

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL**



INDUCCION DE RESISTENCIA SISTEMICA EN TOMATE

***Lycopersicon esculentum* (Miller), HACIA *Alternaria solani* (Ellis y Martin), CON**

AGENTES QUIMICOS Y BIOLÓGICOS

ELABORADO POR:

**SANTOS EULISES CASTRO QUIJANO
RICARDO JAVIER CORTEZ DUBON
CALIXTO DE JESUS MARTINEZ PALMA**

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, ENERO DE 2002

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA:

Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIO GENERAL:

Licda: LIDIA MARGARITA MUÑOZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

Ing. Agr. MSc. FRANCISCO LARA ASCENCIO

DECANO:

Ing. Agr. JORGE ALBERTO ULLOA ERROA.

SECRETARIO

JEFE DEL DEPARTAMENTO:

Ing. Agr. GUSTAVO HENRÍQUEZ MARTÍNEZ

ASESOR:

Ing. Agr. MSc. WILFREDO ANDES RIVAS FLORES

JURADOS EXAMINADORES:

Ing. Agr. MSc. RAFAEL MENJÍVAR ROSA

Ing. Agr. EDGARDO WIGBERTO LARA RODRÍGUEZ

Ing. Agr. MSc. JOSÉ MIGUEL SERMEÑO CHICAS

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de investigación e invernáculo del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, de enero a julio del 2001. El propósito del estudio, fue evaluar el efecto de inducción de resistencia sistémica (SAR) en tomate hacia *Alternaria solani*, mediante agentes químicos y biológicos. El proyecto se desarrollo en dos fases: La de laboratorio, consistió en la búsqueda, aislamiento, reproducción del hongo y pruebas de compatibilidad de los agentes químicos con el hongo y con el agente biológico, con el fin de separar el efecto antagónico que pudiera ejercer algún tratamiento químico. Fase de invernáculo de vidrio, en la cual las plantas fueron inoculadas con el patógeno *A. solani* a los 32 días d edad; los síntomas típicos de la enfermedad aparecieron 15 días después de inoculado el hongo. Los tratamientos utilizados fueron: las sales K_2HPO_4 50 mM, KCL 50 mM, Paraquat 12 mM, Mancozeb 12 gr/Lt, *Bacillus thuringiensis* 10 gr/Lt y *Bacillus subtilis* 10^5 UFC. De las pruebas realizadas en la fase de laboratorio se determinó que el Paraquat y el Mancozeb inhibieron el crecimiento del hongo a las 72 horas y el de la bacteria a las 48 horas. Parámetro que sirvió para eliminar el Paraquat en la siguiente fase. En el invernáculo las variables evaluadas fueron Incidencia (porcentaje de plantas enfermas), Severidad (porcentaje de tejido dañado), número de lesiones, tamaño de lesiones en mm. y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Los resultados obtenidos estadísticamente no fueron significativos, pero al observar el comportamiento biológico de la enfermedad se determinó que la sal fosfatada K_2HPO_4 y la bacteria *Bacillus thuringiensis* se comportaron de manera similar al

fungicida comercial Dithane[®] 80 wp (Mancozeb) en el control de la enfermedad del tizón temprano.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO.

Por habernos permitido lograr nuestro objetivo de ser profesionales.

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Por formarnos como profesionales para servir a nuestro país.

A FEPADE*.

Por colaborar de forma desinteresada en el desarrollo de mis estudios.

A NUESTRO ASESOR.

Ing. Agr. MSc. Wilfredo Andrés Rivas Flores, por su colaboración en el desarrollo del trabajo de investigación.

A LOS DOCENTES DE LA FACULTAD.

Por enseñarnos conocimientos y experiencias que serán de provecho en nuestro campo profesional.

A LA Sr. GRISELDA, ENCARGADA DEL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL.

Por su colaboración y dedicación en las actividades desarrolladas en el laboratorio.

A NUESTROS COMPAÑEROS.

Por compartir todos estos años de amistad.

AL PERSONAL DE LA BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS.

Por su valiosa atención y colaboración en todo el proceso educativo.}

AL JURADO EXAMINADOR.

Por su capacidad de criterios y sugerencias para mejorar el trabajo de investigación.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS.

Que en forma directa e indirecta estuvieron pendientes del proceso de nuestro trabajo.

SANTOS EULISES CATRO QUIJANO*

RICARDO JAVIER CORTEZ DUBON

CALIXTO DE JESÚS MARTINEZ PALMA

DEDICATORIA

A DIOS.

Por guiarme e iluminarme en el camino de mis estudios, y no haberme dado espíritu de cobardía, si no de poder, amor y buen juicio.

A MIS PADRES.

Luisa Antonia Quijano y Santos Antonio Castro, que me apoyaron moral y espiritualmente en los momentos más duros y me dieron fuerzas para culminar con éxito mis anhelos.

A MI ESPOSA E HIJO.

Ana Silvia Avilés, que me soportó y comprendió en momentos de ira y cansancio; dándome palabras de aliento para seguir adelante. A mi hijo Marcos Ulises, que con sus risas y caricias sirvieron de inspiración.

A MIS FAMILIARES.

Que de forma directa e indirectamente mostraron su apoyo en el logro de mis estudios.

SANTOS EULISES CASTRO QUIJANO

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO.

Por haberme dado la sabiduría necesaria para realizar mis estudios superiores

A MIS PADRES.

Ricardo y Dina, quienes me dieron su apoyo incondicional para la finalización de la carrera.

A MI ESPOSA.

Mayra, que supo darme palabras de apoyo y de aliento en los momentos mas difíciles, a demás de estar siempre como una amiga para escuchar mis problemas.

A MIS HERMANOS.

Manuel y Dina, que de una u otra manera contribuyeron a la culminación de mis estudios.

A MI ABUELO.

Nazario Dubon (Q.E.P.D), quien despertó en mi el interés por las plantas y en especial por los animales, para estudiar ésta carrera.

A MIS AMIGOS Y FAMILIARES.

Que con palabras o una sonrisa me dieron el aliento necesario durante mis estudios.

RICARDO JAVIER CORTEZ DUBON

DEDICATORIA

A NUESTRO SEÑOR JESUCRISTO.

Por haberme iluminado el camino, dotado de sabiduría, y mantener la fe de alcanzar tan esperado triunfo en la vida.

A MIS PADRES.

Por apoyarme incondicionalmente en cada momento y depositar la confianza en mí.

A MI ESPOSA E HIJA.

Que me han enriquecido y enseñado el camino de la felicidad.

AL AMIGO Y MAESTRO DE LA VIDA.

Angel Arnaiz Quintana, por creer en mí, enseñarme ha ser hombre de fe, haberme dado la confianza y apoyar la educación de los más empobrecidos.}

A LA COMUNIDAD NUEVA ESPERANZA.

Que de una u otra manera se han preocupado para que nosotros podamos salir adelante en los estudios y ayudar a los mas necesitados, compartiendo nuestros conocimientos.

A MIS AMIGOS

Que estuvieron apoyándome moralmente y dándome fuerzas para seguir
adelante.

CALIXTO DE JESÚS MARTINEZ PALMA

INDICE

CONTENIDO	PAGS
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vii
INDICE	x
INDICE DE CUADROS	xiii
INDICE DE FIGURAS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Generalidades del cultivo de tomate <i>Lycopersicon esculentum</i>	3
2.2. Enfermedades de importancia en el cultivo de tomate	4
2.2.1. Tizón temprano <i>Alternaria solani</i>	5
2.2.1.1 Características morfológicas del hongo <i>Alternaria solani</i>	6
2.2.1.2 Clasificación taxonómica	6
2.2.1.3. Epidemiología	7
a) Sintomatología	7
b) Periodo de incubación	8
c) Diseminación y sobrevivencia	8
d) Ciclo de vida de <i>Alternaria solani</i>	9
e) Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad	10
f) Control	11

2.3. Métodos alternos de control de enfermedades	12
2.3.1 Inducción de resistencia sistémica (SAR)	12
2.3.1.1 Avances en la resistencia genética de la planta a enfermedades	14
2.3.1.2 Inducción de resistencia	14
2.3.1.3 Inducción de resistencia por agentes químicos	16
2.3.1.4 Inducción de resistencia por agentes biológicos	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Fase de laboratorio	19
3.1.1. Búsqueda, aislamiento y reproducción del <i>Alternaria solani</i>	19
3.1.2. Pruebas de compatibilidad de los agentes químicos con <i>Alternaria solani</i>	20
3.1.3. Pruebas de compatibilidad de los agentes biológicos con los Químicos	20
3.1.4. Estandarización de la concentración para la inoculación de las plantas en el invernáculo de vidrio	22
3.2. Fase de invernáculo de vidrio	23
3.2.1. Manejo del cultivo de tomate	23
3.2.2. Distribución de los tratamientos	25
3.2.3. Aplicación de tratamientos químicos y biológicos	26
3.2.4. Inoculación del patógeno	27
3.2.5. Evaluación del control de la enfermedad y aparecimientos de síntomas	28
3.3. Metodología estadística	29

3.3.1. Factor en estudio	29
3.3.2. Variables a evaluar	29
3.3.2.1. Laboratorio	29
3.3.2.2. invernáculo de vidrio	29
3.3.3. Diseño estadístico	30
3.3.3.1. Modelo matemático	31
3.3.3.2. Descripción de la unidad experimental	31
3.4. Análisis de los datos	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Laboratorio	33
4.1.1. Compatibilidad de los agentes químicos con <i>Alternaria solani</i>	33
4.1.2. Compatibilidad de los agentes biológicos con los químicos	35
4.2. Invernáculo de vidrio	36
4.2.1. Incidencia (% de plantas enfermas)	36
4.2.2. Severidad (% de tejido dañado)	38
4.2.3. Número de lesiones	39
4.2.4. Tamaño de lesiones en mm	41
4.2.5. Area bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)	42
5. CONCLUSIONES	46
6. RECOMENDACIONES	47
7. LITERATURA CITADA	48
8. ANEXOS.	

INDICE DE CUADROS

Contenido	Pags
Cuadro. 1 Tratamientos utilizados en la fase de laboratorio para las pruebas	25
Compatibilidad	26
.....	
Cuadro. 2 Tratamientos utilizados en la fase de invernáculo de vidrio	34
.....	
Cuadro. 3 Análisis de varianza correspondiente al crecimiento radial en mm de <i>Alternaria solani</i>	34
.....	
Cuadro. 4 Resultado de la prueba de Dunnett correspondiente al crecimiento radial en mm de <i>A. solani</i>	36
.....	
Cuadro. 5 Temperaturas tomadas dentro del invernáculo de vidrio de la Facultad de Ciencias Agronómicas 2001	37
.....	
Cuadro. 6 Análisis de varianza correspondiente al porcentaje de incidencia de seis tratamientos usados como inductores de SAR hacia <i>A. solani</i> ...	38
.....	
Cuadro. 7 Análisis de varianza del promedio del porcentaje de	40
.....	
	41
	43

severidad de *A.*

solani

.....

Cuadro. 8 Análisis de varianza correspondiente al número de lesiones de seis

tratamientos usados como inductores de SAR hacia *A.*

Solani

Cuadro. 9 Análisis de varianza correspondiente al tamaño de lesiones en mm

de seis tratamientos usados como inductores de SAR hacia

A.

solani

.....

Cuadro. 10 Análisis de varianza correspondiente al área bajo la curva de

progreso de la enfermedad ABCPE tizón temprano

.....

INDICE DE FIGURAS

Contenido	Pags
Fig. 1 Patógeno causal del tizón temprano <i>A. solani</i> vista a 40x	6
Fig. 2 Daños de <i>A. solani</i> en tomate	7
.....	10
	21

Fig. 3 Ciclo de vida de <i>Alternaria</i>	26
.....	
Fig. 4 Bacteria <i>Bacillus subtilis</i> a las 24 horas, vista a 100x	27
.....	
Fig. 5 Aplicación de tratamiento químico en una hoja de la planta	28
.....	
Fig. 6 Bacteria <i>Bacillus subtilis</i> a las 48 horas, vista a 100x	37
.....	
Fig. 7 Cámara de humedad	39
.....	
Fig. 8 Porcentaje de incidencia de seis tratamientos usados en el control de <i>A. solani</i>	40
.....	
Fig. 9 Porcentaje de severidad de seis tratamientos usados en el control de <i>A. solani</i>	42
.....	
Fig. 10 Promedio del número de lesiones de seis tratamientos usados en el control de <i>A. solani</i>	44
.....	
Fig. 11 Promedio del tamaño de lesiones de seis tratamientos usados en el control de <i>A. solani</i>	

.....

Fig. 12 Promedio de la ABCPE del tizón temprano (*Alternaria solani*)

.....

1. INTRODUCCION

El tomate es una hortaliza importante en la dieta alimenticia humana por su alto contenido de Vitamina A y C y para el desarrollo económico del país. En el ámbito, nacional existe un consumo de 6-8 Kg /persona / año, lo cual refleja una demanda fuerte del producto; La producción nacional para 1998 ascendió a 35.6 millones de kilogramos cosechados en 1700 manzanas de superficie, dicha producción no suple la demanda interna ya que el mismo año se importaron 22.29 millones de kilogramos (CENTA, 1993, MAG, 2000).

