Patógenos

La resiembra de colonias bacteriana se realizó con medidas asépticas mediante el uso de un asa bacteriológica, debidamente esterilizada para evitar la contaminación, la resiembra se hizo por estrías múltiple en PDA, se incubaron a 28°C/5 días con la finalidad de contar con suficiente inóculo para las pruebas preliminares de identificación. En base al protocolo sugerido por Schaad *et al.*, 2005)



Figura 6. Resiembra de colonias bacterianas

Tinción de Gram

Se colocó una gota de agua destilada estéril en un portaobjeto, y con el asa bacteriológica se tomó una pequeña porción de una colonia, mezclándose con el agua para suspender la bacteria y así preparar un frotis, que se fijó a la flama de un mechero de alcohol.

Se adicionó una o dos gotas de cristal violeta, se dejó actuar un minuto y posteriormente se decantó; se adicionaron una o dos gotas de lugol, se dejó actuar por un minuto y luego se decantó. Se decoloró con etanol hasta quitar el excedente de colorante. Por último, se adicionaron dos gotas de safranina y se dejó actuar por 30 seg y finalmente se enjuagó con agua corriente, se colocó una gota de aceite de inmersión para posteriormente observarse al microscopio compuesto.

Prueba de Gelatina

El medio de cultivo se conservó a 4°C y lo primero que se hizo fue tomar colonias bacterianas con un asa bacteriológica y se inoculó por punción vertical en los tubos. Por último, los tubos inoculados se incubaron a 28°C y se determinó la licuefacción del medio por cambio del color a las 24 horas y 48 horas.

Prueba de Hugh- Leifson

Se tomó colonia bacteriana con un asa bacteriológica que previamente fue flameada y se inoculo por punción vertical en los tubos, por último, los tubos

este caso se le aplicó a un tubo de aceite, y a otro no se incubaron a 28°C y se determinó el resultado en base al cambio de color a las 24 horas.

Prueba de sacarosa

Se tomó colonia bacteriana con un asa bacteriológica previamente flameada y se inoculo por punción vertical en los tubos, en esta prueba se aplicaron unas gotas del reactivo de Benedict y posteriormente los tubos fueron inoculados, en este caso se le aplicó a un tubo de aceite, y a otro no se incubaron a 28°C y se determinó el resultado en base al cambio de color a las 24 horas.

Pruebas de Arginina

Se tomó la colonia bacteriana con un asa bacteriológica previamente flameada y se inoculo por punción vertical en los tubos, por último, los tubos fueron inoculados, se incubaron a 28°C y se determinó el resultado en base al cambio de color a las 24 horas y 48 horas.

Crecimiento en YDC

Se tomó colonia bacteriana y con un asa bacteriológica previamente flameada se sembró por medio de estría múltiple en cajas con medio de cultivo YDC.

Identificación de hongos

Una vez que se observó el crecimiento en las cajas Petri se prosiguió a identificar el hongo. Se colocó una gota de lactofenol en el porta objetos para enseguida colocar la muestra que se raspo de la caja Petri con una aguja de disección y se colocó el cubre objetos. Ya teniendo la monta del hongo en el porta objeto se pasa a observar en el microscopio compuesto enfocado con el objetivo 4x para poder ubicar la estructura del hongo, luego al objetivo de 10x para observar las primeras partes del hongo y por último se ajustó a un objetivo de 40x. Para la identificación del hongo. La identificación del hongo se realizó en base a la morfología que se observó y al número de septos que presentaban

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó en base al crecimiento y a la morfología que presentaban las colonias la presencia de un hongo y una bacteria

