

**ANNA PRZETAKIEWICZ**

Pracownia Hodowli Odpornościowej, Zakład Fitopatologii  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

## *Ralstonia solanacearum* — sprawca śluzaka roślin psiankowatych

### *Ralstonia solanacearum* — the causative agent of brown rot of solanaceous species

W pracy przedstawiono biologię i epidemiologię bakterii patogenicznej *Ralstonia solanacearum* wywołującej chorobę określaną śluzakiem ważnych gospodarczo gatunków roślin. Szczególny nacisk położono na kompleksowość gatunku i szeroki zakres roślin podatnych na infekcję oraz sposoby rozprzestrzeniania się bakterii. W artykule opisane zostały objawy chorobowe wywołane infekcją patogena, zagrożenia związane z występowaniem infekcji latentnej oraz podstawowe metody detekcji *Ralstonia solanacearum* w porażonym materiale roślinnym.

**Słowa kluczowe:** diagnostyka choroby, objawy chorobowe, podatność na infekcję, przeżywalność, *Ralstonia solanacearum*, śluzak roślin psiankowatych

The paper presents biology and epidemiology of the pathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum* causing brown rot in economically important plant species. Particular emphasis was put on species complexity, broad range of plants susceptible to infection and on ways of bacterial dispersion. Symptoms of infection, risk associated with the latent infection and basic methods of detection of *Ralstonia solanacearum* in infected plant material are described in the paper.

**Key words:** brown rot of plants, diagnostic, disease symptoms, *Ralstonia solanacearum*, survival, susceptibility

#### WSTĘP

*Ralstonia solanacearum* Smith. (Yabuuchi i in., 1995) (syn. *Pseudomonas solanacearum*, *Burkholderia solanacearum*) jest gram-ujemną, patogeniczną bakterią glebową pochodzącą z wyżynnych regionów Peru i Boliwii (Van der Wolf i Perombelon, 1997) wywołującą chorobę nazywaną brunatną zgnilizną, brązową zgnilizną lub bakteryjnym wędnięciem roślin. W polskim nazewnictwie choroba ta określana jest mianem śluzaka roślin psiankowatych (Borecki i in., 1996). *Ralstonia solanacearum* poraża ponad 200 gatunków roślin należących do przeszło 50 rodzin. Zasięg roślin podatnych na infekcję obejmuje zarówno rośliny jedno- jak i dwuliścienne, jednoroczne, drzewa i krzewy (Hayward, 1991). Pełna lista gatunków podatnych na infekcję opubli-

kowana została w pracach Kelmana (1953), Bradbur'ego (1986), Persleya (1986) i Haywarda (1994 a).

*R. solanacearum* jest zdolna do przeżywania w niesprzyjających warunkach klimatycznych w głębszych warstwach gleby, w wodach powierzchniowych oraz w roślinach rezerwuarowych takich jak psianka słodkogórz (*Solanum dulcamara*), pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica*) i psianka czarna (*Solanum nigrum*) nie wywołując objawów chorobowych w organizmie gospodarza (Van der Wolf i Perombelon, 1997). Patogen atakuje wiele chwastów z rodziny psiankowate zwiększających populację bakterii w glebie i mogących pełnić funkcję gospodarzy alternatywnych w sytuacji, gdy na danym obszarze występują gatunki, których *Ralstonia* nie poraża (Hayward, 1994).

Dotychczas epidemie choroby wywołanej śluzakiem (polska nazwa patogena) odnotowywano w licznych krajach klimatu tropikalnego i subtropikalnego, a w ostatnich latach, w wyniku adaptacji do niższych temperatur, również w krajach klimatu miarkowanego (Grey i Steck, 2001). Obecnie na terytorium Europy sporadyczne epidemie brunatnej zgnilizny wystąpiły w Belgii, Holandii, Francji, Niemczech, Grecji, Włoszech, Portugalii, Hiszpanii i Anglii. Ostatnie dane donoszą o pojawieniu się izolowanych źródeł infekcji na Węgrzech i w Turcji. We wszystkich krajach Wspólnoty Europejskiej, w których w ostatnich latach doszło do porażenia roślin uprawnych przez *R. solanacearum* opracowano precyzyjne metody kontroli i prowadzenia sond polowych, pozwalających zidentyfikować zasięg rozprzestrzenienia się patogena i zapobiec jego dalszej ekspansji.