Dicho cultivo es atacado por diversas enfermedades de tipo bacteriológico, virosas y fungosas, considerada ésta última de mayor importancia, las que son tratadas con la aplicación de productos químicos protectores y sistémicos, las malas aplicaciones y el excesivo uso de estos generan resistencia, perdiendo su efectividad en corto tiempo y mayor contaminación al ambiente (Gudiel, 1998).

Debido a esto se trata de incrementar la producción controlando todas aquellas enfermedades que causan pérdidas y así disminuir los costos del productor (MAG, 2000).

Alternaria solani es el patógeno causante de la enfermedad conocida como tizón temprano, la que se caracteriza por causar hasta un 80% de daños en el cultivo, iniciándose en sus primeras etapas de vida (Lara, 1988).

Por tal razón, se buscan técnicas alternativas económicamente viables que ejerzan un menor impacto ambiental y que sean incorporadas a los programas MIP existentes.

La inducción de resistencia adquirida (SAR) en plantas, es una de las alternativas innovadoras que consiste en inducir resistencia contra enfermedades de alta severidad e incidencia mediante, agentes químicos y biológicos (Kuc. J.: Strobel. N. 1992).

El objetivo de la investigación fue evaluar cual de los agentes químicos y biológicos produce mejor efecto de SAR en tomate para controlar *Alternaria Solani*, para ello se propone la hipótesis que se fundamenta en la aplicación de agentes químicos (sal fosfatada, potásica, y herbicida) y biológicos (*Bacillus thuringiensis*. *B. subtilis*), se reducirá el efecto patogénico de *Alternaria solani*.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum*.Miller)

El tomate (*Lycopersicon esculentum*) es una solanácea de origen Americano, está considerada como una hortaliza de uso diario, imprescindible y necesaria en el mundo culinario, se cree que el centro de origen del género *Lycopersicon* es la región Andina que hoy comparten Colombia, Chile, Ecuador y Bolivia, zona en la que *L. esculentum* muestra la mayor variación (Enciclopedia Agropecuaria Terranova, 1995, MAG, 2000, Maroto, 1983).

El lugar de domesticación ha sido controvertido, aun que hay motivos que inducen a creer que fue en Mexico a partir de los españoles y portugueses que lo difundieron al resto del mundo (MAG, 2000).

El tomate se clasifica por algunas características definidas, que los diferencian y permiten conformar grupos de variedades denominadas tipos. Así, según el tiempo de maduración a partir del transplante, son de tipos precoces 65-80 días de período vegetativo, intermedios con 75-90 días y tardíos más de 85 días. (CENTA, 1993).

El tomate es una planta cultivada anualmente, posee un sistema radicular amplio, constituido por una raíz principal que puede alcanzar hasta 50 a 60 centímetros de profundidad, provisto de una cantidad de ramificaciones, los tallos son de consistencia herbácea anguloso, recubiertos en toda su longitud de pelos

perfectamente visibles muchos de los cuales son de naturaleza glandular, que le confieren a la planta un olor característico (Maroto, 1983).

El tomate es una planta de altura variable que por su crecimiento se clasifica en dos tipos: Crecimiento determinado e indeterminado; el determinado alcanza una altura que va desde 60- 100 cm y el indeterminado que puede alcanzar hasta una altura de 2 mt. ésta última requiere tutor o amarre para sostenerse, (Enciclopedia Agropecuaria Terranova, 1995, MAG, 2000).

Las hojas son compuestas, anchas, ovaladas, dentadas, vellosas, glandulosas, pecioladas, con distribución alterna y verde intenso. Las flores se presentan en racimo simple, conformadas por 5 sépalos, 5 pétalos, 5 estambres y un pistilo con la polinización directa por una planta bisexual y autógama (Enciclopedia Agropecuaria Terranova, 1995, Maroto, 1983).

El fruto del tomate es una baya y según sea la variedad se observan diferencias de formas y colores en los frutos ya que estos pueden ser aplastados, redondeados, alargados y piriformes de color generalmente rojos, el cual se debe a pigmentos contenidos en la carne del fruto aun que algunas variedades pueden presentar otras coloraciones, la superficie de la baya puede ser lisa o acostillada y el diámetro de los frutos puede variar entre 3 y 16 cm, Las semillas son de tamaño pequeño, deprimidas, reniformes y amarilla, su capacidad germinativa puede mantenerse de 4-5 años (CENTA, 1993, Maroto, 1983).

2.2. IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE TOMATE.

Las enfermedades del tomate en El Salvador, tienen gran importancia, ya que se han convertido en un factor limitante en la producción de este cultivo,

provocando pérdidas significativas en los rendimientos y aumento en los costos de producción para los horticultores; la magnitud de estas pérdidas está en dependencia de la frecuencia y de la severidad del daño ocasionado durante el ciclo del cultivo. (FUSADES, 1990).

Muchos patógenos, infectan plantas de tomate en el trópico, debido a la alta capacidad de supervivencia que tienen y las diversas condiciones ambientales favorables para el desarrollo de la infección (Agrios, 1986).

En América Latina y en el mundo entero donde se cultiva tomate, se están utilizando muchos sistemas de control de enfermedades que incluyen el empleo de semillas sanas correspondientes a variedades vigorosas y adecuadas, drenado del terreno, empleo compensado de fertilizante, eliminación de plantas enfermas, podas sanitarias y control químico; este último, considerado como una solución a corto plazo para los horticultores, mientras se incorpora resistencia a las variedades comerciales, como un componente de manejo integrado (CIAT, 1980 y Ogylvie, 1964).

El tomate, es atacado por diversas enfermedades de tipo bacteriológicas, virosas y fungosas (Anexo 1); éstas últimas consideradas de las más abundantes y en lo particular *Alternaria solani*, común en el país y que puede reducir los rendimientos del cultivo en un 80% (Lara, 1998).

2.2.1. TIZON TEMPRANO *Alternaria solani*. (Ellis y Martin), Jones y Grout

Esta enfermedad es una de las más frecuentes en el cultivo del tomate, el organismo causal es *Alternaria solani*. El patógeno fue descrito por primera vez en

1882, a partir de hojas muertas de papa colectadas en New Jersey; en Gran Bretaña fue registrada por primera vez en 1904 causando una epidemia de los tomates, por Glasscock y Waare (Walker, 1959). *Alternaria solani* es uno de las especies de mayor importancia fitopatológica por su alta capacidad de supervivencia, ya sea en época lluviosa o en época seca (González, 1976), pertenece al grupo de los más numerosos hongos: los imperfectos, el patógeno es de hábito cosmopolita afectando principalmente a las hojas, tallos, flores y frutos de las solanáceas (Fitopatología, 1986).

2.2.1.1. Características morfológicas del hongo *Alternaria solani*.

El micelio es tabicado y ramificado, volviéndose oscuro con la edad. Los conidióforos que salen en el tejido enfermo del hospedero son relativamente cortos y oscuros. Los conidióforos formados en cultivo puro, son picudos, muriformes, formándose individualmente o en cadena de dos, miden unos 17 x 200 micras de longitud (Walker, 1959).

Los conidióforos son más relativamente grandes, multicelulares y en forma de pera, con septos tanto transversos como longitudinales.(fig.1) (Alexopoulos, 1976).



Fig. 1 Patógeno causal del Tizón temprano (*Alternaria solani*) vista a 40X
Tomada por estudiantes de proyecto de investigación SAR 2001

2.2.1.2 Clasificación taxonómica

Reino : Vegetal

División : Mycota

Subdivisión : Eumycotina

Clase : Deuteromycetes

Orden : Moniliales

Familia : Dematiaceae

Género : *Alternaria*

Especie : *solani*. Y otras dependiendo del hospedero. (Alexopoulos, 1976)

2.2.1.3 Epidemiología

a) Sintomatología

El patógeno *Alternaria solani* se caracteriza por atacar las hojas, tallos y frutos del cultivo; en el caso de las hojas, las lesiones son manchas redondeadas pardo oscuras, las cuales presentan anillos concéntricos delimitados por un halo

amarillento. Usualmente las manchas aparecen primero en las hojas más viejas (Fig. 2), (FUSADES, 1992; Messiaen, 1967).

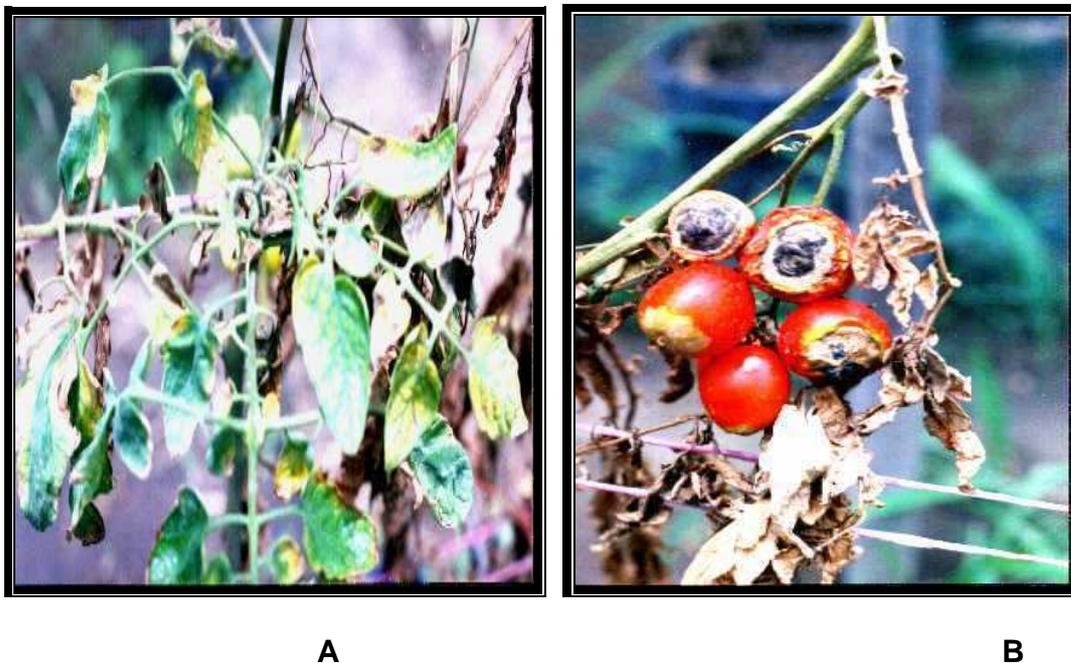


Fig. 2 Daños de *Alternaria solani* en tomate. **A.** Daños en hoja de planta adulta. **B.** Daños en fruto.

Tomada por estudiantes de proyecto de investigación SAR 2001.

En el caso del tallo, aparecen manchas negras, ovales, que permanecen pequeñas y bien delimitadas. Estas son especialmente dañinas cuando están en la unión del tallo y una rama lateral, ya que debilitan esta última, la cual acaba por romperse cuando los frutos maduros la sobrecargan. (Walker, 1959).

Los sépalos son otro punto importante en la planta, la cual es muy sensible y se necrosa por completo y a través de éste el hongo da pasa al fruto. (Messiaen, 1967).

Los frutos pueden infectarse en estado verde y maduro, casi siempre en el extremo del pedúnculo, presentándose manchas oscuras, las cuales son hundidas, secas, de forma redondeada y que al final pueden extenderse y cubrir la mayor parte del fruto. (FUSADES, 1992; CATIE, 1990; Walker, 1959).

El tejido enfermo, tiene tendencia a apegaminarse y puede llevar en la superficie una masa velluda de esporas. A veces una pequeña lesión en la superficie es solamente parte de una extensa región interna de tejido podrido. (Walker, 1959).

b) Período de incubación.

El período de incubación de *Alternaria solani*, se origina cuando el hongo penetra en la hoja y el tallo directamente a través de la cutícula o por medio de heridas físicas (CATIE, 1990); después de dicha penetración las manchas se hacen visibles en condiciones favorables de temperatura y humedad en un período máximo de dos a tres días. (Walker, 1959).

c) Diseminación y sobrevivencia.

La diseminación del hongo, puede ser realizada por las lluvias, aunque de forma lenta. Puede llegar a producir una defoliación más o menos importante. Las conidias se desprenden fácilmente y son diseminadas por los vientos, están presentes en el aire, en el polvo, e invadir muchos lugares. (Agrios, 1991; CATIE, 1990; Escobar, 1989).

La enfermedad también se disemina por medio de la semilla pues fácilmente se contamina durante el proceso de extracción. (FUSADES, 1992).

El hongo sobrevive o se aloja en restos de plantas enfermas, pudiendo infectar la siguiente cosecha; también es probable que las esporas sueltas sobrevivan en la superficie del suelo. (Escobar, 1989), pues produciendo además,

esporulaciones en seco, requiere solamente un período corto de alta humedad relativa, para germinar o penetrar. (Escobar, 1989).

d) Ciclo de vida

Las especies fitopatógenas de *Alternaria* invernan como micelio en los restos de plantas infectadas (Agrios, 1991), este queda viable en las hojas secas durante un año o más y las conidias quedan viables hasta diecisiete meses a la temperatura ambiente. El hongo es transportado en esta forma de cosecha en los desechos. (Walker, 1959).