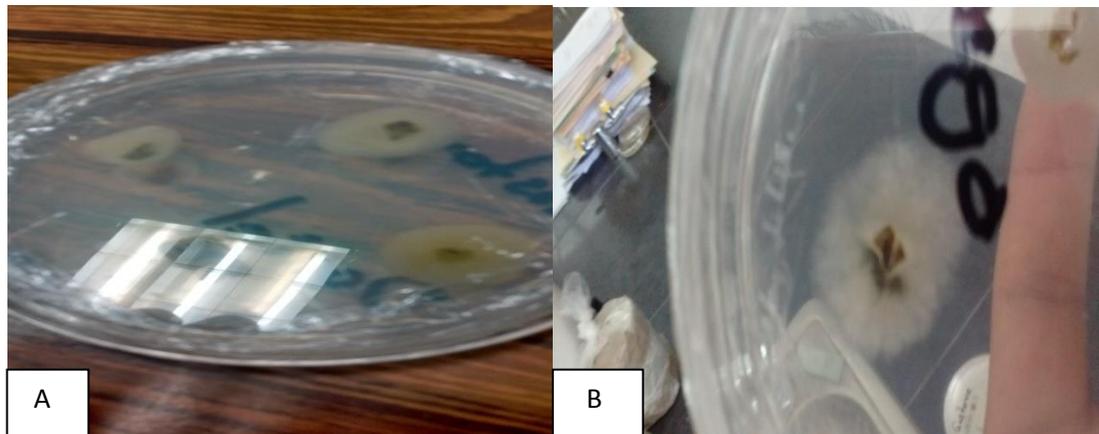


Figura 7. Resultados de la siembra de muestras de tomate A) Crecimiento de una bacteria B) Crecimiento de un hongo.

Posteriormente se realizó la resiembra de cada uno de ellos para así poder realizar las pruebas de identificación

Pruebas de Identificación para la Bacteria

Tinción gram

En base a esta prueba podemos confirmar que hay microorganismos Gram-positivos cuando aparecen teñidos de color azul-violeta y de Gram negativos cuando se visualizan de color rojo-rosado En este trabajo se observó una bacteria gram negativa de color rojo - rosa y de forma bacilar.

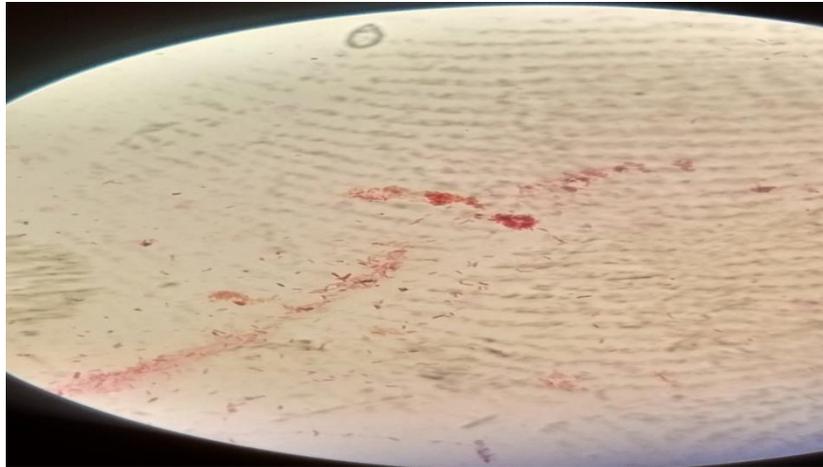


Figura 8. Fotografía del microscopio de la bacteria Gram negativa y de forma bacilar aislado de planta de tomate UAAAN 2016

De acuerdo a la bibliografía, las células Gram positivas retienen el cristal violeta cuando se tratan con etanol, mientras que las Gram negativas no lo tiñen y se tiñen entonces del color rojo de la safranina, esto se debe a que las células Gram negativas tienen un contenido graso muy elevado en su pared celular y al ser decoloradas pierden el complejo formado por cristal violeta tornándose incoloras y posteriormente al ser tratadas con safranina se tornan rojas y las Gram positivas de lo contrario retienen el complejo debido a la poca cantidad de lípidos en su pared (Montealegre, 2002).

Licuefacción de gelatina

En esta prueba, las dos muestras dieron positiva para licuefacción de gelatina. La literatura reporta que las especies *X. campestris* presenta resultados variables en cuanto a la producción de gelatinasa. La prueba se consideró positiva por el cambio de coloración que presentaron las muestras a las 24 horas.