#### KLASYFIKACJA GATUNKU

Gatunek *R. solanacearum* stanowi niejednorodny kompleks form o zróżnicowanej biologii i szerokim zasięgu roślin żywicielskich. W licznych publikacjach został on podzielony na grupy, rasy, biowary, biotypy, patowary i szczepy. W latach 1962–1985 Buddenhagen i wsp. (1962, 1986) wyróżnili pięć ras *R. solanacearum* na podstawie testu patogeniczności na porażanych roślinach. Na bazie uzyskanych wyników rasa 1 była patogeniczna dla tytoniu, pomidora, bakłażana, diploidalnych bananowców oraz wielu gatunków chwastów z rodziny psiankowatych, a optimum temperaturowe dla wzrostu patogena wynosiło 35–37°C. Rasa 2, w tym samych warunkach temperaturowych, infekowała głównie drzewa bananowców (tzw. choroba Moko) oraz gatunki *Heliconia*. Gatunki *Solanum tuberosum* i *Lycopersicon esculentum* są porażane przez rasę 3 *R. solanacearum*, która nie jest wirulentna dla innych roślin psiankowatych. Najwyższy poziom infekcji rasy trzeciej obserwowano w temperaturze 27°C. W toku dalszych badań wyróżniono rasę 4 — patogeniczną dla imbiru (*Zingiber officinale*) i 5 — porażającą morwę (*Morus* ssp.).

Inny podział, zaproponowany przez Haywarda (1964, 1991), dzieli gatunek na cztery biowary na podstawie testów fizjologicznych. Biowary te jednak nie do końca odpowiadają rasom wyszczególnionym przez Buddenhagena i wsp. (1962). Rasy i biowary zostały łącznie zakwalifikowane do dwóch grup głównych na podstawie analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) (Cook i Sequeira, 1988).

Kolejny podział różnicuje gatunek na szczepy charakteryzujące grupę izolatów mających wspólny zasięg geograficzny, morfologię komórki, sposób przenoszenia przez owady i adaptacji do określonej temperatury oraz na patowary, obejmujące grupę szczepów bakteryjnych zdolnych wywołać objawy chorobowe na danym gatunku gospodarza roślinnego. Fegan i Prior (2005) uwzględniając heterogenność kompleksu *R. solanacearum* zaproponowali nowy schemat filogenetyczny oparty na podziale gatunku na grupy epidemiologiczne o podobnej patogeniczności, zakresie gospodarza roślinnego i pochodzeniu geograficznym. Pomimo skomplikowanej klasyfikacji *R. solanacearum* najczęściej w publikacjach stosuje się terminologię dzielącą gatunek na rasy i biowary.