Las conidias germinan en el agua en una o dos horas, a temperatura de 6 a 34° C y en treinta y cinco o cuarenta y cinco minutos en la óptima de 28 a 30° C. El hongo penetra en la parte más susceptible de la planta causando lesiones. La producción de esporas empieza casi siempre cuando las manchas de las hojas tienen unos 3 mm., de diámetro. (Walker, 1959). Cuando las esporas han germinado penetran los tejidos susceptible directamente o en heridas y en poco tiempo se producen nuevas conidias. (Figura 3) (Agrios, 1991).

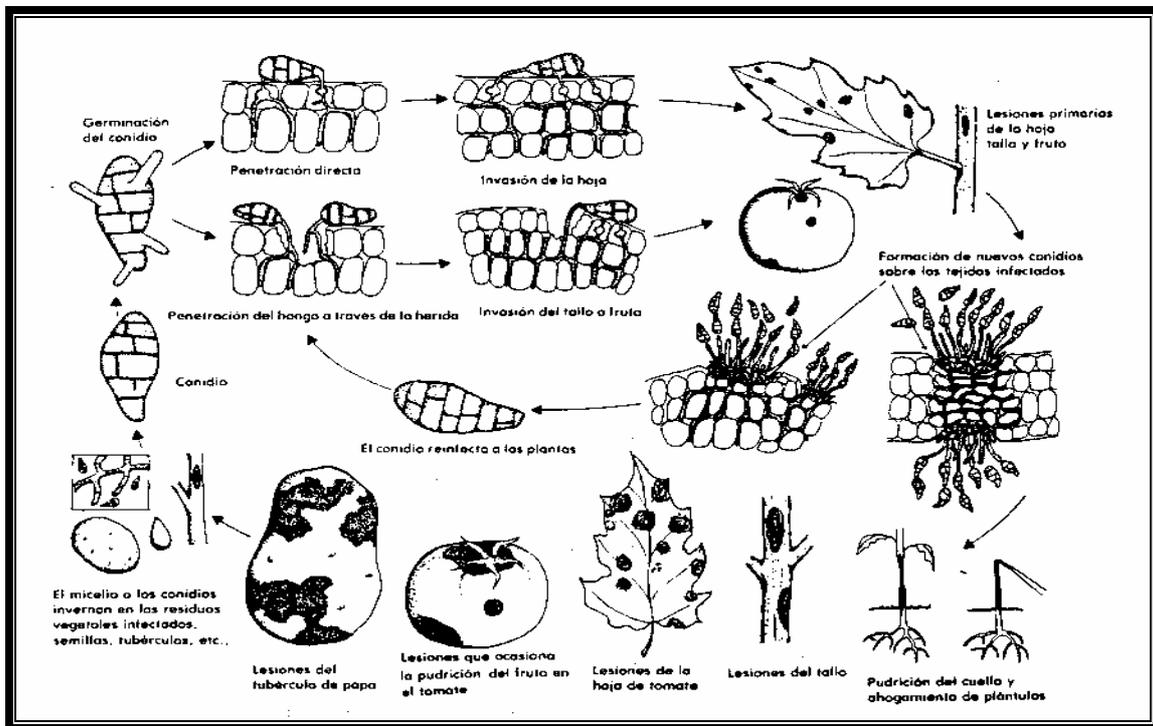


Fig. 3 Ciclo de vida de *Alternaria*. Tomado de Agrios, 1986.

e) Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

El ambiente, influye grandemente en el desarrollo de las enfermedades infecciosas de las plantas y para que se desarrolle una enfermedad debe existir una interacción hospedero susceptible-patógeno - ambiente favorable. (Lara, 1988; Agrios, 1986).

Los factores del medio ambiente que afectan mayormente son: la temperatura, la humedad, la luz, los nutrientes y el pH del suelo. (Agrios, 1991). La temperatura y la humedad relativa tienen mayor relevancia para su desarrollo. (CATIE, 1990).

Para que una enfermedad se produzca y desarrolle óptimamente debe haber una combinación de tres factores; una planta susceptible, un patógeno infectante y un medio ambiente favorable. (Agrios, 1991).

E.1 Influencia de la temperatura.

Alternaria solani se produce fácilmente en condiciones de temperatura que oscilan entre 21°C a 26.6°C; favoreciendo esto, a una podredumbre acelerada y en casos extremos se puede reproducir de 4° C a 34° C (Escobar, 1989; McColloch, 1972).

Las temperaturas altas, favorecen el desarrollo y propagación del patógeno, a diferencia de las temperaturas bajas, las cuales producen una evolución lenta (Agrios, 1991).

E.2 Influencia de la humedad.

La humedad al igual que la temperatura, influyen sobre el inicio y desarrollo de la enfermedad. El efecto más importante de la humedad al parecer se centra sobre la germinación de esporas de los hongos y sobre la penetración del tubo germinal en el hospedero. (Agrios, 1991). La reproducción de *Alternaria solani* se ve fortalecida en presencia de humedad relativa alta (90-96%) durante todo su desarrollo (CATIE, 1990; Lara, 1988); especialmente en época lluviosa aunque puede presentarse en cualquier época del año. (Escobar, 1989).

f) Control.

El control de *Alternaria solani* se puede realizar de diferentes formas. Una de ellas consiste en aspersiones químicas con fungicidas tales como el Sprodine,

Maneb, Captafol, Triforine o una mezcla de Maneb y Zinc. Las aspersiones deben repetirse a intervalos de una a dos semanas, dependiendo de la prevalencia de la enfermedad. (Agrios, 1991).

En muchos casos, ante diversos patógenos, las medidas de control existentes no son efectivas en determinadas condiciones tanto topográficas como climáticas; en el caso particular de *A. solani*, la enfermedad ocasionada por este es controlada por los químicos existentes en el mercado.

2.3. METODOS ALTERNOS DE CONTROL DE ENFERMEDADES.

2.3.1. Inducción de resistencia sistémica (SAR).

SAR: se define como el incremento cualitativo o cuantitativo de los mecanismos de defensa en las plantas contra las enfermedades en respuesta a estímulos físicos o químicos extrínsecos (Metcalf Luckmann, 1994)

La acción de defensa de la planta, ante una infección por el ataque de patógenos, se traduce en la inducción de un efecto duradero de resistencia sistémica, con amplio espectro (Ryals *et al.*, 1993).

Se desconoce el mecanismo que origina el fenómeno SAR, pero en teoría, se podría definir como una expresión sistemática de una subsecuente acción de agentes de defensa. Estas expresiones se dan a veces simplemente por interacciones directas entre el tratamiento previo y la exposición a los inóculos en el hospedero (Dickinson y Lucas 1987).

SAR es una teoría reciente que fue inicialmente demostrada en cucurbitáceas. Esta protección es inespecífica a varios patógenos y es eficaz en

condiciones de campo; aún no se sabe hasta que grado, este tipo de resistencia opera en muchas otras plantas, (Bi, *et al.*, 1995).

La resistencia se manifiesta contra una amplia variedad de patógenos tales como virus, hongos, agentes bacteriales y otros. La resistencia se expresa por la acción de muchos genes y sus inducción de proteínas/enzimas, que incluyen hidrolasas, proteínas antimicrobiales y muchas sustancias desconocidas. De estas, unas pocas han sido determinadas como responsables parciales de resistencia fenotípica, llevando esto a que se hagan intentos repetidos por demostrar la existencia de un sistema inmunológico similar al de los vertebrados e insectos (Dickinson y Lucas 1987; Universidad de Wales, 2000.)

En 1974, Folklore sugiere que la aspirina (ácido acetil-salicílico), podría perfeccionar la salud de las plantas. Por otro lado, White en 1979, publicó un reporte sobre la aspirina como inductora de SAR, y un tipo de resistencia semejante a SAR, por acumulación de proteína. Trabajos posteriores demostraron que el efecto del ácido salicílico (SA) fue efectivo, en la inducción de SAR como expresión genética. El papel del SA en la resistencia a enfermedades fue apoyado por el descubrimiento de virus y hongos patógenos en las plantas, sin causar daños aparentes, como consecuencia del desarrollo de SAR (Delaney, 2000).

En los años 90, naturalistas y científicos han observado el fenómeno cuando algunas plantas sobreviven a una infección subsecuente.

En 1993, Chester revisó 200 publicaciones que describen el fenómeno de inmunidad fisiológica adquirida. (Ryals *et al.* 1993).

En 1961, Ross publicó el primer estudio sistemático, usó virus del mosaico del tabaco (TMV) en lesiones locales, demostrando que las infecciones de TMV

fueron restringidas por una infección anterior, esta resistencia no era eficaz solamente contra TMV, sino también contra el virus de la necrosis del tabaco y ciertos patógenos bacterianos (Ryals *et al.*, 1993).

La evidencia más convincente por el papel del SA y la inducción de SAR, viene de los experimentos con la ingeniería de plantas, para hacerlas incapaces de producir el SA. Las plantas fueron “rediseñadas”, por la introducción de una bacteria transgénica llamada “Nahg”, que codifica el SA y la enzima catabolizante hidrolasa salicílica. La bacteria Nahg, ya no puede inducir SAR, al carecer de genes asociados al SAR (Universidad de Wales, 2000, Delaney, 2000).

2.3.1.1. Avances en la resistencia genética de la plantas a enfermedades

La resistencia por medio de los genes, es usualmente considerada un camino que respalda la resistencia específica para diferentes patógenos (virus, hongos y bacterias) en muchas especies de plantas.(Delaney, 2000).

El primer gen de resistencia de una planta fue estudiado en la Universidad de Cornell (U.S.A) , haciendo uso del Gen “Pto” del tomate el que expresa resistencia a la enfermedad de la mancha bacteriana y fue aislada por la separación de cromosomas. El Pto no tiene un rango sensitivo lógico, pero tiene la actividad catalítica necesaria para emitir una señal antipatógena en el proceso de patogénesis.(Delaney, 2000)

La clonación molecular de genes de resistencia fue considerada una de las preocupaciones más serias de la patología molecular de las plantas, por su importancia en el entendimiento de la biología defensiva de las mismas; pero también de la ingeniería de la resistencia a las enfermedades dentro de los

cultivos. Desde que muchos genes de resistencia se han clonado se ha provisto de resistencia a diversos patógenos de plantas. La mayoría de éstos genes de resistencia tienen dominios sensitivos a varios patógenos (Delaney, 2000).

2.3.1.2 Inducción de resistencia

La resistencia, puede ser inducida por el tratamiento de plantas, con una variedad de patógenos de ellas como, microorganismos no patogénicos y sus metabolitos secundarios; otros inductores, incluyen materiales derivados de plantas, tales como: químicos orgánicos e inorgánicos. La resistencia puede ser inducida en el follaje o sistemicamente a través de las raíces, en algunos casos. (Kúc y Strobel; citado por Rivas, 1992).

Algunas de las ventajas de la inmunización de plantas son: inmunización contra enfermedades virales, bacterianas y fungosas, que puede ser lograda por medio de agentes químicos y biológicos, es sistémica y puede permanecer toda la vida de la planta, es transmisible de raíces a yemas o por vía de cultivo de tejido, en algunas especies (Tuzun y Kúc, 1991).

La posible manipulación de estos mecanismos naturales en la práctica del manejo de enfermedades, puede ser muy provechosa, efectiva, persistente y económica, contra virus, bacterias y hongos patógenos, bajo condiciones de invernadero y campo . (Tuzun y Kúc, 1972; citado por Rivas 1996).

Investigaciones alrededor del mundo han demostrado que la inmunización es viable, contra un amplio ámbito de patógenos foliares y radicales, en

aproximadamente 25 cultivos, incluyendo cereales, Cucurbitaceae, Leguminoseae, Solanaceae, árboles frutales y otros. (Tuzun y Kúc, 1972; citado por Rivas 1996).

La inmunización de las plantas puede tener su nicho en la agricultura sostenible, como una de las variadas prácticas que promueven la salud de la planta y reducen las enfermedades. La reducción en el uso de plaguicidas sintéticos para el control de enfermedades, a través de la inmunización de la planta, es una práctica a incorporar en los programas MIP, en donde el nivel de reacción en los últimos 30 años, ha demostrado que el fenómeno SAR se manifiesta en muchas especies de plantas y el espectro de resistencia se ha ampliado al incluir virus, bacterias y hongos; sin embargo la comprensión de los efectos bioquímicos principales para el establecimiento del SAR no ha progresado sustancialmente. Hasta la década pasada, Kess,1982, demostró que la acumulación de un grupo de proteínas extracelulares llamadas "PR" proteínas, actúan en correlación directa con la manifestación del SAR. Ray 1979, demostró que el ácido salicílico (SA) y cierto derivado del ácido benzoico (BA) podían inducir ambos fenómenos, resistencia y acumulación de PR proteínas (Ryals, 1994).

