

EL SERVICIO DE DIAGNÓSTICO DE LAS BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN CUBA: DESARROLLO Y ALCANCES

Marusia Stefanova Nalimova¹ y Armando García Suárez²

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, mstefanova@inisav.cu

² Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento 231 e/ San Pedro y Lombillo, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Se hace un recuento del desarrollo del diagnóstico de bacterias fitopatógenas en el país como una línea de trabajo iniciada por la década de los setenta del pasado siglo. Al desarrollarse la agricultura se introdujeron nuevas variedades de especies cultivables y se extendieron las áreas de siembra de viandas, hortalizas y granos, lo que impuso nuevos retos ante la sanidad vegetal por la necesidad de determinar los agentes causales de las patologías detectadas para la aplicación de las medidas adecuadas de control y manejo.

Palabras claves: diagnóstico, bacterias fitopatógenas, Cuba

ABSTRACT

The development of phytopathogenic bacteria diagnosis in Cuba is a work line that begun by the 70's of past century, because the increasing of agriculture development, the introduction of new crop species and the spread of arable areas planting of tubers crops, vegetables and grains, which imposed new challenges to plant health by the need to identify the causal agents of identified diseases in order to the implementation of appropriate control and management measures. The phases of that development are described in this paper.

Key words: diagnosis, phytopathogenic bacteria, Cuba

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de las bacterias fitopatógenas en Cuba, como una línea de trabajo, tuvo su inicio en la década de los setenta del pasado siglo, cuando el creciente desarrollo de la agricultura, la introducción de nuevas variedades de especies cultivadas y la extensión de las áreas de siembra de viandas, hortalizas y granos puso nuevos retos ante la sanidad vegetal con la necesidad de determinar los agentes causales de las patologías detectadas para la aplicación de las medidas adecuadas de control y manejo. La nueva actividad comenzó primero en el Laboratorio Central de Diagnóstico de la entonces Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, para extenderse paulatinamente a todas las provincias con el surgimiento de los laboratorios provinciales de sanidad vegetal (Laprosav). El análisis en condiciones de laboratorio de las muestras de plantas y semillas, recibidas por el departamento de Protección de Plantas y Cuarentena Vegetal, las visitas dirigidas a las áreas de producción, la atención a las problemáticas presentadas en el campo, la introducción y aplicación de métodos y técnicas novedosas, estudios etiológicos y

epidemiológicos detallados, contribuyeron al diagnóstico confiable de las bacterias fitopatógenas, respaldado por una información detallada en forma de fichas de intercepción por hospedante, especie y origen a nivel nacional, provincial y territorial, con colecciones de cepas representativas como material valioso de referencia. El desarrollo y la introducción de procedimientos para la detección y caracterización de los patógenos bacterianos se apoyaron en la experiencia y la colaboración de especialistas de Francia, Hungría, Bulgaria, Rusia y de otros países, quienes ofrecieron sus conocimientos a los técnicos cubanos que se iniciaban en la actividad. El trabajo en conjunto con centros docentes y científicos nacionales, la organización y participación en eventos especializados dentro y fuera del país contribuyeron al desarrollo y el reconocimiento de la actividad en el ámbito nacional e internacional. A continuación nos referimos a las intercepciones de mayor importancia, y al desarrollo y aplicación de métodos de detección y diagnóstico de las bacterias fitopatógenas en Cuba.