#### OBJAWY CHOROBY

*Ralstonia solanacearum* wnika do organizmu roślinnego w miejscu uszkodzenia korzenia i zranień w łodydze oraz przez przetchlinki. Atakuje wiązki przewodzące w warunkach podwyższonej temperatury, a następnie rozprzestrzenia się i rozpoczyna kolonizację ksylemu (Xiao i in., 1983). Bakterie przytwierdzają się do ścian naczyń lub wnikają do przestrzeni międzykomórkowej. W wyniku zaczerwienia światła naczyń rozmnażającymi się bakteriami dochodzi do zahamowania przepływu wody i substancji mineralnych. U roślin ziemniaka pierwszym widocznym objawem infekcji jest więdnienie liści od podstawy ku wierzchołkowi łodygi w ciągu dnia, ustępujące w nocy (Smith i in., 1997). W przypadku roślin pomidora, jako pierwsze porażeniu ulegają najmłodsze liście, a wraz ze wzrostem gęstości populacji bakterii więdnie cała roślina. U roślin tytoniu podczas infekcji następuje jednostronne więdnienie liści lub nawet połowy blaszki liściowej. Przy silnym porażeniu liście więdną i pozostają przytwierdzone do pędu. U większości roślin objętych chorobą na liściach pojawiają się brązowe, ciemniejące plamy, a ogonki liściowe ulegają epinastii (Smith i in., 1997). Porażona roślina karłowacieje i ulega postępującej chlorozie. W zaawansowanym stadium choroby dolne partie łodygi na wysokości 2,5 cm i wyższej ponad powierzchnią gleby brązowieją lub czarnieją, co spowodowane jest silnym przebarwieniem wiązek przewodzących (DEFRA, 2001; Echandi, 1991). Gdy zasiedlenie tkanek przez patogena jest bardzo silne po złamaniu lub przecięciu łodygi z wiązek naczyniowych wydostaje się biała, śluzowata masa bakterii (Hay, 2001).

W zależności od stadium infekcji objawy stają się widoczne również na bulwach. W przypadku porażenia *Solanum tuberosum* w miejscach oczek i wyrastania łodygi obserwuje się wyciek bakterii w postaci białawych smug śluzu, do których przylegają grudki ziemi. W przekroju poprzecznym widoczne jest zbrunatnienie i nekroza pierścienia wiązek oraz otaczającej naczynia tkanki parenchymatycznej. Na przeciętej powierzchni, w obrębie pierścienia naczyń pojawia się kremowy, płynny śluz bakteryjny.

#### EPIDEMIOLOGIA GATUNKU

Gatunki z rodziny psiankowatych, jak i innych mogą być infekowane przez *R. solanacearum* w sposób widoczny oraz latentnie, bez wywoływania wyraźnych objawów

chorobowych. Odkrycie tego faktu miało olbrzymi wpływ na zrozumienie zagadnienia kwarantanny i na strategię hodowli. Transport porażonych bezobjawowo sadzoniaków ziemniaka w obrębie krajów Północnej i Południowej Europy był przyczyną licznych epidemii choroby w miejscach, w których dotychczas nie obserwowano występowania *Ralstonia solanacearum* (Turco i in., 1998). Odkrycie występowania infekcji bezobjawowej w roślinach niewykazujących objawów więdnienia i dotychczas uważanych za odporne wykazało potrzebę testowania materiału roślinnego w warunkach ułatwiających rozwój choroby (Hayward, 1994). Sposoby przenoszenia i rozprzestrzeniania się *R. solanacearum* w rozmnażanym wegetatywnie materiale roślinnym znane są od wielu lat (Buddenhagen i Kelman, 1964). Ten sposób roznoszenia patogena jest szczególnie istotny w przypadku sadzoniaków ziemniaka (Kelman i in., 1994). W ostatnich latach *R. solanacearum* wykryto w imporcie sadzonek geranium importowanych z Kenii do Belgii, Niemiec, Holandii i USA (Janse i in., 2005). Spowodowało to wprowadzenie w życie ścisłych i rygorystycznych regulacji prawnych dotyczących kwarantanny i sposobu transportu materiału roślinnego pomiędzy krajami. Przypuszcza się, że obecne występowanie i rozprzestrzenianie się *R. solanacearum* w uprawach polowych na terenie Europy wywołane jest selekcją i powstawaniem nowych odmian patogena zaadoptowanego do niższych temperatur (Timms-Wilson i in., 2001). Obecny rozwój choroby jak również sposoby przetrwania i rozprzestrzeniania się *R. solanacearum* są wynikiem interakcji wielu czynników nie do końca poznanych i przebadanych (Buddenhagen i in., 1962; Hayward, 1991; Kelman, 1953). Istnieje, więc potrzeba dokładnego testowania możliwie największej liczby elementów wpływających na ekspansję i przeżywalność *R. solanacearum* w zróżnicowanych warunkach środowiska.

