

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



“MANEJO DE MARCHITEZ BACTERIANA DEL TOMATE (*Burkholderia solanacearum*), CON OCHO TRATAMIENTOS A NIVEL DE INVERNADERO”

POR:

BR. NATALIA ANNEL ARTEAGA CHAVEZ  
BR. DAYSI CAROLINA AVENDAÑO SEVILLANO

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:  
INGENIERO AGRONOMO

SAN SALVADOR, FEBRERO 2004

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector (a) : Dra. María Isabel Rodríguez.

Secretaria (o) General : Licda. Lidia Margarita Muñoz Vela.

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

Decano : Ing. Agr. Jorge Alberto Ulloa Erroa.

Secretario  
Monterrosa : Ing. Agr. Santos Alirio Sandoval

## DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL

Jefe del Departamento de

Protección Vegetal

: Ing. Agr. M.Sc. Rafael Menjivar.

Docente Director

: Ing. Agr. M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas.

## RESUMEN

En la siguiente investigación se ha realizado una descripción de las características de la enfermedad marchitez bacteriana, que afecta a los cultivos de tomate, papa, pimentón entre otros y causa grandes pérdidas entre los agricultores. Así como también del uso que se da a los diferentes métodos alternativos para el manejo de la enfermedad bacteriana en tomate a nivel de invernadero, la cual es ocasionada por la bacteria *Burkholderia solanacearum*, encontrándose generalmente en el suelo y que cuenta con diversos hospedantes lo que hace difícil su erradicación total a través de otros métodos convencionales, siendo el control químico aquel que puede disminuir su daño, pero a la vez contamina el ambiente.

Dichos métodos consisten en nuevas alternativas como el uso de controladores biológicos (*Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* tanto al suelo como a la parte foliar, el hongo *Trichoderma sp*) así como la aplicación de fertilizante, el uso de un abono orgánico tipo Bocashi, el uso de cloruro de potasio 0.1M como un agente inductor de resistencia sistémica adquirida y el testigo.

Utilizándose un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y nueve repeticiones, siendo las variables para dicha investigación: la incidencia (%de plantas enfermas), la severidad (% de tejido dañado) y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad; realizándose luego del análisis las conclusiones y recomendaciones.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la fuerza y perseverancia durante el desarrollo de este trabajo.

Al Ing. Agr. M.Sc. Andrés Rivas, por su apoyo, responsabilidad y dirección en la elaboración de esta investigación.

Al Ing. Roberto Moreno (CESTA) por facilitarnos el abono tipo Bocashi para la fase de invernadero.

A la Ing. Agr. Daysi de Solano, Lic. Rossmery de Erroa, Ing. Agr. Gustavo Henríquez, por permitirnos el uso del Laboratorio, equipo, e invernadero del Departamento de Protección Vegetal.

Al Ing. Agr. Luis Fernando Orellana Leal por toda la información y conocimientos dados para la documentación de la investigación.

Al Ing. Agr. Miguel Rafael Paniagua por su apoyo, ánimo y ayuda.

A la Señora Griselda Concepción Silva por toda la colaboración brindada durante la fase de laboratorio.

Al Departamento de Química Agrícola por proporcionarnos algunos materiales necesarios para el desarrollo de la investigación.

Al personal que labora en la Unidad de Vivero por las herramientas de trabajo que fueron de mucha utilidad.

Y a todas las personas que nos apoyaron sinceramente.

## DEDICATORIA

A Dios por regalarme la oportunidad de poder ver finalizada la última etapa de mis estudios, y que sin su Espíritu de fortaleza no hubiera sido posible.

A mi familia por permanecer conmigo en todos los momentos, gracias por su apoyo, consejos, y especialmente a mi mami por creer mucho en mi.

A mi tío Mardoqueo Arteaga por hacerme ver que todo es posible cuando hay fe y ganas de trabajar.

A mi amigo Luis Fernando Orellana por darme apoyo, y sobre todo por estar siempre conmigo sin importar la distancia, gracias colega.