Detección y diagnóstico de bacterias y hospedantes en el territorio nacional

Las condiciones de Cuba, caracterizadas por temperatura y humedad altas, favorecen el desarrollo de las bacterias. De ellas las especies del género *Xanthomonas* resultan las predominantes y de mayor frecuencia en las intercepciones realizadas a lo largo de estos años. Una de las primeras enfermedades bacterianas diagnosticadas—que afectó severamente al tomate y el pimiento, principalmente a los semilleros— fue la mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*) [Hevesi *et al.*, 1971]. La bacteria ataca a todos los órganos aéreos de la planta: hojas, frutos, peciolo, pedúnculos y cáliz. Fue confirmada su transmisión por las semillas, que constituyen la vía principal de su diseminación. Se informó la presencia de la podredumbre negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) en varias crucíferas: col, mostaza, coliflor [Pazos y Hevesi, 1974; Stefanova *et al.*, 1988]. Los síntomas se desarrollan en todas las partes de la planta y en todas las fases de cultivo. Lesiones amarillas, en forma de V, típicas de la enfermedad, alcanzan las venas y llegan hasta la base del tallo. En 1978 se diagnosticó por vez primera una nueva bacteria en el cultivo de la cebolla, que fue caracterizada como especie perteneciente al género *Xanthomonas*, grupo *campestres* [Amat *et al.*, 1980]. En años recientes la bacteria fue denominada *Xanthomonas axonopodis* pv. *alli*. Este patógeno motivó afectaciones severas también en el ajo y en otras especies del género *Allium* [Amat *et al.*, 1987; Nápoles y Ramírez, 1990] en forma de manchas húmedas de color verde pálido, estrías cloróticas y tizón. A partir de hojas de lechuga, con manchas acuosas y translúcidas, se aisló la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*, que puede provocar el deterioro total del foliolo y el peciolo, seguido de un colapso de las plantas [Stefanova y Hernández, 1999]. La bacteriosis del frijol (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), señalada como la enfermedad bacteriana de mayor impacto en el cultivo, se diagnosticó en todas las variedades, con presencia de aislamientos moderada y altamente virulentos [Ovies *et al.*, 1987; Stefanova, 1996]. Otras especies del género—entre ellas las de mayor relevancia: *Xanthomonas campestris* pv. *glycinea*, *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*— y varias *Xanthomonas* sp., detectadas en diferentes especies de ornamentales y forestales, en soya, yuca, tabaco y otras [Albornoz, 1978; Querejeta *et al.*, 1990; Odio *et al.*, 1990; Cordovés, 1997], están incluidas en la «Lista de bacterias fitopatógenas de Cuba» [Stefanova, 1990].

Dos enfermedades importantes—no informadas con anterioridad— afectaron a partir de 1975 al cultivo de banano y plátano en Cuba, y también en la región. Una de ellas, caracterizada por pudrición blanda del rizoma y muerte prematura de la planta, resultó causada por la especie *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* [Rivera, 1978]. El agente causal de la otra sintomatología, consistente en pudrición acuosa del pseudotallo—que se extiende hacia dentro y a lo largo de las vainas, con el derrumbe de la planta principalmente en la fase de fructificación— fue diagnosticado como *Erwinia chrysanthemi* [Rivera, 1978]. La transmisión de las bacterias mediante el material de siembra aparentemente sano contribuyó a su diseminación y daños registrados en todas las provincias. Después de 1985 aparecieron cepas virulentas de *E. chrysanthemi*, posiblemente surgidas por el cambio varietal en estos dos cultivos, que se relacionaron con el síntoma de necrosis en el cormo, que podía ocasionar incluso el estrangulamiento de las plantas en la base del tallo [Rivera y Ezavin, 1989; Martínez *et al.*, 1989]. Durante el período 1975-1985 se registraron por vez primera otros nuevos hospedantes de *E. chrysanthemi* y de *E. carotovora* subsp. *carotovora*, entre ellos el tomate, el pimiento, la cebolla, el maíz, el girasol, varias especies de plantas ornamentales y otros [García y Monteanu, 1978; Nápoles, 1983; Stefanova *et al.*, 1983; Felipe y Pérez, 1990]; pero el cultivo más afectado de ellos resultó ser la papa, con severas pudriciones en condiciones favorables, tanto en el campo como en el almacén, con presencia de cepas más virulentas que otras [Martínez *et al.*, 1987; Franco *et al.*, 2004]. Las dos especies mencionadas también fueron diagnosticadas en el cultivo del tabaco [Pérez, 1981; Cruz *et al.*, 1991], donde provocan el tallo hueco, y pueden, vía sistémica, alcanzar las hojas, que llegan a descomponerse más tarde en las casas de secado.