Nieliczne raporty opisują przeżywalność bakterii w lub na nasionach pochodzących z zainfekowanych roślin, jednak wyniki tych badań są sprzeczne. Przenoszenie choroby przez porażone nasiona opisywano m.in. w badaniach nad transmisją *Ralstonia* u orzecha arachidowego (Machmund i Middleton, 1991) oraz w doświadczeniach nad sztucznie zakażanymi nasionami pomidora i papryki (Moffett i in., 1981). Przenoszenie patogena za pomocą nasion nie jest uważane za główny sposób roznoszenia choroby, niemniej w niektórych sytuacjach może mieć istotne znaczenie epidemiologiczne.

Jedną z przyczyn pojawienia się epidemii śluzaka w uprawach na terenie wielu krajów było nawadnianie pól wodami irygacyjnymi zakażonymi *R. solanacearum* (Elphinstone i in., 1998). W Anglii i Holandii zanieczyszczenie wód powierzchniowych spowodowane było wypływem ścieków pochodzących z zakładów przetwarzających zakażone ziemniaki oraz wód z miejskich oczyszczalni, zainfekowanych *Ralstonia solanacearum* (Elphinstone, 1996; Janse, 1996). W Egipcie, infekcja została zdiagnozowana w wodzie irygacyjnej i kanałach melioracyjnych znajdujących się w pobliżu zainfekowanych patogenem pól (Faraq i in., 1999), natomiast w Kenii porażenie sadzonek *Geranium* spowodowane było użyciem wody irygacyjnej zanieczyszczonej *Ralstonia solanacearum* (Janse i in., 2005). Przeżywalność bakterii w wodzie ma zatem istotne implikacje dla praktyk rolniczych (Olsson, 1976). Czynnikiem wpływającym na zdolność bakterii do przedłużania okresu żywotności i wzrostu w warunkach wodnych są temperatura, pH, poziom zasolenia oraz obecność rywalizujących, antagonistycznych pasożytów (Van Elsas

i in., 2001). Przeżywalność *R. solanacearum* w dużym stopniu zależy od temperatury otoczenia, gęstości inokulum i stanu fizjologicznego bakterii. Zakres temperatur dla przeżycia *Ralstonia solanacearum* w warunkach wodnych wynosi od 12 do 28°C.

Rośliną odgrywającą istotną rolę w przeżyciu *R. solanacearum* w niesprzyjających warunkach otoczenia jest chwast psianka słodkogórz (*Solanum dulcamara*) porastający licznie brzegi rzek w Europie (Van Elsas i in., 2001). Odgrywa on rolę rezerwuaru patogena, gromadząc i stopniowo uwalniając bakterie do pobliskich wód (Elphinstone, 1996; Janse i in., 1998). Innym chwastem rosnącym na brzegach rzek i ciągów wodnych jest pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica*) odgrywająca podobną rolę (Van Elsas i in., 2001).

Dotychczas pojawiło się kilka doniesień opisujących przeżywalność bakterii w glebie. Większość dostępnych wyników wskazuje, że *R. solanacearum* nie jest w stanie przeżyć w bruzdach gleby z dala od gospodarza roślinnego, za wyjątkiem krótkiego okresu czasu (Graham i Lloyd, 1979). W badaniach prowadzonych w Holandii nad przeżywalnością patogena w glebach klimatu umiarkowanego badacze zaobserwowali postępujący spadek zagęszczenia bakterii w czasie (Van Elsas i in., 2000). Uważa się, że długoterminowa przeżywalność patogena w glebie wiąże się z „odpoczynkiem” bakterii w otoczeniu ryzosfery roślin — gospodarzy, a następnie infekcją korzeni pobliskich roślin (Akiew i Trevorrow, 1994; Graham i in., 1979; Granada i Sequeira, 1983). Na przeżywalność bakterii w podłożu istotny wpływ ma typ gleby, jej wilgotność i temperatura (Nesmith i Jenkins, 1983; Nesmith i Jenkins, 1985; Shekhawat i Perombelon, 1991; Van Elsas i in., 2000).