En busca de la emisión de señales de inducción, que pueden ser movilizadas de las lesiones como elicitores del SAR, se ha determinado como mecanismo más probable la acumulación de SA, ya que este es sintetizado en altos niveles alrededor de lesiones necróticas; esto también puede inducir el apareamiento de proteínas relativas a la patogénesis: PR proteínas. La aplicación exógena de ácido salicílico (SA), puede aumentar las PR proteínas y proporcionar algún tipo de resistencia a patógenos. (Bi *et al.*, 1995).

La investigación se orienta actualmente a identificar genes en la planta, que induzcan el desarrollo del SAR (Ryals *et al.*, 1994).

Según Tuzun y Kúc 1993 citado por Rivas 1992, Delaney, 2000., Los supuestos del SAR se resumen así:

- Dirigido y efectivo contra virus, hongos y bacterias
- Resulta en cambios sistemáticos en la fisiología y expresión genética de la planta.
- Requiere de la acumulación de ácido salicílico (SA).
- La respuesta de defensa dura semanas a meses, puede ser detectada mediante indicadores de actividad enzimática o de tratamientos inductores.

2.3.1.3. Inducción de resistencia por agentes químicos.

El fenómeno de inducción de resistencia sistémica adquirida (SAR), puede ser inducido por diversas sustancias químicas. La lista de agentes químicos que se proponen como inductores sistémicos de resistencia a fitopatógenos, incluyen varias sales inorgánicas como silicón, oxalatos, fosfatos, ácidos nucleicos y ácidos grasos no saturados (Kessmann *et al.*, 1994).

El uso de herbicidas, aplicados sobre las superficies foliares, pueden ocasionar necrosis local, similarmente a la producida mediante una vía dependiente del ácido salicílico, ante la infección de un patógeno, desencadenando el mecanismo de defensa SAR (Kessmann *et al.*, 1994).

La simple aspersión foliar de 0.1M de una solución de sales de fósforo aplicada sobre el haz de las hojas de 2-4 días, antes de la inoculación con *Puccinia sorghi*, inducen resistencia sistémica contra la roya común (Reuveni *et al.*, 1994)

El mildiú polvoriento causado por *Sphaerotheca fugilinea* en plantas de pepino, es significativamente controlado con una simple aspersión de una solución acuosa de fosfatos y sales de potasio a concentraciones de 25 mμ; los fosfatos resultaron más efectivos que el fungicida sistémico pirinenox y redujeron el establecimiento de la infección por *S. fugilinea* (Reuveni *et al.*, 1995),

Al inducir SAR en pepino y tabaco mediante el uso de Paraquat y Cloruro de Cobre, el Paraquat indujo resistencia sistémica contra *Colletotrichum lagenarium*; también indujo SAR contra el virus del mosaico del tabaco en lesiones locales, utilizando las siguientes concentraciones 24 mM, 36mM y 72 mM, estos tratamientos disminuyeron el daño ocasionado por el patógeno (Strobel y Kúc, 1995).

2.3.1.4 Inducción de resistencia por agentes biológicos

Aislamientos y productos comerciales de *Bacillus thuringiensis* (Bt) a concentración de 10 gr/1t., evaluadas sobre discos de hojas y plántulas jóvenes de *Coffea arabiga var. Caturra*, presentaron efectos protectores contra la roya del cafeto, evidenciado por la reducción del grado de la infección de *Hemileia vastatrix*, el efecto inductor fue al menos de 16 días y tuvo un máximo de acción a los 8 días, después de la aplicación de la suspensión bacteriana (Cristancho *et al.*, 1995).

Al trabajar con bacterias previamente aisladas, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.*, y *Arthrobacter sp.*, presentan efectividad, cuando se aplican en suspensiones concentradas de células (en solución acuosa de Tween 20[®], al 0.01%, como

dispersante), reduciendo en más del 95% el número de pústulas de roya en el frijol (Centurión y Kimati, 1994).

En pruebas de campo, tratando de controlar la mancha foliar causada por *Cercospora* en el cultivo del maíz, se asperjaron células de la bacteria *Pseudomonas cepacia* en cultivo líquido y un concentrado comercial de esporas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), a una concentración de 10^7 ufc/ml. En este estudio, *P. cepacia* y *Bt*, causaron una reducción de manchas foliares por *Cercospora* y una significativa disminución de la defoliación (Spurr, 1978),

Recientemente fue descubierto que algunos compostajes pueden inducir SAR en plantas, a ciertas enfermedades, incluyendo manchas de las hojas causadas por la bacteria *Xanthomonas* (Holtink, 1996).

Este efecto no fue consistente; sin embargo el objetivo de este proyecto fue aislar e identificar los beneficios de la microflora en compostaje, que inducen SAR y desarrollar el procedimiento para su inoculación en el compostaje para proveer el control. La investigación determinó que solo el 9% de los grupos comerciales disponibles de los tipos de compostaje, tienen la capacidad de inducir resistencia en rábano, a la mancha bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae*, un patógeno muy destructivo de este cultivo (Holtink, 1996).

La adición de un agente biocontrolador como el hongo *Trichoderma hamatum*, también induce SAR en rábano. En conclusión ciertos tipos de microorganismos inoculados dentro del compostaje, inducen SAR a la mancha bacteriana del rábano, al mismo tiempo que proveen un control significativo de enfermedades (Holtink, 1996).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Fase de laboratorio

3.1.1. Búsqueda, aislamiento y reproducción de *Alternaria solani*

La recolección de muestras de hojas enfermas de tomate, se realizó en el distrito de riego del valle de Zapotitán, Jurisdicción de Ciudad Arce, Departamento de La Libertad; luego el tejido enfermo se transportó en papel toalla húmedo dentro de bolsas plásticas transparentes y en hieleras para conservar el estado normal de las hojas. Posteriormente se llevó al laboratorio de investigación del departamento de protección vegetal de la facultad de Ciencias Agronómicas, donde se identificó el patógeno haciendo uso del microscopio compuesto.

Para el aislamiento de las hojas enfermas que mostraban los síntomas típicos de tizón temprano, fueron cortados trocitos de hoja de un centímetro cuadrado, donde cada uno de ellos tenía el 50% del área con lesión y el resto del tejido aparentemente libre de infección.

Los trocitos de hoja se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% durante dos minutos y posteriormente fueron lavados con agua destilada estéril por tres veces y se colocaron en platos Petri que contenían medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

En el proceso de reproducción del hongo se utilizó un medio de cultivo enriquecido que contenía 200 ml de jugo de vegetales V8, 3gr. de carbonato de Calcio (CaCO_3) y 39grs de PDA, diluidos en un litro de agua destilada. En este medio, se purificó el hongo y se logró una mayor esporulación, la cual se produjo en un lapso de tres días, a temperatura ambiente de 26.0 °C dentro del laboratorio y en oscuridad.

3.1.2. Pruebas de compatibilidad de los agentes químicos con *A. solani*

Se evaluó el efecto de los agentes químicos inductores de SAR sobre el hongo *Alternaria solani*, para ello se utilizaron platos Petri conteniendo sustrato de PDA, en una mezcla con los agentes químicos: sales (K_2HPO_4 y KCL), ambas en dosis de 50 mM, herbicida comercial (Paraquat) en dosis de 12 mM y un fungicida comercial Dithane[®] 80 wp (Mancozeb) en dosis de 12gr por litro de agua y el testigo que contenía PDA.

Posteriormente se colocó al centro del plato Petri, que contenía el agente químico, un disco de PDA con el hongo. Se incubó a temperatura ambiente de 26.0 °C dentro del laboratorio y se midió el crecimiento radial en milímetros (mm) a las 24, 48 y 72 horas, en aquellos tratamientos en los que no hubo crecimiento del hongo se reportó como negativa la prueba y se eliminaron. Por cada tratamiento se efectuaron seis repeticiones.

3.1.3. Pruebas de compatibilidad de los agentes biológicos con los químicos

En ésta prueba se evaluó si los agentes químicos (sales fosfatada y potásica, herbicida y fungicida) son inócuos a los agentes biológicos *Bacillus thuringiensis* (Bt) y *Bacillus subtilis*, esta última se obtuvo de los cultivos puros que se mantienen en el laboratorio de investigación del departamento de protección vegetal de la facultad de Ciencias Agronómicas

Esta prueba sólo fue aplicada a la bacteria *Bacillus subtilis*, (fig.4), ya que *Bacillus thuringiensis* se utilizó como producto comercial JAVELIN[®], el cuál contiene la toxina de la bacteria que no produce ningún efecto con los químicos.

Las evaluaciones se efectuaron utilizando los siguientes sustratos: Agar nutritivo con K₂HPO₄ a 50 mM, agar nutritivo con KCl a 50 mM, agar nutritivo con herbicida paraquat a 12 mM, agar nutritivo con funguicida comercial Dithane[®] 80 wp (Mancozeb) en dosis de 12gr por litro y el testigo que contenía agar nutritivo.

En los platos Petri con los químicos y agar nutritivo , se procedió a estriar la bacteria sobre la superficie del sustrato, incubándo a temperatura ambiente de 26.0 °c dentro de laboratorio y evaluando a las 24 y 48 horas, cada tratamiento estaba conformado por seis repeticiones . En aquellos tratamientos que no hubo crecimiento de la bacteria se reportó como negativa la prueba y se eliminaron.

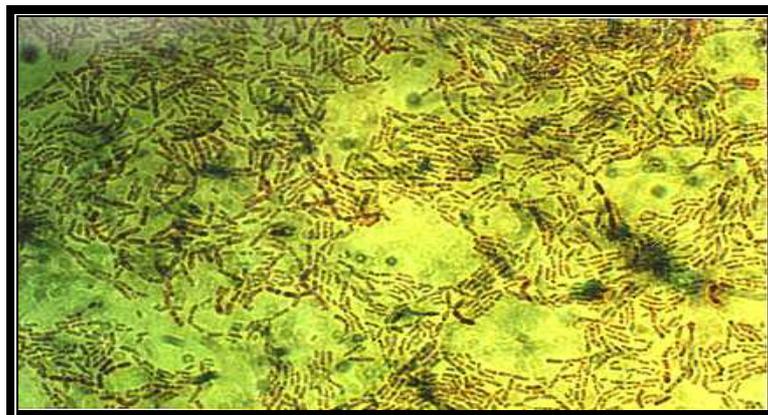


Fig. 4 Bacteria *Bacillus subtilis*. A las 24 Horas. A 100 X
Tomado por estudiantes de proyecto de investigación SAR 2001

3.1.4. Estandarización de la concentración de conidios para la inoculación de las plantas en invernáculo de vidrio.

Para la estandarización, se utilizó un medio que contenía 39gr de PDA, 3gr de CaCO₃ y 200ml de extracto de hoja de tomate, el cual sirvió para garantizar un mayor crecimiento y esporulación del hongo, ya que este se encontraba en un medio similar al tejido de la planta.

En cada plato Petri que contenía el medio, se colocaron tres discos de un centímetro cuadrado con el hongo, donde se logró una mayor cantidad de esporas ya que estas solo se producían en la parte superior del disco y sus bordes. Se incubó a temperatura ambiente de 26.0 °c dentro del laboratorio durante seis días.

A los cultivos puros de *Alternaria solani*, se le mezcló 4 ml de agua destilada estéril y se procedió a raspar la superficie que de los disco, donde se encontraba la mayor concentración de conidios, de ésta dilución se tomaron 0.1 ml, y se depositaron sobre una cámara de conteo Petroff – Hausser (anexo 2), hasta ser llevado a una concentración de 10⁵ conidias por ml. Para garantizar la dispersión o distribución de las esporas se utilizó tween 80 (0.02%). (Castaño, 1986).

El patógeno fue considerado por su tamaño como una espora grande, por lo tanto se contaron en cinco cuadros principales de 1 mm de lado: los cuatro de las esquinas y un central. La suma de esporas que se obtuvieron de los cinco cuadros sirvieron para calcular el número de esporas por mililitro.

$$1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 0.1 \text{ mm} = 0.1 \text{ mm}^3$$

$$X = (E/5) \times (1/0.1)$$

$$X = E \times 2 \text{ en donde, } X = \text{N}^\circ \text{ de esporas/mm}^3$$

E= esporas en los cinco cuadros de 1 mm²

$$1 \text{ ml (cc)} = 1000 \text{ mm}^3$$

$$X = E \times 2 \times 1000$$

$$X = E \times 2000 \text{ en donde, } X = \text{N}^\circ \text{ de esporas/ml.}$$

E = esporas en los cinco cuadros de 1 mm²

3.2. Fase de invernáculo de vidrio.

En esta fase se pretendía determinar el efecto de inducción de resistencia sistémica (SAR) a través de la aplicación de agentes químicos (sales K₂HPO₄ y KCl,) y biológicos (*Bacillus thuringiensis (Bt)* y *Bacillus subtilis*) a las plantas de tomate; la finalidad de los tratamientos fue activar el sistema de defensa de las plantas de forma sistémica, para contrarrestar el efecto patogénico de *A solani*. Y así poder demostrar el efecto de SAR.