La marchitez bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (sin. *Pseudomonas solanacearum* Smith) se registró en el cultivo de la papa primero [Pazos y Hevesi, 1974] y más tarde en el tomate y pimiento [Stefanova y Amat, 1978]. La bacteria, altamente peligrosa por su amplio rango de hospedantes y persistencia en el suelo, se investigó a fondo, en primer lugar los métodos de detección y diagnóstico para prevenir su diseminación y entrada de nuevas cepas. La puesta bajo cuarentena de los campos con el diagnóstico positivo y la aplicación de un programa de medidas establecidas mediante estudios epidemiológicos y de control tuvo repercusión favorable de contención por muchos años [Stefanova, 1998]. Actualmente la bacteria continúa incluida en el grupo 2 de la lista de patógenos objeto de cuarentena en Cuba.

La especie *Pseudomonas cichorii*, un polífago causante de manchas acuosas, que pueden conducir a una severa pudrición foliar, fue diagnosticada en pimiento [Rivera *et al.*, 1981], tomate [Pérez, 1984], frijol [Cruz y Stefanova, 1984], ajo [Stefanova *et al.*, 1984], *hibiscus* [Rodríguez e Hinojosa, 1986], habas limas [Stefanova *et al.*, 1987], malanga e higuera [Brooks *et al.*, 1988, Arencibia *et al.*, 1989], caléndula [Cordovés, 1990], dalia [Cordovés, 1990], cedro [Arencibia, 2000] y otros.

Dos nuevas enfermedades bacterianas, la escaldadura (*Xanthomonas albilineans*) y la gomosis (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vasculorum*) fueron detectadas en variedades de caña de azúcar introducidas en Cuba [Rivera *et al.*, 1982]. Más tarde se confirmó su presencia en el territorio nacional, y se realizaron estudios etiológicos, epidemiológicos y nuevos métodos para el diagnóstico de los agentes causales [Díaz, 2000]. Ambas patologías

y el raquitismo de los retoños (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) [Pérez *et al.*, 1980] constituyen las enfermedades bacterianas de mayor impacto en el cultivo.

Diagnóstico bacteriano en material vegetal importado

El análisis de los envíos de mercancías de productos vegetales de importación se inició a principios de la década de los setenta en el Laboratorio Central de Diagnóstico, y en 1982 se instituyó el Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal (LCCV), encargado hasta la fecha de diagnosticar la presencia de plagas cuarentenarias o exóticas en envíos que arriben al país.

Los principales patógenos bacterianos detectados en el LCCV desde su creación hasta el 2007 en productos vegetales provenientes del extranjero se muestran en la tabla siguiente:

Patógenos bacterianos	Producto vegetal	Año	Procedencia
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Tomate (frutos)	1991	Brasil
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Maíz (semillas)	1995	
<i>Burkholderia glumae</i>	Arroz (semillas)	2000	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	Papa (semilla)	1988, 1992, 1999, 2007	Canadá
	Papa (tubérculos, uso industrial)	2005	
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Papa (tubérculos)	1993	Chile
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	Arroz (semillas)	1987	Colombia
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	Frijol (semillas, posentrada)	1999	
<i>Pantoea herbicola</i>	<i>Strelitzia</i> (flor cortada)	1999	Costa Rica
<i>Ralstonia solanacearum</i>	<i>Heliconia</i> spp. (flor cortada)	1999	
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Papa (tubérculos)	1994	Ecuador
<i>Pseudomonas</i> sp. (no fluorescente)	Habas (semillas)	1992	Guatemala
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	Arroz (semillas)	1989	Guyana
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Papa (vitroplantas)	Posentrada 1994	Holanda
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	Frijol (semillas)	Posentrada 1999	Honduras
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Tomate (semillas)	1984	Hungría
<i>Pseudomonas cichorii</i>	Plantas ornamentales de <i>Gerbera</i>	1985	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Tomate (frutos)	1994-2001	México
<i>Erwinia chrysanthemi</i> ,	Semilla agámica de plátano	1981	Panamá
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	Maíz (semillas)	1987	Perú
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	Plantas de orquídea	1986	RDA
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	Plantas de orquídea	1986	Tailandia
<i>Pseudomonas syringae</i>	Arroz (semillas)	1986	Vietnam

Aunque nuestro país se rige por los requerimientos internacionales y se exigen certificados fitosanitarios de origen que especifiquen la no presencia en los productos importados de plagas cuarentenadas o exóticas, los resultados expuestos demuestran que no puede tenerse un ciento por ciento de confiabilidad, porque de hecho existen escapes de organismos altamente peligrosos que pudieran causar graves epidemias. Todo esto refuerza el criterio de poseer un sistema de cuarentena y diagnóstico altamente eficiente, sobre todo en los puntos de entrada que impida al máximo de cualquiera de estos agentes dañinos.