A mi amiga María del Rosario Iraheta, por mostrarme su ayuda y amistad en todos los momentos difíciles, lo logramos amiga.

A todos mis compañeros egresados del ciclo II-2002, los cuales son muy especiales.

NATALIA ANNEL ARTEAGA CHAVEZ.

## DEDICATORIA.

A DIOS: Por ser mi fiel, amigo, Padre, hermano, ayuda y lo más especial y admirable que tengo en la vida.

A JESÚS: Por estar siempre conmigo y por escucharme siempre.

AL ESPIRITU SANTO: Por su animo en momentos de desesperación.

A MI PADRE Y MADRE: Edmundo Avendaño Pérez y Maria Virgilia de Avendaño por su dedicación y esfuerzo, por sus noches de desvelo y por su apoyo.

A MIS HERMANOS: Joel, Adela y Héctor, a mi sobrinito por alegrarme la vida.

A MIS AMIGOS: Natalia por su paciencia, comprensión y consejos, Karina por su apoyo y ayuda, Maria Eugenia por los buenos tiempos que compartimos juntas Carlos por su apoyo en momentos muy difíciles, Francisco por siempre escuchar, Miguel, por su sabiduría, William, Samuel, Mónica, Rodrigo y demás personas que me apoyaron durante estos seis años.

A MI JEFE: Señor José Luis Urías, por ser el hombre más extraordinario que he conocido en mi vida, por todo lo que me ha enseñado y por permitirme dedicar tiempo en la elaboración de este documento.

DAYSY CAROLINA AVENDAÑO.

## INDICE

CONTENIDO	PAGINA
1) Introducción.	1
2) Revisión de Literatura.	3
<i>A. Características generales del cultivo del tomate.</i>	3
1. Clasificación y descripción botánica.	4
2. Manejo del cultivo a nivel de invernadero.	5
2.1 Semillero.	5
2.1.1 Fertilización.	6
2.1.2 Riego.	6
3. Control climático de invernaderos.	7
3.1 Temperatura.	7
3.2 Humedad Relativa.	8
<i>B. Enfermedades bacteriales en el cultivo del tomate.</i>	8
1. <b><i>Burkholderia solanacearum</i></b> (Marchitez Bacteriana)	8
1.1 Características morfológicas de <b><i>Burkholderia solanacearum</i></b> .	9
1.2 Epidemiología.	10
1.2.1 Sintomatología.	10
1.2.2 Diseminación y sobre vivencia.	11
1.2.3 Ciclo de la enfermedad.	12
1.2.4 Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.	12
2. Métodos de control de enfermedades.	13
2.1 Control de enfermedades bacterianas de las plantas.	14
2.2 Control Químico.	16
2.3 Control Biológico.	18
2.3.1 <b><i>Bacillus subtilis</i></b> .	20
2.3.2 <b><i>Bacillus thuringiensis</i></b> .	21
2.4 <b><i>Trichoderma sp.</i></b>	23
<i>C. Métodos Alternativos.</i>	25
1. Fertilización.	25
2. Enfermedades de las plantas.	27
2.1 Mejoramiento de la nutrición y la reducción de la actividad patogénica.	28
3. Bocashi.	29
4. Mecanismo de Resistencia Sistémica Adquirida (SAR).	30
3) Materiales y Métodos.	33
3.1 Descripción del área de estudio.	33
3.2 Fase previa de laboratorio.	33
3.3 Fase de laboratorio	34
3.3.1 Aislamiento del Patógeno.	34



	PAGINA
3.4 Fase Previa de Invernadero	36
3.4.1 Desinfección del suelo y llenado de bolsas.	36
3.4.1.1 Cuidado y manejo de las plántulas de tomate en bandejas.	37
3.4.1.2 Transplante y manejo.	37
4.) Fase de Invernadero	37
4.1 Establecimiento de los tratamientos del invernadero.	37
4.2 Diseño y modelo estadístico.	39
4.3 Variables Evaluadas.	40
5) Discusión de Resultados.	41
Conclusiones	50
Recomendaciones	51
Literatura Citada.	52
Anexos.	58