3.2.1. Manejo del cultivo del tomate

Se preparó un semillero en cajas de durapax (espuma plástica) de 46 x 29 cm, utilizando 1 onza de semilla.

La plántula de tomate se transplantó en bolsa de polietileno de 14 " x 16 ", cuando ésta tenía las siguientes características: 15 días de edad, 15 cm de altura

y haber desarrollado las primeras hojas verdaderas. La bolsa en la que se transplantó la plántula contenía una mezcla de suelo, arena y materia orgánica en una relación 2 :1:1 respectivamente, con un volumen total de sustrato de 1 mt³ .

La variedad utilizada fue UC – 82 B, debido a que esta es una variedad usada por el horticultor salvadoreño, la cual presenta características como: hábito de crecimiento determinado, tamaño de planta mediana, 75 días de maduración del fruto, forma del fruto redondo, peso aproximado del fruto 60 gr, rendimiento de 30 TM /ha., y buena productora.

Se efectuaron tres aplicaciones de fertilizante granulado Blaukorn[®] que contenía elementos mayores y menores (anexo 3) , a los 8 días después del transplante, al inicio de la floración y en la formación de frutos; aplicando una cantidad de 7 gr por maceta. A la vez se aplicó fertilizante foliar BAYFOLAN FORTE[®] que contiene elementos menores(anexo 4) en dosis de 25 cc por 2 galones de agua. La primera aspersion se efectuó a los 22 días después del transplante y luego a intervalos de 15 días, haciendo un total de cuatro aplicaciones.

Se utilizaron tutores de espaldera vertical de bambú con una altura de 1.50 mt a un distanciamiento de 2.50 mt entre tutor, empleando un total de dieciocho tutores en las seis repeticiones; con la finalidad de evitar el volcamiento de las plantas. Los riegos se aplicaron dos veces al día, debido que el cultivo se estableció en invernáculo de vidrio y época seca. Al inicio de ésta fase, el local se desinfestó utilizando un insecticida comercial (Tamarón[®] 600), en dosis de 25cc/ 2 gl de agua antes de establecer el cultivo para eliminar la presencia de Mosca

Blanca (*Bemisia tabaci*, Sennadius). Posteriormente se aplicó un repelente orgánico basado en té de ajos(3 cabezas de ajo machacadas en un litro de agua, utilizando una dosis del extracto de 50cc / lt.); pero debido a la alta población de mosca blanca existente dentro y fuera del invernáculo en hospederos alternos se asperjó DIAZINON en dosis de 30 cc por 2 galones de agua, a los 45 días de edad de la planta.

A causa de la infestación del virus del mosaico del tomate en casi todo el cultivo se optó por aplicar ½ litro de leche en 2 galones de agua, cada 8 días. Con esto se pretendió formar una película sobre el follaje de las plantas y a la vez proporcionar mas nitrógeno que sirvió para enriquecer a la planta contrarrestando el virus producido por la mosca blanca. El control de malezas se realizó manualmente.

3.2.2. Distribución de los tratamientos.

El diseño utilizado fue un irrestricto al azar (DIA), los tratamientos fueron distribuidos en forma aleatoria, para disminuir el error sistemático en el experimento. En el plano del invernáculo de vidrio se detallan como quedaron distribuidos los tratamientos (anexo 5).

El número de tratamientos utilizados fueron seis, dos químicos, dos biológicos, un testigo relativo y un testigo absoluto; con seis repeticiones y un número de 12 plantas por tratamiento.

Los tratamientos en fase de laboratorio e invernáculo de vidrio se resumen en los cuadros 1 y 2.

Cuadro 1 Tratamientos utilizados en la fase de laboratorio para las pruebas de compatibilidad.

Nº de Tratamientos	Tratamientos	Dosis
1	Testigo Absoluto	-
2	Dithane 80 WP	0.125 gr/Lt
3	Paraquat	12 mM*
4	KCl	50 mM*
5	K ₂ HPO ₄	50 mM*

- mM = milimoles

Cuadro2 Tratamientos utilizados en la fase de invernáculo de vidrio.

Nº de Tratamientos	Tratamientos	Dosis
1	(K ₂ HPO ₄)	50 mM*
2	(KCL)	50 mM*
3	<i>Bacillus thuringiensis</i>	10 gr/Lt
4	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁵ ufc/ml**
5	Testigo relativo: Dithane 80 WP	12 gr/Lt
6	Testigo absoluto: agua	-

* mM = milimoles .

** ufc/ml = unidades formadoras de colonia por mililitro.

3.2.3. Aplicación de tratamientos químicos y biológicos

Los agentes químicos y biológicos fueron asperjados a los 32 días de edad de las plantas. Para el caso de los químicos se seleccionó en cada una de las unidades experimentales la hoja mas desarrollada y vigorosa (fig. 5); la cual fue marcada con hilo de color, para evitar la confusión posterior al apareamiento del hongo.



Fig. 5 Aplicación de tratamiento químico en una hoja de la planta.
Tomado por estudiantes del proyecto de investigación 2001

Los agentes biológicos *Bacillus thuringiensis* (JAVELIN®), en concentración comercial (10 gr/litro) y *Bacillus subtilis* esporulada a las 48 horas (fig 6) en concentración de 10^5 ufc/ml; fueron asperjadas a toda la planta, aislando una de otra con plástico para evitar deriva entre los tratamientos. Tres días después de aplicados los agentes biológicos, se lavaron por la mañana con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y abundante agua destilada estéril con la finalidad de eliminar las bacterias del filoplano.

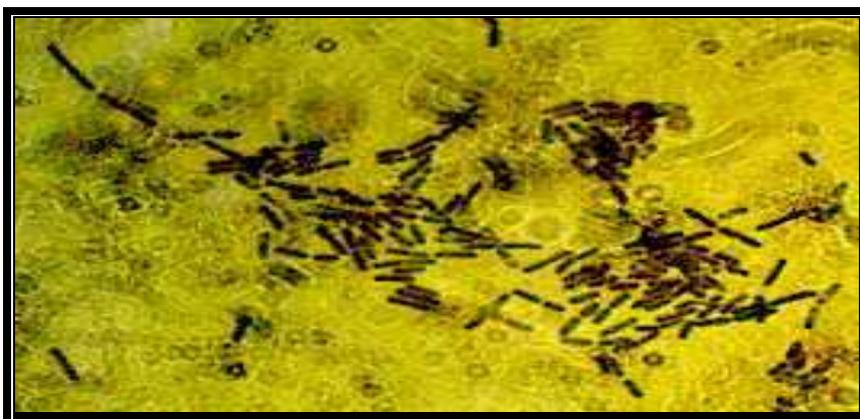


Fig 6. *Bacillus subtilis* a las 48 horas a 100 X.

Tomado por estudiantes del proyecto de investigación SAR 2000.

3.2.4 Inoculación del patógeno.

Todos los tratamientos se inocularon con el hongo *Alternaria solani* a los tres días después de aplicados los tratamientos , efectuándolo por la tarde, con la finalidad de favorecer las condiciones de germinación y penetración de las conidias en el hospedero; ya que se ha demostrado que en horas oscuras el hongo logra un mayor crecimiento y desarrollo. Después de inoculadas las plantas estas fueron cubiertas con bolsas plásticas durante un período de 12 horas para aumentar la humedad relativa al interior de la cámara (fig.7)



Fig. 7 Cámara de humedad.
Tomada por estudiantes del proyecto de investigación SAR 2001

3.2.5. Evaluación del control de la enfermedad y apareamiento de síntomas.

Las evaluaciones de la enfermedad iniciaron 15 días después de inoculado el hongo, a un intervalo de tres días cada toma de datos hasta llegar a la cosecha. Se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad, el número y tamaño de lesiones en mm; la severidad fue la variable para determinar la curva de progreso de la enfermedad y el área bajo esta, determinó la cantidad de enfermedad mostrada por cada tratamiento al final. La fórmula matemática para determinar el área bajo la curva de progreso de la enfermedad es la siguiente:

$$ABCPE = \sum (y_i + y_{i+1})/2 (t_2 - t_1)$$

En donde:

Y_i = proporción de la enfermedad en el tiempo t_1

$Y_i + 1$ = proporción en el tiempo t_2

$t_2 - t_1$ = intervalo de tiempo en donde se mide el aumento o disminución de la enfermedad.

Se efectuó un análisis de la ABCPE de cada tratamiento para determinar los más efectivos y generar alguna recomendación.

3.3. Metodología Estadística

3.3.1. Factor en estudio.

Utilización de métodos alternos, como inductores de resistencia sistémica (SAR), a través de agentes químicos y biológicos.

- Agentes químicos: sales (K_2HPO_4 y KCl) y herbicida paraquat
- Agentes biológicos: bacterias (*Bacillus thuringiensis* y *Bacillus subtilis*)

3.3.2. Variables a evaluar

3.3.2.1. Laboratorio

- Crecimiento del hongo en mm.

Se midió el diámetro del crecimiento micelial del hongo a las 24, 48 y 72 horas haciendo uso del estereoscopio y una regla graduada.

- Comparación de los tratamientos

Esto se hizo con la finalidad de observar el crecimiento del hongo en los diferentes tratamientos y así determinar si los agentes químicos no actúan como biocidas con respecto al hongo.

3.3.2.2. Invernáculo de vidrio

- Incidencia (% de plantas enfermas)

El apareamiento de los síntomas típicos de *Alternaria solani*, fue el parámetro para dar inicio a la toma de datos, determinando el porcentaje de plantas enfermas por tratamiento, tomando en cuenta que cada tratamiento está

formado por 12 plantas en sus seis repeticiones haciendo un total de 72 plantas en los seis tratamientos.

- Severidad (% de tejido dañado)

Los porcentajes de daño, se obtuvieron en relación al área total del follaje de la planta la cual representaba el 100 % con el área dañada por la enfermedad definidas en base a escalas diagramáticas del porcentaje de severidad de la enfermedad (Anexo 6).

- Número y tamaño de lesiones en mm.

Se marcaron dos hojas de cada planta las que presentaban daños típicos de *Alternaria solani*, haciendo un total de cuatro hojas por las dos plantas en cada tratamiento; se realizaron conteos de aquellos daños representativos con una frecuencia de tiempo de cada tres días y esta variable fue suspendida en el momento que las lesiones se unieron y dificultaron su conteo. La medición de las lesiones fue realizada por medio de una regla graduada con lupa a 10 x, realizando un muestreo de las cuatro hojas marcadas y midiendo un número de 10 lesiones por tratamiento, las cuales eran tomadas en milímetros.

- Area bajo la Curva de progreso de la enfermedad

A través de los datos de severidad, se determinó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad de cada tratamiento, y así mismo conocer la efectividad de los tratamientos para controlar el hongo.

3.3.3. Diseño estadístico

El diseño estadístico utilizado es el irrestricto al azar (DIA). El diseño fue aplicado en la fase de laboratorio e invernáculo, ya que el medio ambiente que rodea el experimento actúa uniformemente sobre todas las unidades experimentales, y el material básico utilizado es homogéneo; asegurando con esto que la variación que ocurre en el experimento se debe únicamente al efecto de los tratamientos. (Nuila, A. 1990).

A nivel de laboratorio e invernáculo se utilizaron un número de seis repeticiones ya que con este número se logra obtener una buena precisión del experimento y mayor confiabilidad de la información.

3.3.3.1 Modelo matemático

Sea “Y” la variable que se va a medir en las distintas unidades experimentales y “ Y_{ij} ” el valor observado en la parcela j-ésima que recibe el tratamiento “i”; luego cualquier observación puede expresarse así: $Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$

3.3.3.2. Descripción de la unidad experimental

En la etapa de laboratorio las unidades experimentales estarán constituidas por platos petri, las cuales contenían un medio de cultivo (PDA) mas los diversos agentes químicos donde se inoculó el hongo; cada unidad experimental estuvo conformada por un plato Petri.

Para el caso del invernáculo las unidades eran las macetas, con dos plantas cada una. Cada maceta formaba una unidad experimental.

3.4. Análisis de los datos

Este se efectuó por medio del análisis de varianza (ANVA) entre tratamientos utilizando el programa estadístico SAS versión 5.0 en una computadora Pentium®.

En laboratorio, la prueba estadística para comparación de resultados promedios fue la de Dunnett, donde se comparó cada tratamiento con respecto a un testigo; los resultados no fueron sujetos a transformación de datos, ya que el coeficiente de variabilidad fue de 9.3 % demostrando confiabilidad en los datos, cumpliendo con los supuestos de normalidad, homogeneidad e independencia.

En el invernáculo los datos obtenidos no fueron sujetos a transformación ya que lo que se deseaba era obtener datos reales para graficar la curva de progreso de la enfermedad mediante la variable de severidad.

Debido a que el experimento se encontraba bajo condiciones controladas solo se permitió un margen de error del 5% ($\alpha = 0.05$).

El análisis biológico-matemático se efectuó con las fórmulas de incidencia y severidad, las cuales se presentan mas adelante. En cada tratamiento aplicamos un modelo de progreso de la enfermedad a través de ABCPE (área bajo la curva de progreso de la enfermedad).