Desarrollo y aplicación de procedimientos y técnicas para el diagnóstico bacteriológico

Para el análisis de las muestras se emplearon, en primer lugar, los métodos clásicos de aislamiento, prueba de patogenicidad, reaislamiento y caracterización morfológica, fisiológica y bioquímica de las cepas bacterianas patógenas. El método de la cámara húmeda, la extracción de las bacterias por el método de remojado, seguido de concentración por centrifugación del sobrenadante y el triturado en seco, resultaron herramientas eficaces para el análisis bacteriológico de las semillas.

Desde un inicio el servicio de diagnóstico de las bacterias en Cuba se valió de medios de cultivos selectivos y semiselectivos, recomendados por la literatura para el aislamiento y la caracterización de los diferentes géneros y especies. A medida que se avanzó en los estudios etiológicos y epidemiológicos de los diferentes agentes causales, surgió la necesidad de medios de cultivos funcionales contra los contaminantes presentes en los tejidos vegetales y en el suelo bajo las condiciones de Cuba. Los medios de cultivos desarrollados contribuyeron a estudios de sobrevivencia en el suelo y en restos de cosecha, detección en semillas y plantas con síntomas avanzados, en agua y en otros nichos ecológicos. El aislamiento de *E. chrysantemi* a partir de plantas de plátano y la conservación de las cepas se optimizaron con el medio selectivo MNL, donde la bacteria desarrolla colonias características [Hevesi *et al.*, 1981]. Un medio de cultivo se adaptó para el aislamiento selectivo a partir de suelo de *X. vesicatoria* y otras especies del género *Xanthomonas*, que permite un recobrado de 95,4% [Amat *et al.*, 1985, 1990, 1998]. Se elevó la selectividad del medio KB para la especie *P. cichorii* con la adición de oxacilina sódica [Amat *et al.*, 1987] y se modificó el medio de cultivo de Okabe para la detección de *R. solanacearum* en el suelo [Hevesi *et al.*, 1987]. La caña de azúcar, por

su alto contenido de sacarosa, propicia el desarrollo de abundantes contaminantes que entorpecen el diagnóstico de los patógenos. Con el desarrollo de dos medios de cultivo semiselectivos se optimizó el aislamiento y diagnóstico de *X. albilineans* y *X. vascularum* a partir de las muestras frescas [Rivera *et al.*, 1985; Rodríguez *et al.*, 1985]. Se optimizó también el recobrado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* de plantas, residuos y suelo [Stefanova, 1996]. El aislamiento de las bacterias se mantiene como un paso necesario e imprescindible para el diagnóstico, principalmente cuando se trata de intercepciones de patógenos cuarentenados.

El empleo de la serología es otra de las herramientas utilizadas por las ventajas que ofrece la reacción inmunológica antígeno-anticuerpo específico. En el Laboratorio de Bacteriología del Inisav se produjeron por más de treinta años antisueros para el diagnóstico de las bacterias fitopatógenas con calidad avalada por los clientes tradicionales, que son principalmente los laboratorios provinciales y el Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal, y por los usuarios externos. Su utilización mediante técnicas convencionales y de avanzada, cuyos parámetros son estandarizados, optimiza la detección y el diagnóstico en frontera y dentro del país. Los inmunosueros a su vez contribuyen a la caracterización y relación serológica entre las cepas circulantes de las bacterias fitopatógenas, estudios que ofrecen una valiosa información para el diagnóstico por la definición de los serovares y los alcances de los inmunosueros empleados. La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), basada en la reacción antígeno-anticuerpo, puesta a punto para la detección de *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, *X. campestris* pv. *campestris*, *X. campestris* pv. *allicola*, *X. vesicatoria*, *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, *P. cichorii* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* permite la detección confiable a niveles de contaminación entre 10^3 y 10^4 ufc/mL en semillas de caña de azúcar, col, cebolla, frijol, pimiento y tomate [Pazos *et al.*, Amat *et al.*, 1994; Amat y García, 1997; Amat y Valdivia, 1999; Pérez, 2004]; se emplea además como técnica de rutina para la detección de *Xanthomonas albilineans* y *Xanthomonas axonopodis* pv. *vascularum* en caña de azúcar y en el LCCV. Actualmente la IFI está estandarizada para todas las bacterias registradas en Cuba y para especies cuarentenarias de gran impacto, mediante proyectos de investigación con países en cuyo territorio están presentes.