#### DIAGNOZOWANIE CHOROBY I KONTROLA KWARANTANNA

Procedury dotyczące szybkiej i precyzyjnej detekcji choroby, zarówno w formie objawowej jak i latentnej, są opracowywane i aktualizowane przez około 20 placówek laboratoryjnych w wielu krajach Europy (Elphinstone i Stead, 2000). Do metod rekomendowanych przez organizację EPPO (OEPP/EPPO, 1990 a, 1990 b) należy metoda immunofluorescencji bezpośredniej prowadzona łącznie z testem patogeniczności prowadzonym na sadzonkach pomidora i potwierdzona analizą PCR (Boudazin i in., 1999; Opina i in., 1997; Pastrik i Maiss, 2000; Pastrik i in., 2002) oraz test ELISA (Caruso i in., 2002; Robinson-Smith i in., 1995). Do jednej z najnowszych technik detekcji infekcji latentnej należy hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (FISH) z wykorzystaniem sondy 23s rRNA (Wullings i in., 1998). Ta metoda może być wykorzystywana do wykrycia patogena zarówno w tkance roślinnej, w glebie jak i w wodzie. Adaptacja powyższych metod pozwoliła skutecznie zdiagnozować i kontrolować obecność i rozprzestrzenianie się *R. solanacearum* w wielu krajach z poza Europy. Ostatnio na rynku pojawiły się zestawy do detekcji i monitorowania patogena bezpośrednio na polu. Testy te oparte są na analizach serologicznych ELISA i umożliwiły w szybki sposób zdiagnozować i kontrolować rozprzestrzenianie się choroby m. in. na plantacjach bananów, pieprzu i polach ziemniaka w Boliwii, Peru, Kenii, Tajlandii i na Filipinach.

Obecnie nie istnieją żadne środki chemiczne do zwalczania *R. solanacearum*. Wykorzystanie do zwalczania patogena lub osłabienia jego agresywności fumigantów

glebowych okazało się niewystarczające (Murakoshi i Takahashi, 1984), a zastosowanie w opryskach antybiotyków nie dało pozytywnych efektów (Frag i in., 1986). Prowadzone są próby biologicznego zwalczania *R. solanacearum* z wykorzystaniem antagonistycznego działania bakterii *Bacillus polymyxa* i *Pseudomonas fluorescens* (Aspiras i Cruz, 1985). Jedną z form zapobiegania rozprzestrzenianiu się bakterii jest wykorzystywanie certyfikowanych odmian roślin uprawnych oraz stosowanie rotacji upraw, co znacznie zmniejsza ryzyko roznieśienia i osłabia potencjał infekcyjny patogena (Autrique i Potts, 1987). Doświadczenia prowadzone w USA wykazały, że duży wpływ na zahamowanie rozwoju choroby oraz spadek aktywności *R. solanacearum* miały zmiany pH gleby poprzez zastosowanie nawozów mineralnych. W przypadku uprawy ziemniaków obniżenie pH do 4–5 w sezonie letnim, a następnie wzrost do pH 6 jesienią w istotny sposób ograniczyło liczebność populacji patogena w glebie (Smith i in., 1997).