Fórmulas:

- % Incidencia = $\frac{(\text{N}^\circ. \text{ de plantas enfermas})}{\text{Proporción de tejido sano}} \times 100$
- % Severidad = $\frac{(\text{Proporción de tejido enfermo})}{\text{Proporción de tejido san}} \times 100$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Laboratorio

4.1.1. Compatibilidad de los agentes químicos con *Alternaria solani*.

La compatibilidad fue determinada mediante el crecimiento radial del hongo en mm. Para dicha evaluación se tomaron lecturas a las 24, 48 y 72 horas.

En la lectura efectuada a las 24 horas, los tratamientos con sales (K_2HPO_4 y KCl), ambas a concentraciones de 50 mM mostraron ser compatibles con el hongo *Alternaria solani*, ya que existió crecimiento radial similar al testigo absoluto (PDA); en los tratamientos con paraquat en concentración de 12 mM y el fungicida comercial Dithane[®] 80 WP (Mancozeb) en dosis de 12 gr / lt, no hubo crecimiento de parte del hongo. En la segunda lectura realizada a las 48 horas se dió un leve crecimiento en el tratamiento con Mancozeb; siendo el Paraquat el único que inhibió el crecimiento.

Con respecto a la última lectura realizada a las 72 horas, el cual es el tiempo recomendable (Castaño, 1986) para esperar si habrá crecimiento por parte del hongo a nivel de los sustratos, se determinó que el único agente químico utilizado en esta prueba no compatible con el hongo fue el Paraquat, el cual presentó un mínimo crecimiento en la parte superior del disco y los bordes.

Según el análisis de varianza (ANVA) efectuado a las 72 horas (Cuadro 3), este mostró que existieron diferencias significativas entre los tratamientos con

respecto al testigo absoluto. A través de la prueba de Dunnett al 5% (Cuadro 4), se determinó cual de los tratamientos suprimía el crecimiento del hongo.

Cuadro 3 Análisis de varianza, correspondiente al crecimiento radial en mm de *A. solani*.

F. de V	GL	SC	CM	FC	FT 5%
Trat.	4	7801.33	1950.33	593.41**	2.76
Error	25	82.17	3287		
total	29	7883.50			

** Significativo al 5%

Cuadro 4 Resultados de la prueba de Dunnett, correspondientes al crecimiento radial del

hongo *A. solani*.

<i>Comparación de tratamientos</i>	Diferencia entre promedio($\alpha = 0.05$)
4 -1	0.333
5 -1	-21.333***
3 -1	-35.500***
2 -1	-36.000***

*** = valor significativo al 0.05 de probabilidad para una diferencia mínima significativa de 2.73, según Dunnett.

Al analizar los resultados de la prueba de Dunnett, se determinó que los tratamientos Mancozeb(T2), Paraquat (T3) y la sal fosfatada K_2HPO_4 (T5) produjeron un efecto en cuanto a la disminución en el crecimiento del hongo, presentandose este efecto en forma

más drástica en los tratamientos con Mancozeb y Paraquat siendo no compatibles con *A. solani*.

Por la razón antes descrita el tratamiento a base de Paraquat en concentraciones de 12mM, se descarta para la fase de invernáculo de vidrio y el fungicida comercial Dithane[®] 80 WP (Mancozeb) se mantuvo para la siguiente fase, como testigo relativo en la investigación.

Con respecto a la comparación de la sal potásica KCl (T4) con el testigo absoluto(T1) se observó que no existe una diferencia significativa estadísticamente es decir que el tratamiento a base de KCl en lugar de inhibir el crecimiento del hongo sirvió para enriquecer el medio en el cual se desarrollo.

4.1.2. Compatibilidad de los agentes biológicos con los químicos.

Para esta prueba de compatibilidad, se utilizó únicamente la bacteria *Bacillus subtilis*, ya que la bacteria *Bacillus thuringiensis* fue utilizada como producto comercial JAVELIN[®], el cual contenía la toxina de la bacteria, lo que indicaba que no existiría ningún efecto inócuo de parte de los agentes químicos, es decir que la bacteria podía convivir con los químicos.

Los productos químicos evaluados fueron: el Mancozeb, Paraquat, KCl y K_2HPO_4 a concentraciones de 12 gr/lit., 12 mM, 50mM y 50 mM, respectivamente.

Se tomaron lecturas a las 24 y 48 horas de estriada la bacteria en platos de Petri, el método de evaluación fue cualitativo, a través de la observación, para determinar si existía crecimiento o no.

T °c	30.0	28.0	31.0	32.0	31.0	29.0	27.0	27.0
------	------	------	------	------	------	------	------	------

Fuente: Estudiantes del proyecto de investigación SAR 2001, datos tomados a las 10:30 am

La toma de los datos se realizó cada tres días desde su apareamiento, efectuándose en total 13 evaluaciones. A continuación se presenta el análisis de varianza (ANVA) en el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de varianza correspondiente al porcentaje de incidencia de seis tratamientos usados como inductores de SAR hacia *Alternaria solani*.

F. de V	G.L	SC	C.M	FC
Trat.	5	3,484.296	696.859	0.75 ns
Error	30	27,817.096	927.236	
Total	85	31,301.392		

Los resultados del análisis de varianza, demuestran que no existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados en la variable de incidencia; es decir, que las medias de los tratamientos se comportaron estadísticamente de igual manera. En la Figura 8 se presentan los promedios de cada uno de los tratamientos.

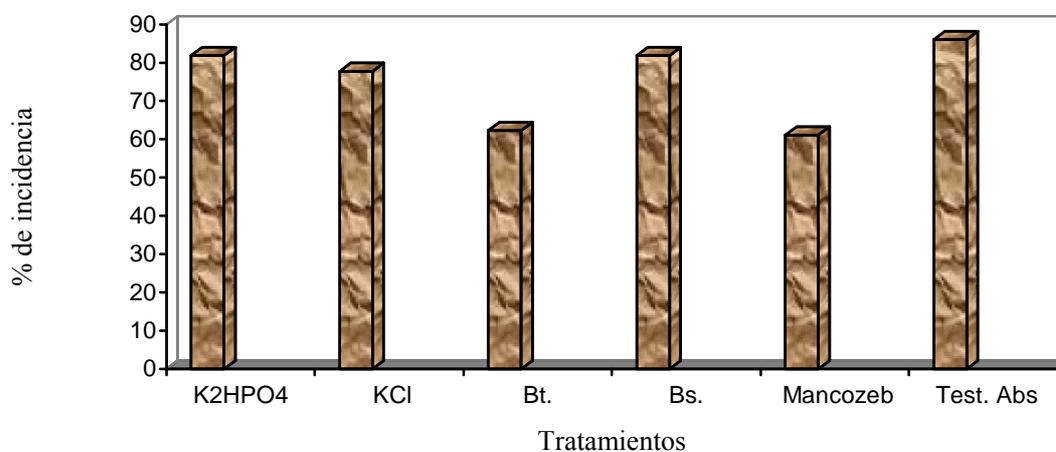


Fig.8 Porcentaje de incidencia de seis tratamientos usados en el control de *Alternaria solani*.

La fig. 8. presenta el comportamiento biológico real de la enfermedad en las plantas de tomate; Sin embargo, aunque no hay diferencia estadística entre los tratamientos, al comparar los promedios de porcentaje de incidencia de los tratamientos T₃ (*B. thuringiensis*) con 62.33% y T₅ (Mancozeb, testigo relativo) con 61.11% con respecto al T₆ (Testigo Absoluto) que presentó un 86.11%. Se observada que existió una diferencia del 25% de incidencia entre ambos testigos; demostrando esto que existe un posible efecto inductor de SAR contra la enfermedad de tizón temprano.

4.2.2 Severidad (% de tejido dañado)

Los datos de severidad se tomaron cada tres días, iniciando a los 21 días después de inoculado *A solani*, hasta los 57 días, donde se observó la muerte de la mayoría de plantas. El análisis de varianza para la severidad, demostró que no existe diferencia significativa entre los tratamientos utilizados en la inducción de SAR (Cuadro 7).

Cuadro 7 Análisis de Varianza del promedio del porcentaje de severidad de *A. solani*

F. de V.	G. L	SC	CM	FC
Trat.	5	4060.775	812.155	1.91 ns
Error	72	30551.266	424.323	
Total	77	34,612.041		

Debido a que el análisis de varianza reflejó que entre los tratamientos utilizados no existe diferencia estadística, fue necesario analizar los resultados desde el punto de vista

biológico, el tratamiento que controló mejor el hongo *Alternaria solani*, fue el testigo relativo T₅ mancozeb (fungicida comercial) con un 41.66%, seguido de las sales T₁ (K₂HPO₄), T₂ (KCl) y T₄ (*B. subtilis*) con un 58.33%, comportándose de igual manera con respecto al porcentaje de severidad y el T₃ (*B. thuringiensis*) con un 70%. (fig.9)

El T₆ (testigo absoluto) presentó una alta severidad (75.83%), esto demuestra que con la aplicación de agentes químicos y biológicos utilizados como inductores de SAR, produjeron un efecto positivo en la disminución del desarrollo de la enfermedad en el cultivo de tomate.

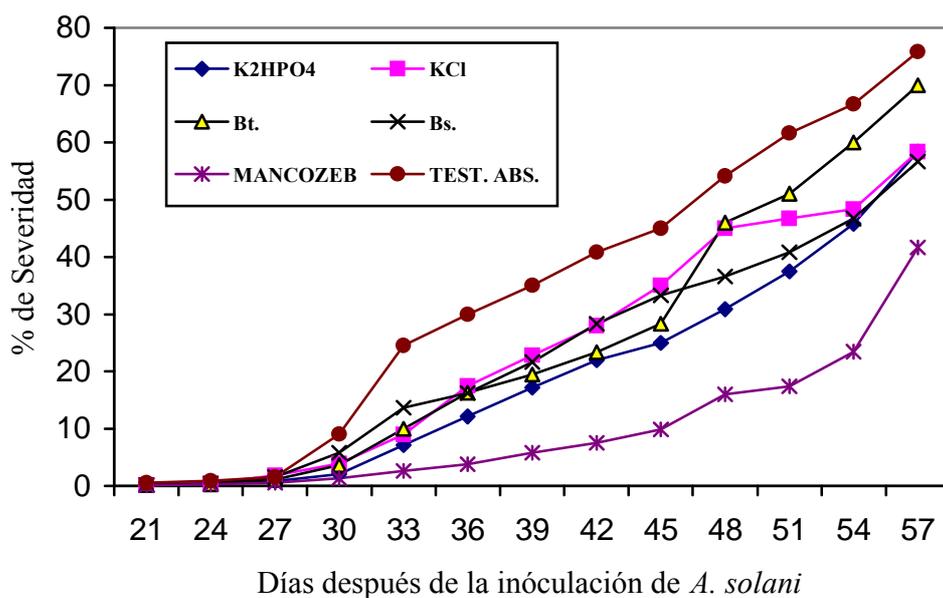


Fig 9. Porcentaje de severidad de seis tratamientos

4.2.3 Número de lesiones

Se evaluó la presencia de lesiones típicas de la enfermedad, contando el número de estas con base a la selección de dos hojas por planta, en cada tratamiento.

Las lesiones aparecen en forma de manchas foliares irregulares, constituidas por anillos concéntricos (CATIE, 1990), el aparecimientos de los síntomas característicos de la enfermedad, se manifestó a los 15 días, pero la toma de datos de esta variable se inició hasta los 21 días , con un intervalo de toma de datos de 3 días, hasta la coalescencia de las lesiones. Seguidamente se presenta el análisis del varianza en el cuadro 8.

Cuadro8. Análisis de varianza correspondiente al número de lesiones de 6 tratamientos usados como inductores del (SAR) hacia *Alternaria solani*:

F de V	GL	SC	CM	FC
Trat.	5	1386.666	277.333	1.82 ns
Error	18	2743.833	152.435	
Total	23	4130.499		

Al realizar un análisis de varianza se determinó que no existían diferencias significativas entre los tratamientos (6), en los que se evaluaron el número de lesiones, es decir que las medias de los tratamientos se comportaron estadísticamente, de igual manera, en la fig. 10 se presentan los promedios de los tratamientos.

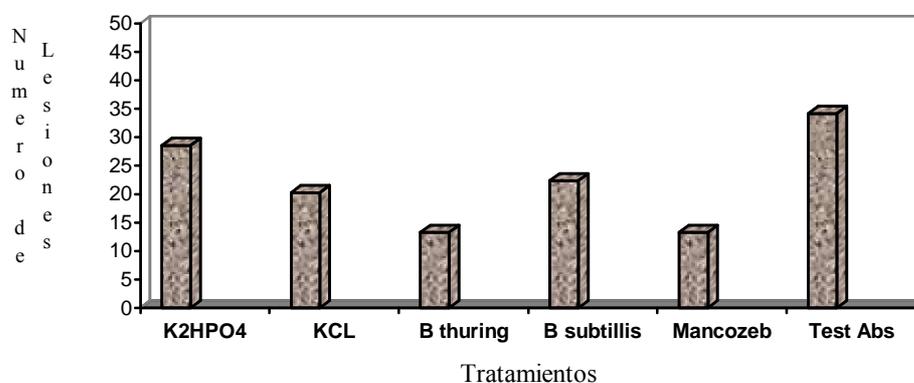


Fig. 10. Promedio del número de lesiones de seis tratamientos usados en el control de *A. Solani*.