Las diferentes técnicas serológicas encontraron aplicación exitosa para el diagnóstico de *R. solanacearum* a

diferentes niveles de contaminación sintomática y latente en tubérculos y plantas. Se demostró la posibilidad de detectar de forma confiable poblaciones de la bacteria del rango de 10^5 cel/mL con ELISA-DAS como método de tamizaje. Con la estandarización de los parámetros de la IFI se corroboró la eficacia de la técnica para detectar las células de *R. solanacearum* en concentraciones de 10^4 - 10^5 ufc/mL en semillas de papa de importación [Stefanova, 1998]. Las diferencias cualitativas y cuantitativas entre los ácidos grasos presentes en los tubérculos de papa sanos y los afectados en diferentes grados por la bacteria pueden explotarse para el diagnóstico de la bacteria mediante la cromatografía gaseosa [Suárez y Stefanova, 1995]. El desarrollo y la validación de métodos inmunoquímicos y moleculares optimizaron el diagnóstico múltiple de la escaldadura foliar y el raquitismo de los retoños de la caña de azúcar [Pazos *et al.*, 1988; Díaz, 2000; Iglesias *et al.*, 2002; 2003; Matos *et al.*, 2002].

La inmunofluorescencia indirecta, unida a los métodos de recobrado directo, a la cámara húmeda y a medios de cultivo selectivos dentro de sistemas de diagnóstico por cada uno de los patógenos, optimiza la detección de las bacterias en las semillas y acorta la estadía de las muestras en el laboratorio. La eficacia del diagnóstico de *X. vesicatoria* se incrementa en 26% con la combinación del medio selectivo ABM y la IFI [Amat y García, 1997]. La técnica ELISA-DAS y ELISA indirecta, y el medio selectivo MNL, forman parte del diagnóstico de *E. chrysanthemi* en donantes asintomáticos de plátano en el sistema de micropropagación [González *et al.*, 2000]. Para el análisis cuarentenario de las semillas de papa de importación se implantaron, en la detección de *Ralstonia solanacearum* y de *Clavibacter michiganensis*, subsp. *sepedonicus*, los protocolos de la CEE y del servicio de protección de plantas de Canadá, respectivamente, con el empleo de kits de ELISA y de la IFI para el último patógeno utilizando anticuerpos monoclonales [Albornoz *et al.*, 2004].

La valiosa experiencia acumulada en el diagnóstico está recogida y aplicada en los laboratorios del sistema de la sanidad vegetal mediante procedimientos, protocolos, PNO y normas para garantizar la uniformidad y repetibilidad del proceso. El desarrollo e implantación de sistemas de diagnóstico, donde los métodos clásicos y de avanzadas son aplicados integralmente, continuará siendo la línea de trabajo para garantizar la eficacia en el diagnóstico y contención de las bacterias fitopatógenas.