Figura 9. Resultado de la prueba de licuefacción de gelatina de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2), M2 (tubo 3,4) y el ultimo testigo

Prueba Hugh-Leifson

Es una prueba que indica el tipo de metabolismo energético: respiratorio (O) o fermentador (F). Se suele utilizar glucosa como sustrato. Se detecta la acumulación de ácidos con un indicador ácido-base (azul de bromotimol). La bacteria se inocula con un asa bacteriológica (por picadura) y se incuba en condiciones de aerobiosis. Los resultados obtenidos de esta prueba fueron positivos, ya que los tubos prestaron cambios de coloración (Rodríguez, 2001).



Figura 10. Resultados de la prueba Hugh-Leifson de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2), M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo

Prueba de sacarosa

Los resultados para esta prueba fueron negativos ya que no se presentó en ningún tubo cambio de coloración



Figura 11. Resultados de la prueba de sacarosa de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2) M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo testigo

Prueba de arginina

En la prueba de dihidrolasa de arginina el resultado que se obtuvo fue una reacción negativa, para la producción de esta enzima, ya que tres tubos no presentaron cambios de coloración y solo uno presento cambio de coloración.



Figura 12. Resultados de prueba de arginina de izquierda a derecha M1 (tubo 1,2) M2 (tubo 3,4) y ultimo tubo testigo

Crecimiento en YDC (Extracto de Levadura Dextrosa)

A las 48 hrs de incubación en YDC, las dos muestras presentaron una coloración mucoide, una coloración amarilla. De acuerdo al manual de Schaad de 2001, la reacción fue positiva



Figura 13. Colonia de consistencia mucoide, de color amarillo, desarrollado en YDC a las 48 horas de incubación.

Cuadro 1. Resultados de las pruebas realizadas a las muestras bacterianas de tomate.

Prueba	Literatura	M1	M2
Tinción de Gram	---	---	---
Gelatina	V	+	+
Prueba de Hugh- Leifson	+	+	Media
Sacarosa	---	---	---
Arginina	---	Media	---
Crecimiento en YDC	+	+	+

Identificación del hongo

La identificación del hongo se realizó en base a la morfología que presentaban las laminillas que se realizaron y por el número de septos que presentaban y con ayuda del libro de géneros de *Alternaria*



Figura 14. Fotografía microscópica de esporas y micelio de *Alternaria alternata*

CONCLUSION

Se logró la identificación de los patógenos que están asociados a la enfermedad que se conoce como mancha parda en el tomate, los cuales fueron: . *Xanthomonas campestris pv vesicatoria* y *Alternaria alternata*.

LITERATURA CITADA

- Agrios G.N., 2005. Plant Pathology.Fifth Edition.Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. 992 pp.
- Alexopoulos, C.J., Mins, C.W and Blackwell, H. 1996. Introductory mycology. 4th Edition.Ed.John Wiley and Sons.Inc.New Cork.Pp. 632 y 869.
- Andersen .B. *et al.* García, M.J., Arnal, P. and Arana, J.I., 2001.Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisenand* *A.longipes*. Mycological Research 105: 291-299.
- Andrews S. 1992. Differentiation of *Alternaria* species isolated from cereals on dichloran malt extract agar. pp. 351-355 en: Samson RA et al., editores. Modern Methods in Food Mycology. Elsevier, Ámsterdam.
- Banco de México. 2014. Balanza de productos agropecuarios.
- Bradbury, J. F. 1984. Genus II. *Xanthomonas* Dowson 1929, 187, p. 199-210. *In:* N. R. Krieg and J. C. holt (ed), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Bruna V. A. 2003. Especial hortaliza. Tierra Adentro. Pag: 1 y 2. www.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR301111.pd
- Cruz, O.J.E., García, E. R. S. y Carrillo, F.J.A. 1998. Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán
- Folquier, F. 1976. El tomate, estudio de la planta y su producción comercial. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina
- FAO, 2002. Agriculture data. Obtenida de la red www.FAO.org FAO, 2002 Agriculture data. Obtenida de la red www.FAO.org.
- FAO, 2010. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. www.fao.org/index_es.htm