La Figura anterior, representa el comportamiento biológico de la enfermedad en las plantas de tomate; se observa, que existe diferencia entre los tratamientos, siendo el T3 (*B. thuringiensis*) con 13.30 de lesiones y T5 (Mancozeb- fungicida comercial con 13.25 lesiones p/planta), las que presentaron el menor número de lesiones, ya que disminuyó el número de lesiones por hojas muestreadas por planta. Al comparar el T₃ (*B. thuringiensis*) con el testigo absoluto se observa que hay una disminución en el número de lesiones. Estos resultados demuestran que hubo un efecto inductor de SAR.

4.2.4 Tamaño de lesiones en mm.

El análisis del tamaño de la lesiones en mm., se realizó con base a promedios de datos obtenidos de diferentes muestreos, iniciados a los 24 días después de inoculado el hongo y luego a intervalos de 3 días, hasta que fue imposible medir el daño causado en el cultivo de tomate, debido a la alta presencia de *Alternaria solani*, según CATIE (1990) la enfermedad tizón temprano, presenta manchas que pueden alcanzar 15mm de diámetro, hasta volverse coalescentes.

Cuadro 9 Análisis de varianza del tamaño de lesiones en mm.

F de V	GL	SC	CM	FC
Trat.	5	5.855	1.171	0.60
Error	12	23.261	1.938	
Total	17	29.116		

Según el análisis de varianza cuadro 9, se observa que no existe diferencia significativa entre los tratamientos del experimento, ya que las medias se comportan de igual manera.

El análisis estadístico demostró que ninguno de los tratamientos es significativo, pero al graficar los resultados, se observa que hay diferencias entre ellos (fig. 11).

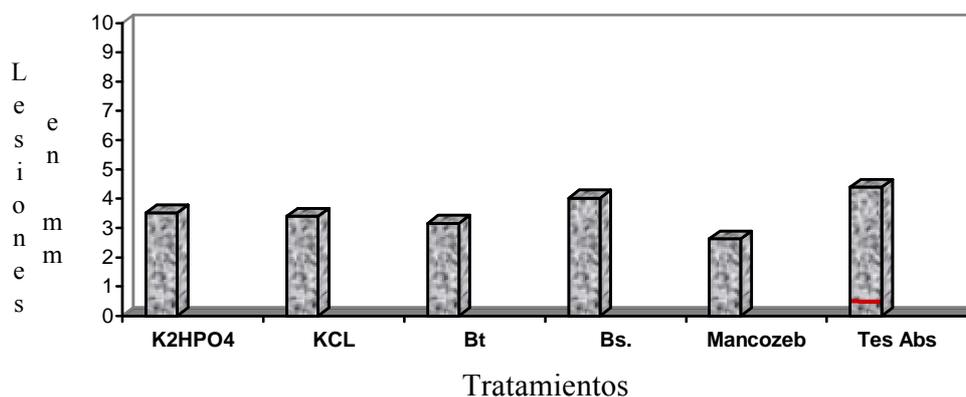


Fig.11. Promedio del tamaño de lesiones de seis tratamientos utilizados en el control de

A. Solani.

Los tratamientos T₁ (K₂HPO₄), T₂(KCl) y T₃ (*B. turrigensis*) tienen un comportamiento de control del hongo, con respecto al testigo absoluto T₆ (agua destilada), dando la pauta para ser utilizados al disminuir las lesiones y reducir al mínimo los efectos ocasionados por el uso excesivo de químicos que causan efectos negativos al medio ambiente.

4.2.5 Area bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) del Tizón

Temprano (*Alternaria solani*)

Las evaluaciones de la enfermedad y el apareamiento de síntomas se realizó a partir de los 15 días después de inoculado el hongo, con un intervalo de tres días entre cada toma de datos.

La severidad, fue la variable para determinar la curva de progreso de la enfermedad y el área bajo la curva, determinando la cantidad de enfermedad mostrada por cada tratamiento (anexo 7), el cual se expresa en unidades de proporción de enfermedad por día. En el cuadro 10. se presenta el análisis de varianza de la ABCPE de los tratamientos.

Cuadro 10. Análisis de varianza correspondiente al área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) del tizón temprano (*A. solani*).

F de V	G.L	S.C	C.M	F.C.	F.T. 51/1
Trat.	1	14,290.286	14,290.286	0.14 ns	7.71
Error	4	411,496.618	1012,874.154		
Total	5	425,786.904			

Los resultados obtenidos del análisis de varianza demuestran que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, con relación al grado de significancia (5%); esto indica, que las medias de los tratamientos son iguales, en cuanto al área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Al comparar los promedios de la ABCPE (fig.12) se observa el comportamiento biológico de la enfermedad, el cual refleja que la aplicación de la sal fosfatada K_2HPO_4 presentó el menor promedio ABCPE, 690 unidades de proporción de enfermedad por día, en comparación con el testigo absoluto, el cual presentó el promedio de ABCPE más alto (1,223.81 unidades) en el experimento de invernáculo de vidrio.

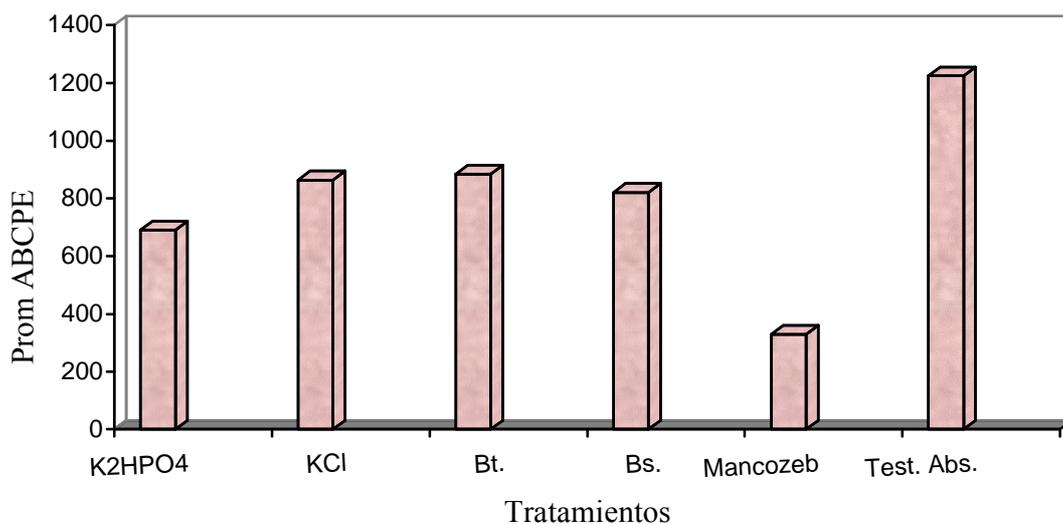


Fig 12. Promedio de la ABCPE del tizón temprano (*A. Solani*)

El resultado que se pretendía obtener, de parte de los agentes biológicos en cuanto a la inducción de resistencia, no fue el esperado, probablemente por el mecanismo de acción de las bacterias sobre las hojas del tomate; además de los factores climáticos (baja humedad relativa y alta temperatura) que imperaron dentro del invernadero.

El proyecto de investigación de Inducción de Resistencia Sistémica Adquirida (SAR), no produjo los resultados que se esperaban, esto se debió al ataque incontrolable de la gran población de mosca blanca que causó efectos negativos en el cultivo, ya que lo infectó con el virus. Obligando a las plantas a crear resistencia contra el virus, atribuyendo esto a que el efecto que podrían haber producido los agentes químicos y biológicos como inductores del SAR fue utilizado para controlar este daño. Este fenómeno de defensa de las plantas provocó que bajaran al mínimo su rendimiento, lo cual no permitió que se realizara un análisis económico para comparar cual de los tratamientos fue más efectivo en el control del hongo; pero se observó que al comparar los agentes químicos y biológicos

como inductores de SAR había un comportamiento biológico en el control de la enfermedad tizón temprano, presentándose como una alternativa para ser incorporado en el manejo integrado de plagas, ya que ayudará a reducir los efectos causados por el uso excesivo de productos químicos que deterioran directamente en el ambiente.

5. CONCLUSIONES

- El paracuat en concentración de 12 mM inhibió el crecimiento radial de *A. Solani*, en la fase de laboratorio, por lo tanto no fue utilizado como inductor de SAR.
- Las sales K_2HPO_4 y KCl, no produjeron ningún efecto antagónico en el crecimiento de la *B. Subtillis* por lo que pueden ser utilizadas como inductores de SAR.
- La sal fosfatada K_2HPO_4 , logró reducir el porcentaje de severidad y el promedio de ABCPE de su tratamiento, induciendo el fenómeno de SAR en plantas de tomate.
- Las aspersiones de *B. Thuringiensis*, redujo el porcentaje de incidencia y el número de lesiones de su tratamiento provocando el fenómeno de SAR.
- Los agentes químicos y biológicos no redujeron el tamaño de las lesiones causadas por *A. Solani*, ya que se comportaron de igual manera.
- El efecto de SAR no pudo comprobarse estadísticamente debido a la alta infección del virus de la mosca blanca.

6. RECOMENDACIONES

- Efectuar pruebas con diferentes herbicidas en concentraciones menores a 12 mM que funcionen como inductores de SAR y sean compatibles con el patógeno *Alternaria Solani*.
- Investigar sobre otros medios enriquecidos que favorezcan la esporulación del hongo *A.Solani* en todo el disco del plato petri, para facilitar el proceso de estandarización de la concentración de conidios.
- Evaluar diferentes dosis y formas de aplicación de los agentes químicos y biológicos como inductores de resistencia a enfermedades.
- Contar con equipo e instalaciones adecuadas de invernadero para favorecer el desarrollo y penetración del hongo.
- Efectuar más investigación en Laboratorio e invernadero para que posteriormente sean llevadas a campo y así poder validar los resultados obtenidos.

7. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. 1986. Fitopatología. Trad. Por Manuel Guzmán. México. D.F. Edit. Limusa. 756 P. P. 127-133.
- Agrios, G. 1991. Fitopatología. Trad. Por Manuel Guzmán. Edic. 2ª. México. D.F. Edit. Limusa. 785 pp. P 127-133.
- Alexopoulos, C.J. 1976. Introducción a la micología. Trad. Antonio Pedro Digilio. Edic. 2ª. Buenos Aires, Argentina . Edit. Universitaria. 615 P. P. 422-423.
- Baker, C.J.; STavely, J.R. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions plant disease. P. 69, 770-772.
- Bi, Y.M.,Kenton, P., Mur, L.,Darby, R., and Draper, J. 1995. Hydrogen peroxide does not funtion downstream of salicylic acid in the induction of PR protein expression. Plant j 8, 235-45
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica. Edit. CATIE. Vol. 151. 138 P. P. 72-74.
- Castaño, Z. J. 1986, Prácticas de Laboratorio de Fitopatología. Zamorano, Honduras, Edit. Escuela Agrícola Panaméricana, Pag. 45. P.P. 10 y 11.
- CENTA. 1993. Programa de hortalizas (Guía Técnica). La Libertad, El Salvador. Edit. CENTA. 13 P. P. 2-11.

Centurian, M; Kimati, H. 1994. Selección e identificación de microorganismos antagónicos a la roya del frijol (*Uromyces phaseoli*) Summa Phytopathologica (Brazil). 20 (3-4): 174-178.

Chistancho, M.A.A. y Leguizamón 1995. Efecto protector de la bacteria *Bacillus thuringensis* en plantas de café contra el desarrollo de *Hemileia vastatrix* Berk y Br. Cenicafé Colombia P 46 (3), 140-150.

Delaney T. 2000. Nature of Sensing and response Signal Transduction in biological Systems BioBM407/ PIPa 407. Univ. Cornell, Estados Unidos de América. http://www.Instructl.cit.cornell.edu/Courses/biobm407/Lectures/Lect_22.html.

Dickinson, C.H.; Lucas, J.A.1987. Patología vegetal y patógenos de plantas. México, D.F. Edit. Limusa. P. 244-245.

ENCICLOPEDIA AGROPECUARIA TERRANOVA. 1995. Bogotá, Colombia. Edit. Panamericana Formas e Impresos. P. 297, 298-301.

Escobar, N. 1989. Evaluación de diferentes fechas de aplicación de Mancozeb y captafol en el control de *Alternaria solani* en las variedades de tomate Santa Cruz y UC 82 B en Zapotitán. Tesis Ing. Agr., San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. P. 89.

FUSADES. 1992. Manejo integrado de las enfermedades del tomate. San Salvador, El Salvador. Edit. FUSADES. Guía Técnica No. 14. 322 P. P. 2, 9.