W związku z pojawianiem się choroby kwarantannowej wywołanej przez *Ralstonia solanacearum* w krajach Wspólnoty Europejskiej podjęte zostały kroki w celu określenia rygorystycznych metod kontroli ujętych w Dyrektywie 98/57/EC z dnia 20 lipca 1998 roku (Anon., 1998), mających na celu określenie sposobu rozprzestrzeniania się patogena w obszarze epidemii oraz metod jego usuwania. Wytypowanie bakterii z obszarów epidemii dotyczyło głównie usuwania *Solanum dulcamara* — rośliny stanowiącej rezerwuuar bakterii patogenicznej i rosnącej powszechnie w pobliżu brzegów rzek i wód wykorzystywanych do nawadniania pól (Elphinstone i in., 1998; Janse i in., 1998). Systematyczne kontrole magazynowanych plonów, badania powierzchni wód irygacyjnych oraz urzędowe wydzielenie i zakaz uprawy na zarażonych bakterią polach znacznie zredukowały ryzyko rozprzestrzeniania się patogena w uprawach polowych.

Sposoby zwalczania i zapobiegania rozprzestrzenianiu się *R. solanacearum* w uprawach na obszarze Polski ujęte zostały w Rozporządzeniu MRiRW z dnia 13 kwietnia 2004 roku.

#### LITERATURA

- Akiew E., Trevorrow P. R. 1994. Management of bacterial wilt of tobacco. In: Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward and G. L. Hartman eds. CAB International, United Kingdom: 179 — 198.
- Anon. 1998. Council Directive 98/57/EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Official J. Eur. Commun. L. 235: 1 — 39.
- Aspiras R. B., Cruz A. R. de la. 1985. Potential biological control of bacterial wilt in tomato and potato with *Bacillus polymyxa* FU6 and *Pseudomonas fluorescens*. In: Bacterial wilts diseases in Asia and the South Pacific. ACR Proceedings No. 13: 126 — 133.
- Autrique A., Potts M. J. 1987. The influence of mixed cropping on the control of bacterial blight wilt (*Pseudomonas solanacearum*). Ann. Appl. Biol. 111: 125 — 133.
- Boudazin G., Le Roux A. C., Josi K., Labare P., Jouan B. 1999. Design of division specific primers of *Ralstonia solanacearum* and application to the identification of European isolates. Eur. J. Plant Pathol. 105: 373 — 380.
- Borecki Z. 1996. Polskie nazwy chorób roślin uprawnych. Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne, Poznań.
- Bradbury J. F. 1986. Guide to the plant pathogenic bacteria. CAB International, Wallingford, UK.
- Buddenhagen I. W., Kelman A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 203 — 230.