REFERENCIAS

- Albornoz, A.: «La pústula bacteriana de la soya en Cuba», *Agrotecnia de Cuba* 10 (2):65-69, 1978.
- Albornoz, A.; M. Stefanova; A. García; I. Pérez: «Sistema diagnóstico para el análisis de patógenos bacterianos cuarentenados en semillas de papa importadas en Cuba», 44 Reunión Anual APS-División Caribe, La Habana, 24-28 de mayo, 2004
- Amat, Z.; A. García; N. Montero: «Aparición de una nueva enfermedad causada por *Xanthomonas* sp. en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.)». Memorias del VII Seminario del CNIC, 31 de oct. al 2 de nov., La Habana (s.n), 1980, p.16.
- Amat, Z.; P. Nápoles; I. Moreno; M. Valdivia; A. García; L. Larrinaga: «Una nueva bacteriosis en especies de *Allium*. Etiología, epidemiología y control». I Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. Resúmenes, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, 22-25 de sept., 1987, pp. 54 y 55.
- Amat, Z.; L. Marrero; L. Larrinaga: «Selectividad de un medio de cultivo en el aislamiento de *Pseudomonas cichorii* del suelo», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 10(2):39-46, Cuba, 1987.
- Amat, Z.; A. Hernández; M. de los A. Felipe; M. Valdivia; L. Larrinaga: «Comparación de la eficacia de varios medios de cultivos en la detección de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* en semillas de tomate y pimiento», *Fitosanidad* 3 (2):13-15, Cuba, 1998.
- Amat, Z.; A. García: «Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. en semillas de tomate y pimiento», *Fitosanidad* 1 (1-4):4-9, Cuba, 1997.
- Amat, Z.; M. Valdivia: «Detección de *Xanthomonas campestris* en semillas de cebolla utilizando la técnica de inmunofluorescencia indirecta», *Agro Enfoque*, edic. 104, Perú, marz. 1999, pp. 28-31.
- Arencibia, N.: «El cedro (*Cedrela odorata*), nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii*», *Fitosanidad* 4(1-2):23-27, Cuba, 2000.
- Cruz, R.; M. Stefanova: «Detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y romerillo cimarrón (*Lagascea mollis* Cav.)», revista *Protección Vegetal* 7(2-3):103-107, Cuba, 1992.
- Cordovés, M. M.: «Mancha foliar en caléndula (*Calendula officinalis*) y dalia (*Dalia* sp.) causada por *Pseudomonas cichorii* en la provincia de Camagüey», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 13(2):19-27, Cuba, may. 1990.
- : «*Xanthomonas campestris* pv. *aracearum*: Agente causal de la mancha foliar de la malanga (*Xanthosoma*)», *Fitosanidad* 1(1-4):10-11, Cuba, 1997.
- : «Mancha bacteriana en hojas y flores de cajigal (*Zinnia elegans*) en la provincia de Camagüey», *Protección de Plantas* 2 (2):41-50, Cuba, abr-jun. 1992.
- Cruz, R.; M. Stefanova; R. Pérez: «Distribución de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia* en áreas tabacaleras de Pinar del Río», revista *Protección Vegetal* 6 (1):11-16, Cuba, 1991.
- Díaz, M.: «Escaldadura foliar de la caña de azúcar en Cuba: caracterización, diversidad y diagnóstico molecular de su agente causal (*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson». Tesis de Doctorado, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria; Universidad Agraria de La Habana, 2000.
- Felipe, M. A.; M. Pérez: «Putridión bacteriana del tallo del girasol (*Helianthus annuus*). Etiología y pérdidas», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 13 (2):59-65, Cuba, 1990.
- Franco, Y.; M. Stefanova.; M. F. Coronado: «Patogenicidad y virulencia de aislamientos de *Erwinia* sp. en semillas de papa importadas», *Fitosanidad* 8 (4):45-47, Cuba, 2004.
- García, A.; G. Monteanu: «La pudrición bacteriana de la tallo de la maíz en Cuba», *Agrotecnia de Cuba* 10(2):59-64, Cuba, 1978.