Gonzalez, L.C. 1976. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica. Edit. IICA. 148 P. P. 73, 101.

Gudiel, 1998. Manual agrícola super B. Guatemala. Edit. Litografía profesional. 591 P. P.285-290, 500-501.

Hammerschmidt, R; Kúc, J. 1995. Induced resistance to disease in plants. Edti. Kluwer Academic Publisher the Netherlands. 183 P.

Hernández, T. Montoya, R. 1983. Epidemiología cuantitativa aplicada al análisis de algunas enfermedades de cultivos tropicales. Perú. Edit. IICA. 50 P. P. 22.

Hoitink, H; Madden L. 2000. Biological Control of xanthomonas (bacterial) plant Diseades basad on Systemic Acquired Resistance. Estados Unidos de América. [http://www. Oardc.ohio-state.edu/recgp/fa1196awards.htm](http://www.Oardc.ohio-state.edu/recgp/fa1196awards.htm)

University of Wales 2000, Systemic Acquired Resistance (SAR), , Estados Unidos de América. <http://www.aber.ac.uk/~mppwww/sar.html>

Delaney, 2000, Features of Systemic Acquired Resistance (SAR) University of Cornell, EE:UU.

http://www.ppathw3.cals.cornell.edu/Delaney/DELANEY_SAR_plant.html

Kessman, H.; Stanb, T. Et. al. 1994. Induction of systemic acquired diseases resistance in plants by chemicals annul. Rev. Phytopathol. 32: 439-459.

Kúc, J; Strobel, N.E. 1992. Induced resistance using pathogens and non pathogens in biological control of plants diseases. New York, USA. PLENUM press. P. 295-303.

Lara, E. 1988. Principios de Fitopatología. San Salvador. Edit. U.E.S. Posr Cosecha No. 2. 19 P.P. 2-6.

MAG, 2000. Planeación de cultivos hortícolas. Dirección general de economía agropecuaria. El Salvador. 40 P. P 9.

Maroto, B. J. 1983. Horticultura herbácea especial. Madrid, España. Edit. Mundi prensa. 533 P. P. 351, 517.

Messiaen, C.M. 1967. Enfermedades de las hortalizas. Barcelona, España. Edit. OIKOS-TAU. 361 P. P. 17.

Mucharromah, E.; KÚC, J. 1991. Oxalate and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. Crop protection. Vol. (10). P. 265-270.

Nuila, A; Mejía, M. 1990. Manual de diseños experimentales. San Salvador, El Salvador. Edit. U.E.S. 256 P. P. 56-65.

Ogylvie, Lawrence. 1964. Enfermedades de las hortalizas. Trad. Dr. Moll, H. M. Zaragoza, España. Edit. ACRIBIA. 228 P. P. 1, 151-155.

Pérez López, G. 1995. Aplicación al análisis de experimentos agrícolas. Turrialba, Costa Rica. Edit. CATIE. 119 P.

PROTECCION VEGETAL. 1998. Revista Semestral del Departamento de Protección Vegetal. San Salvador, El Salvador. Edit. D.P.V. Vol: 8. No. 1 y 2. 41P. P. 26-40.

Ramírez, O. 1994. El uso del presupuesto parcial en el manejo integrado de plagas. Turrialba, Costa Rica. Edit. CATIE. Hoja Técnica MIP No. 11. 4 P.

Reuveni, M.; Reuveni, R. 1994. Foliar spray of phosphates induces growth increase and systemic resistance to *Puccinia sorghi* in maize. Plant Pathology. P. 245-250.

Reuveni, M; Agapov, V; Reuveni, R. 1993. Induction of systemic resistance to powdery mildew and growth increase in cucumber by phosphates. Biological agriculture and agriculture 9 (4). P. 305-315.

Reuveni, M; Agapov, V; Reuveni, R. 1995. Suppression of cucumber powdery MILDEW (*Spharotheca fuliginosa*) by foliar sprays of phosphates and potassium salt. Plant Pathology. 44: 31-39.

Ryals, J; Uknes, S; Ward, E. 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 104: 1109-1112.

Rivas Flores, A. 1996. Efecto sobre *Uromyces phaseoli* e *Isariopsis griseola*, de tres microorganismos antagonistas y un fosfato inductor de resistencia en *Phaseolus vulgaris*. Anteproyecto tesis. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 19 P. P. 6-10, 12, 14-20.

Rivera, J.A. 1992. Interferencia de *Bacillus thuringiensis* y quitina en el sistema café – *Hemileia vastatrix* Berk y Br. Tesis MSc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 60 P.

Spurr, H.W. 1978. Field control of two foliar diseases by a bacterial antagonist. *Phytopathology* nucus 12:74. (abstr).

Stedd, R; Torrie, J. 1997, Bio-estadística, principios y procedimientos. Edic. 2ª. México, D.F. Edit. Mc Graw Hill. 622 P. P. 182-183.

Strobel, N.E.; J. 1995. Chemical and biological inducers of systemic resistance to pathogens protect cucumber and tobacco plants from damage caused by Paraquat and cupric chlonde, *planthology*. Vol. 85, No. 1306-1310 P.

Tuzún, S; Kúc. J. 1991. Plant immunization: an alternative to pesticides for control of plant disease in he green house and field. In the biological control of plant diseases, food and fertilizer technology center for the Asiaand Pacific Region. Taiwan, China. P. 30-40.

Walker, J. C. 1959. Enfermedades de las hortalizas. Trad . Por Antonio Arnal Verderal. Barcelona, España. Edit. SALVAT. 622 P. P. 23,561-565.

ANEXOS

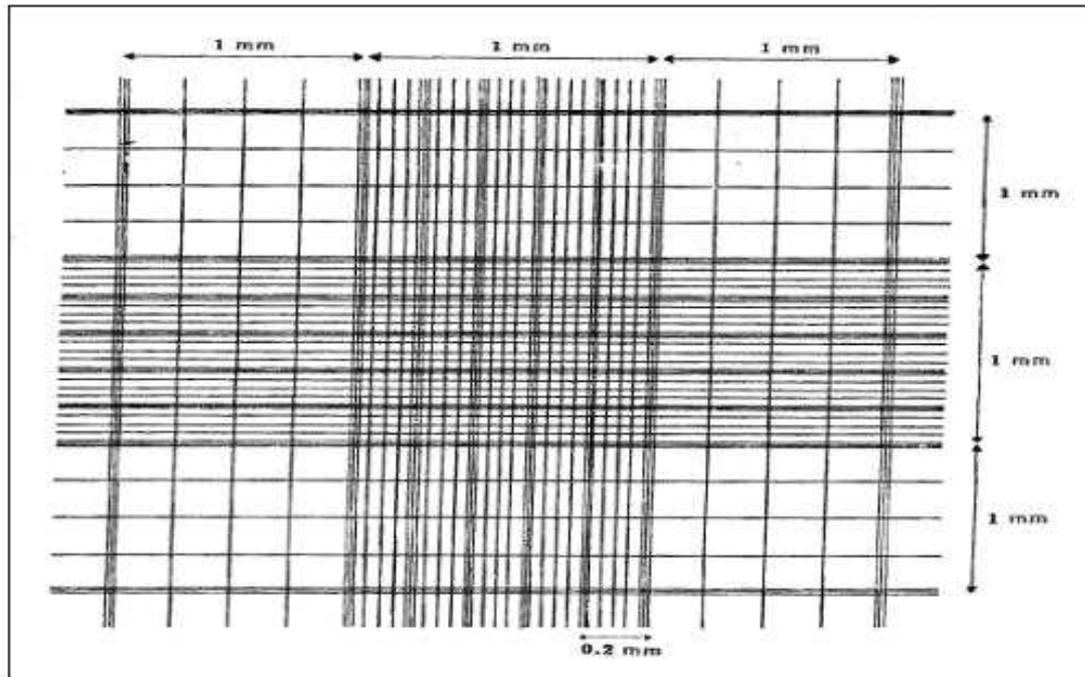
A.1 ENFERMEDADES PRINCIPALES DEL CULTIVO DE TOMATE EN EL SALVADOR, SU AGENTE CAUSAL, EPOCA DE APARECIMIENTO E IMPORTANCIA.

NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	CAUSANTE (VECTOR O TRANSMISION)	IMPORTANCIA * (CATEGORIA)	EPOCA** (CATEGORIA)
Mal del tallo	Rhizoctonia solani	b	LL
	Phythium spp	b	LL
Tizón tardío	Phytophthora infestans	a	LL
Tizón temprano	Alternaria solani	a	S
Mancha septoria	Septoria lycopersici	b	LL
Moho gris de la hoja	Cladosporium fulvum	b	LL
Moho gris del fruto	Botrytis cinerea	b	LL
Antracnosis del fruto	Colletotrichum spp	c	LL
Marchitez bacterial	Pseudomonas solanacearum	a	LL
Mancha bacterial del fruto	Xanthomonas vesicatoria	b	LL
Mosaico del tabaco	Virus TMV (Mecánica)	a	S
Virosis X de la papa	Virus PVX (Mecánica)	a	S
Virosis Y de la papa	Virus PVX (Afidos)	a	S
Virosis del grabado del tabaco	Virus TEV (afidos)	a	S
Mosaico del pepino	Virus CMV (Afidos)	a	S
Virosis del bronceado del tomate	virus TSWV (Trips)	a	S
Mosaico amarillo y Dorado del tomate	Geminivirus (Mosca blanca)	a	S

* a = Enfermedad clave, b = Enfermedad esporádica c= Enfermedad potencial
 ** LL = lluviosa y S = Seca

Fuente: FUSADES, 1992

A 2. CÁMARA PETROFF- HAUSSER



Fuente: Castaño, 1986

A.3 COMPOSICION DEL BLAUKORN (Abono universal azul)

Abono CEE exento de cloro NPK 12.12.17s 2 MgO (Equilibrio 1-1-2)

Composición Química	Porcentaje
Nitrógeno N	12.0
Nítrico	4.8
Amoniacal	7.2
Fósforo P ₂ O ₅ (90 % soluble en agua)	12.0
Potasio K ₂ O	17.0
Magnesio MgO	2.0
Azufre SO ₃	18.5
Calcio Ca	3.0
Zinc Zn	0.02
Cobre Co	0.002

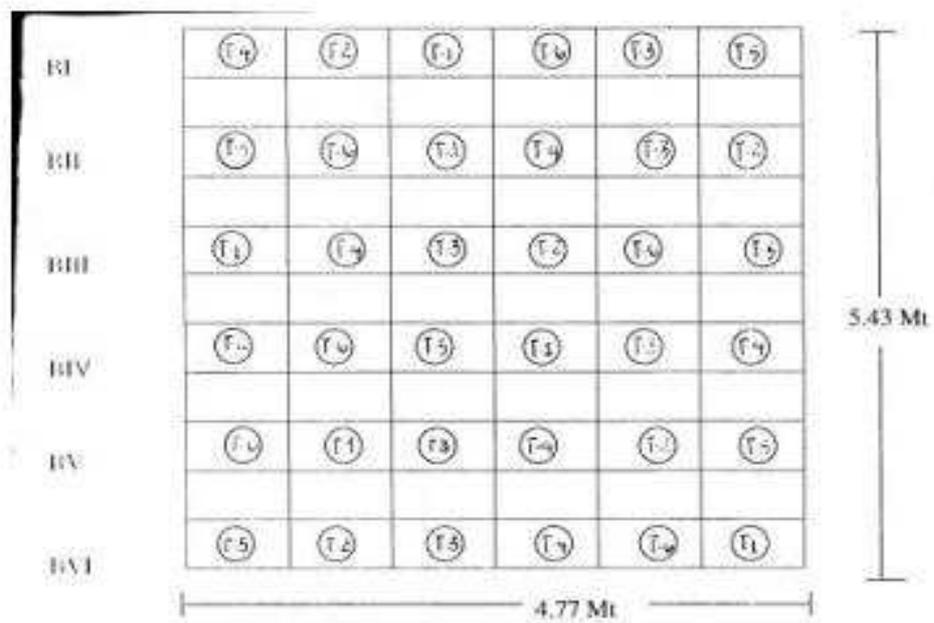
Fuente: Viñeta del producto.

A.4 COMPOSICIÓN DEL BAYFOLAN FORTE.

Macroelementos y elementos secundarios	Microelementos	Otros
<p>N</p> <p>P</p> <p>K</p> <p>Ca</p> <p>Mg</p> <p>S</p>	<p>Fe</p> <p>Cu</p> <p>Mn</p> <p>Zn</p> <p>Mo</p> <p>Co</p> <p>B</p>	<p>Fitohormonas</p> <p>Substancias tampón</p> <p>Humectantes y dispersantes</p> <p>Vitaminas</p> <p>Formadores de quelatos (EDTA)</p> <p>Agentes de compatibilidad</p>

Fuente: Bayer,2001.

A.5 PLANO DE DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS EN INVERNÁCULO DE VIDRIO.



A.6 ESCALA DIAGRAMATICA DE PORCENTAJE DE SEVERIDAD DE *Alternaria solani* EN TOMATE.



1 %



3 %



5%



15 %



30%



50 %