- Buddenhagen I. W., Sequeira L., Kelman A. 1962. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52: 726.
- Buddenhagen I. W. 1986. Bacterial wilt revisited. In: Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Banos, Phillipines, 8–10 October 1985, edited by G. Persley. Canberra: ACIAR: 126 — 143.
- Caruso P., Morris M. T., Cambra M., Palomo J. L., Collar J., Lopez M. M. 2002. Enrichment Double-Antibody Sandwich Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay that uses a specific monoclonal antibody for sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in asymptomatic potato tubers. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3634 — 3638.
- Cook D., Sequeira L. 1988. The use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in taxonomy and diagnosis. *Bacterial Wilt Newsletter*, ACIAR No. 4: 4.
- DEFRA. 2001. Ring rot and brown rot of potato. Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA). <http://www.defra.gov.uk/plant/pestnote/rot.htm>.
- Echandi E. 1991. Bacterial wilt. In: Compendium of tobacco diseases (Ed. By Shew, H. D.; Lucas, G. B.). American Phytopathology Society, St. Paul, Minnesota, USA: 33 — 35.
- Elphinstone J. G. 1996. Survival and possible extinction of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in cool climates. *Potato Res.* 39: 403 — 410.
- Elphinstone J. G., Stanford H., Stead D. E. 1998. Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers, *Solanum dulcamara* and associated irrigation water. In: Bacterial wilt disease: Molecular and ecological aspects. P. Prior, C. Allen, and J. Elphinstone, eds. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany: 133 — 139.
- Elphinstone J. G., Stead D. E. 2000. Standardization of methods for detection of *Ralstonia solanacearum* in potato. *EPPO Bulletin* 30: 391 — 396.
- Farag N. S., Fawzi F. G., El-Said S. I. A., Mikhail M. S. 1986. Streptomycin in relation to potato brown rot control. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 21: 115 — 122.
- Farag N., Stead D. E., Janse J. D. 1999. *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* race 3 biovar 2 detected in surface (irrigation) water in Egypt. *J. Phytopathol.* 147: 485 — 487.
- Fegan M., Prior P. 2005 How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”? In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. Allen C., Prior P., Hayward A. C. eds. American Phytopathology Society, St. Paul, Minnesota, USA: 449 — 461.
- Graham J., Jones D. A., Lloyd A. B. 1979. Survival of *Pseudomonas solanacearum* race 3 in plant debris and in latently infected potato tubers. *Phytopathology* 69: 1100 — 1103.
- Graham J., Lloyd A. B. 1979. Survival of potato strain (race 3) of *Pseudomonas solanacearum* in the deeper soil layers. *Aust. J. Agri. Res.* 30: 489 — 496.
- Granada G. A., Sequeira L. 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere and plant roots. *Can. J. Microbiol.* 29: 433 — 440.
- Grey B. E., Steck T. R. 2001. The viable but nonculturable state of *Ralstonia solanacearum* may be involved in long-term survival and plant infection. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 3866 — 3872.
- Hay R. K. M. (ed). 2001. Scientific review 1997–2000. Scottish Agricultural Science Agency, Edinburgh, Scotland.
- Hayward A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 29: 65 — 87.
- Hayward A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bacteriol.* 27: 265 — 277.
- Hayward A. C. 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Bacterial wilt: The disease and its Causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward and G. L. Hartman, eds. CAB International, UK: 9 — 24.
- Hayward A. C. 1994 a. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum* (Ed. By Hayward, A. C.; Hartmann, G. LCAB International, Wallingford, UK): 9 — 24.
- Janse J. D. 1996. Potato brown rot in Western Europe: history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 26: 679 — 685.
- Janse J. D., Araluppen F. A. X., Schans J., Wenneker M., Westerhuis W. 1998. Experience with bacterial brown rot *Ralstonia solanacearum* biovar 2, rase 3 in the Netherlands. In: Bacterial Wilt Disease. Molecular and