- González, G.; Z. Amat; M. Castro: «Diagnóstico de virus y bacterias en el sistema de micropropagación del cultivo del plátano en Cuba», *Fitosanidad* 4(3-4):5-9, 2000.
- Hevesi, M.; D. Velazco; O. Fernández: «Mancha bacteriana del pimiento y tomate causada por *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) Dowson en Cuba», revista *CNIC* 3:1-2, Cuba, 1971.
- Hevesi, M.; N. Rivera; L. Pérez: «Medio selectivo para aislar y conservar *Erwinia chrysanthemi*», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 4(1):61-70, Cuba, 1981.
- Iglesias, A.; M. Díaz; E. L. Peralta: «Validación de métodos inmunoquímicos para el diagnóstico de *Leifsonia xyli* subs. *xyli*, agente causal del raquitismo de los retoños de la caña de azúcar» revista *Protección Vegetal* 17(1):20-24, Cuba, 2002.
- Iglesias, A.; M. Díaz; A. Álvarez; E. L. Peralta; V. Pazos: «Optimización del diagnóstico múltiple de la escaldadura foliar y el raquitismo de los retoños de la caña de azúcar», revista *Protección Vegetal* 18(1):19-22, Cuba, 2003.
- Martínez, N.; A. Albornoz; A. Cabrera: «Valoración de las pérdidas causadas por las bacterias del género *a:Erwinia* en papa almacenada en frigorífico de Jovellanos», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 10(4):97-104, Cuba, 1987.
- Martínez, N.; N. Rivera; R. Cabrera; W. Wvres: «Detección y comportamiento de la enfermedad necrosis del corno del plátano en la empresa V. Lenin en Matanzas», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 12(1):111-120, Cuba, 1989.
- Martínez, Y.; E. L. Peralta; M. González: «Detección de *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* mediante la técnica de Dot-Blot utilizando anticuerpos monoclonales», revista *Protección Vegetal* 9(1-3):63-68, Cuba, 1994.
- Matos, M.; E. L. Peralta; M. Casas; F. Jerez; J. R. Milián; F. Pérez: «Validación del UMELISA-DAS utilizando el lector SUMAPR521 en la detección de *Xanthomonas albilineas*», revista *Protección Vegetal* 17 (3):191, Cuba, 2002.
- Nápoles, P.: «Estudio del agente causal de la podredumbre acuosa de la zanahoria en Cuba», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 6(1):95-101, Cuba, 1983.
- Nápoles, P.; P. Ramírez: «Estudio de una nueva enfermedad bacteriana en el cultivo del ajo (*Allium sativum*) en Cuba», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 13(2):67-74, Cuba, 1990.
- Odio, N.; N. Arrencibia; A. Brooks; S. M. Lugo; Z. Amat: «Mancha bacteriana en *Colocasia esculenta* var. *Isleña Japonesa*, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 13(1):25-34, Cuba, 1990.
- Ovies, J.; M. Stefanova; A. Ma. Rodríguez; N. Martínez; B. Suárez: «El tizón bacteriana del frijol (*Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*): aspectos etiológicos y epidemiológicos». Resúmenes I Seminario Científico Internacional de Sanidad vegetal, 22-25 de sept., Palacio de Convenciones, La Habana, 1987, pp. 31 y 32.
- Pazos, V.; M. Hevesi: «Marchitamiento bacteriano de la papa», revista *CNIC* 5(2):131-142, Cuba, 1974.
- : «Ennegrecimiento de las nervaduras de la col», revista *CNIC* 5(2):121, Cuba, 1974.
- Pazos, V.; F. Fernández; I. Lagomasino: «Detección de *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* por inmunofluorescencia indirecta», revista *Protección Vegetal* 3(1):9-12, Cuba, 1988.
- Pérez, J. R.; M. López; M. Castro: «Detección de la enfermedad raquitismo de los retoños de la caña de azúcar en Cuba», *Ciencias de la Agricultura* 7:3-8, Cuba, 1980.
- Pérez, R.: «El tomate, nuevo hospedero de *Pseudomonas cichorii*», *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas* 7(2):27-36, Cuba, 1984.
- : «Primer reporte de *Erwinia chrysanthemi* en tabaco», *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas* 4(2-3):79-88, Cuba, 1981.