- Gitaitis, R., McCarter, S., Jones, J. B. 1992. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Florida. *Plant Disease*, v.76, n.7, p.651-656.
- Gil, V.I. 2000. Manual práctico de producción de jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) hidropónico bajo condiciones de invernadero. Departamento de Preparatoria Agrícola, U.A.Ch Chapingo. México.
- Goto, M. 1990. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*, Ed. Academic Press. New York.
- Goode, M. J., Passer, M. 1980. Prevention - key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. *Plant Disease*, v.64, n. 7, p.831-834
- Chamarro, L. J. 2001. Anatomía y fisiología de la planta, pp. 43-87. En: F. Nuez (Ed.) *El cultivo del tomate*. Editorial Mundi-Prensa México
- Infoagro,2012. El cultivo de tomate. <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate.htm>.
- Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter. 1991. *Compendium of tomato disease*, APS Press, P. 27
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E., and Zitter, T.A. eds. *Compendium of Tomato Diseases*. American Phytopathological Society st, Paul, MN
- Leyns, F., M. De Cleene, J.-G. Swings and J. De Ley. 1984. The host range of the genus *Xanthomonas*. *Bot Rev.* 50:308-356.
- Lopez, C. A., Quezado-Soares, A. M. 1997. Doenças bacterianas das hortaliças – diagnose e controle. Brasilia: Embrapa-CNPq. p.70.
- Marroquín, J. 2005. Etimología del tomate. En línea: <http://www.etimologias.dechile.net/?tomate>.
- Maroto B.J.V. 1989. *Horticultura herbácea especial*. 3º edición. Edit. Mundi Prensa. Madrid. España.

- Montealegre, 2002. Bacterias. Limusa, Mexico
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Editorial Mundi Prensa. Barcelona, España.
- Peralta, I., S. Knapp, and D.M. Spooner. 2005. New species of wild tomatoes (solanum section *Lycopersicum*: Solanaceae) from northern Peru. Syst . Bot. 30:424-434.
- Pohronezny, K., Waddill, V. H., Schuster, D. J., and Sonoda, R. M. 1986. Integrated pest management for Florida tomatoes. Plant Dis. 70:92-102
- Roberts *et al.* 2000. RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-spore *Alternaria* species and species groups. Mycological Research 104: 151-160.
- Rodríguez R.R., Rodríguez J.M.T y San Juan J.A.M 1984. Cultivo moderno del tomate. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Rodríguez M., M. L. 2001. Manual para identificación de bacterias
- SAGARPA, 2000. Anuario estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Volumen 1. Centro de Estadística Agropecuaria. D.F. México. pp.598-6187.
- Schaad, N. W. , A. K. Vidaver, G. H. Lacy, K. Rudolph, and J. B. Jones 2000. Evaluation of proposed amended names of several pseudomonads and xanthomonads and recommendations. Phytopathology 90:208-21
- SIAP 2014 Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Avances de Siembras y Cosechas.
- Stall, R. E. 1993. *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*: cause of bacterial spot of tomato and pepper. Pages 57-60 in: *Xanthomonas*. J. G. Swings and E. L. Civerolo, eds. Chapman and Hall, London, UK.

USDA, FAS. 2013. GAIN Report Number MX3045. "Mexico Tomato Annual: Tomato Suspension Agreement Key to Production and Trade Forecasts". Global Agricultural Information Network, 5/31/2013.

Valadéz, L. A. 1993. Producción de hortalizas. Cuarta edición. Ed. Limusa. México, D.F. pp: 157-163

Vauterin, L.; Hoste, B.; Kersters, K.; Swings, J. (1995) Reclassification of Xanthomonas. International Journal of Systematic Bacteriology 45, 472-489.

www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/htextocubierta.pdf.