- Ecological Aspects. P. Prior, C. Allen, and J. Elphinstone, eds. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany: 46 — 152.
- Janse J. D., van den Beld H. E., Elphinstone J., Simpkins S., Tjou-Tam-Sin L. N. A., van Vaerenbergh J. 2005. Introduction to Europe of *Ralstonia solanacearum* Biovar 2, Race 3 in *Pelargonium zonale* Cuttings from Kenya. In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. ed. Allen C., Prior P., Hayward A. C. American Phytopathology Society, St. Paul, Minnesota, USA: 81 — 94.
- Kelman A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. C. Agr. Res. Sta. Tech. Bull.: 99.
- Kelman A. 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693 — 695.
- Kelman A., Hartman G. L., Hayward A. C. 1994. Introduction. In: Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward and G. L. Hartman, eds. CAB International, UK: 1 — 8
- Machmund M., Middleton K. J. 1991. Transmission of *Pseudomonas solanacearum* through groundnut seed. *ACIAR Bact. Wilt News*. 7: 4 — 5.
- Moffett M. L., Wood B. A., Hayward A. C. 1981. Seed and soil: sources of inoculum for the colonization of the foliage of *solanaceous* hosts by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Appl. Biol.* 98: 403 — 411.
- Murakoshi S., Takahashi M. 1984. Trials of some control of tomato wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Bulletin of the Kanawaga Horticultural Experiment Station No.* 31: 50 — 56.
- Nesmith W. C., Jenkins S. F., Jr. 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in selected North Carolina soils. *Phytopathology* 73: 1300 — 1304.
- Nesmith W. C., Jenkins S. F., Jr. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. *Phytopathology* 75: 1182 — 1187.
- OEPP/EPPO 1990 a. Quarantine procedures No. 26, *Pseudomonas solanacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 8: 2.
- OEPP/EPPO 1990b. Specific quarantine requirements. EPPO Technical Documents No. 1008.
- Olsson K. 1976. Experience of brown rot caused by *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in Sweden. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 6: 199 — 207.
- Opina N., Taner F., Holloway G., Wang J.-F., Li T. H., Maghirang R., Fegan M., Hayward A. C., Krishnapillai V., Hong W. F., Holloway B. W., Timmis J. N. 1997. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas solanacearum*). *Asian-Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.* 5: 19 — 33.
- Pastrik K. H., Maiss E. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers by polymerase chain reaction. *J. Phytopathol.* 148: 619 — 626.
- Pastrik K. H., Elphinstone J. G., Pukall R. 2002. Differentiation and identification of *Ralstonia solanacearum* biovars by RAPD-PCR and analysis of amplified 16S-23S ribosomal intergenic spacer region. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 831 — 842.
- Persley G. J. (ed.). 1986. Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Banos, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Press, Canberra.
- Robinson-Smith A., Jones P., Elphinstone J. G., Forde S. M. D. 1995. Production of antibodies to *Pseudomonas solanacearum*, the causative agent of bacterial wilt. *Food Agric. Immunol.* 7: 67 — 79.
- Seal S. E., Jackson L. A., Young J. P. W., Daniels M. J. 1993. Differentiation of *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, *Pseudomonas picketti* and blood disease bacterium by partial 16S rRNA sequencing: construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction. *J. Gen. Microbiol.* 139: 1587 — 1594.
- Shekhawat G. S., Perombelon M. C. M. 1991. Factors affecting survival in soil and virulence of *Pseudomonas solanacearum*. *Z. Pflanzenk. U. Pflanzenschutz.* 98: 258 — 267.
- Smith I. M., McNamara D. G., Scott P. R., Holderness M. 1997. *Ralstonia solanacearum*. In *Quarantine Pests for Europe* 2<sup>nd</sup> edition. EPPO/CABI.
- Timms-Wilson T. M., Bryant T., Bailey M. J. 2001. Strain characterization and 16S-23S probe development for differentiating geographically dispersed isolates of the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. *Environ. Microbiol.* 3: 785 — 797.



- Turco P., Saccardi A., Piazza E., Martini G., Melegatti A., Xodo E., Gambin E. 1998. Monitoring of *Ralstonia solanacearum* in the Veneto region (Italy). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 28: 85 — 92.
- Van der Wolf J., Perombelon M. 1997. Potato brown rot in temperate regions — a review. <http://www.spud.co.uk/external/PROF/RESEARCH/scr/brownro3.htm>.
- Van Elsas J. D., Kastelein P., de Vries P. M., van Overbeek L. S. 2001. Effects of ecological factors on the survival and physiology of *Ralstonia solanacearum* bv 2 in irrigation water. Can. J. Microbiol. 47: 842 — 854.
- Van Elsas J. D., Kastelein P., van Bekkum P., van der Wolf J. M., de Vries P. M., van Overbeek L. S. 2000. Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative agent of potato brown rot, in field and microcosm soils in temperate climates. Phytopathology 90: 1338 — 1366.
- Xiao L. Z., Zhu Z. D., He K. L., Zhou M. N., Lin G. F. 1983. Observations of the infected portion of mulberry bacterial wilt by scanning electron microscopy. Sci. Sericult. 9: 58 — 59.
- Wullings B. A., Van Beuningen A. R., Janse J. D., Akkermans A. D. L. 1998. Detection of *Ralstonia solanacearum*, which causes brown rot of potato, by fluorescent *in situ* hybridization with 23S rRNA-targeted probes. Appl. Environ. Microbiol. 64: 4546 — 4554.
- Yabuuchi E., Kosako Y., Yano I., Hotta H., Nishiuchi Y. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. Microbiol. Immunol. 39: 897 — 904.