- Pérez, I.: «Caracterización de cepas de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* y estandarización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para su diagnóstico en semillas de tomate». Tesis en opción al título de Máster en Ciencias, Universidad Agraria de La Habana, 2004.
- Querejeta, M.; M. Cordovés; A. Brooks; I. Moreno; B. Piedra; M. A. Hernández: «Mancha bacteriana en especies forestales causada por *Xanthomonas* sp.», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 13 (4):51-60, Cuba, 1990.
- Rivera, N.: «Estudio comparativo de dos nuevas enfermedades bacterianas en áreas plataneras de Cuba», *Agrotecnia de Cuba* 10:35-44, 1978.
- Rivera, N.; Z. Amat; M. Hevesi: «Pudrición foliar del pimiento en Cuba causada por *Pseudomonas cichorii*», *Agrotecnia de Cuba* 13:67-72, 1981.
- Rivera, N.; M. Hevesi; M. Stefanova; A. Albornoz; N. Montero: «Detección de dos nuevas enfermedades bacterianas en variedades de caña de azúcar introducidas en Cuba», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas, Suplemento, dic.* 19-36, Cuba, 1982.
- Rivera, N.; A. García: «Método de detección de *Xanthomonas campestris* en semillas de col», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas, Suplemento, dic.* 93-98, Cuba, 1982.
- Rivera, N.; M. Ezavin: «Necrosis del corno del plátano causada por *Erwinia chrysanthemi*», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 12(2):59-70, Cuba, 1989.
- Rivera, N.; I. Rodríguez; M. Ezavin: «Medio selectivo para aislar *Xanthomonas albilineas*, agente causal de la escaldadura foliar de la caña de azúcar», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 8(2):75-88, Cuba, 1985.
- Rodríguez, A. M.; D. Hinojosa: «Mancha bacteriana en *Hibiscus elatus* L. causada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.», *Cienc. Téc. Agric. Protección de Plantas* 9 (3):103-113, Cuba, 1986.
- Rodríguez, I.; N. Rivera; M. Ezavin: «Medio selectivo para aislar *Xanthomonas campestris* pv. *vasculorum*», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 8(2):59-73, Cuba, 1985.
- Stefanova, M.; Z. Amat: «El marchitamiento bacteriano del tomate (*Lycopersicum esculentum*) y pimiento (*Capsicum annuum*) en Cuba», *Agrotecnia de Cuba* 10:71-78, 1978.
- Stefanova, M.; J. Ovies; I. Rodríguez: «Detección y estudio sexológico de *Erwinia chrysanthemi* en tomate», *Ciencias de la Agricultura* 17:13-24, Cuba, 1983.
- Stefanova, M.; J. Ovies; N. Montero: «Aparición de *Pseudomonas cichorii* en plantas de *Phaseolus lunatus* L.», *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas* 10(2):61-70, Cuba, 1987.
- Stefanova, M.; L. Larrinaga; L. Pérez: «Aparición de la podredumbre negra en plantas de mostaza (*Brassica nigra*) y col china (*Brassica pequinensis*)», *Cienc. Tecn. Agric. Serie Prot. Plantas* 11(3):113-120, Cuba, 1988.
- Stefanova, M.: «Aspectos etiológicos y epidemiológicos de la bacteriosis común del frijol en Cuba», I Taller Internacional sobre Bacteriosis Común del Frijol, Universidad de Puerto Rico, Profrijol, Documento 96 /2, pp. 120-134, 1996.
- : «Lista de bacterias fitopatógenas de Cuba», Inisav-Minagri, La Habana, 1990.
- Stefanova, M.; Y. Hernández: «Nueva bacteriosis en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en Cuba», revista *La Ceiba* 40(2):269-272, Honduras, 1999.
- Stefanova, M.: *Current Situation of Bacteria wilt (Ralstonia solanacearum Smith) in Cuba*, Bacterial Wilt Disease. Molecular and Ecological Aspects, Springer-Verlag, Berlín, 1998, pp. 364-368.
- Stefanova, M.; D. Rodríguez; R. Pérez; N. Montero: «Identificación de *Pseudomonas cichorii* en el cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) en Cuba», revista *Protección Vegetal* 7(1):5-7, Cuba, 1992.
- Suárez, B.; M. Stefanova: «Determinación del contenido de ácidos grasos de tubérculos de papa afectados por *Pseudomonas solanacearum* y *Erwinia chrysanthemi*», *Advances in Modern Biotechnology*. Book of short reports, vol. 3 II 55, Biotechnology Havana '95, Cuba, november 13th to 18th, 1995.