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Enfermedades de las plantas ocasionadas por bacterias. Género de bacterias y la clase de síntomas que causan.	15
2	Resumen de las funciones de algunos elementos en las plantas.	26
3	Resultados obtenidos para los datos de incidencia de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.	42
4	Resultados obtenidos para los datos de severidad de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.	44
5	Resultados obtenidos para los datos de ABCPE de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.	46
A- 1	Producción de tomate año 2002.	
A- 2	Valor nutricional del tomate por 100 g. de sustancia comestible.	
A- 3	Distribución de los tratamientos para el control de la marchitez bacteriana en tomate.	
A- 4	Hoja para la recolección diaria de los datos (grados de la enfermedad) utilizada en la investigación.	

## 1) INTRODUCCION

Las enfermedades de las plantas son importantes para el hombre, desde el punto de vista que perjudican a los productos que se obtienen de ellas, y marcan una diferencia en su estilo de vida al depender de los productos vegetales, pues en gran parte de la población la calidad de los vegetales se ve afectada por las enfermedades, llevando a la población a un estado de desnutrición y hambre. Además que provocan a los agricultores pérdidas económicas y propician el aumento en el precio de los productos, por su manejo.

La práctica del monocultivo y la contaminación por el uso de agroquímicos han reducido la biodiversidad de la microfauna existente en los agroecosistemas, causando una inestabilidad que lleva al apareamiento de plagas y enfermedades.

Las enfermedades que se presentan a nivel de campo en los cultivos de hortalizas, generalmente están ocasionadas por hongos ó bacterias que limitan grandemente la producción, a la vez que requieren un estricto control de manejo con productos químicos, elevando así los costos de producción y ejerciendo un efecto negativo al medio ambiente.

Dentro de las enfermedades que se manifiestan a nivel de cultivos de hortalizas se tiene la marchites bacteriana (*Burkholderia solanacearum*) con importancia por afectar en gran medida al cultivo del tomate ,llegando a ocasionar pérdidas en la producción desde porcentajes mínimos hasta un 100% (Betancourt,2003) y la cual se relaciona con la frecuencia en que se presenta la enfermedad y la severidad con la que ataca el cultivo. Como una medida de control para esta enfermedad se tiene el uso de los agroquímicos, los cuales cada vez están siendo utilizados de manera irracional, con efectos negativos en el ambiente.

Es por ello que se desarrollan nuevas alternativas para el manejo y control de la enfermedad en tomate tanto en campo como en invernadero; dichas alternativas se

implementan de manera que sean parte de un control integrado de las enfermedades, y que estén en armonía con el medio ambiente.

Teniendo como objetivos en la investigación evaluar el manejo de la marchites bacteriana (*Burkholderia solanacearum*) en tomate, mediante tratamientos alternativos, y en los cuales se evaluarán el uso de Bocashi como inductor de resistencia hacia la enfermedad, el efecto de la fertilización sobre el control de la misma, el efecto de una solución de cloruro de potasio 0.1M como un inductor de Resistencia Sistémica Adquirida en la planta, y además se evaluarán los tratamientos biológicos (*B.subtillis*, *B.thuringiensis* al suelo como a la parte foliar y *Trichoderma sp*) para el manejo de la enfermedad; proponiendo para ello la hipótesis que el manejo de la marchites bacteriana del tomate puede realizarse con diferentes medidas alternativas a los agroquímicos, con similares resultados.

## **2) REVISION DE LITERATURA**

### **A. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL CULTIVO DE TOMATE**

El Cultivo de tomate ocupa un lugar importante entre las hortalizas en el mundo ya que es la hortaliza más difundida y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada. (Agro boletín, 2002) (Ver Anexo No1).

Van Haeff 1992, considera que es un producto muy apetecido. Además es una importante materia prima para la industria de transformación. Tiene importancia mundial por su variedad de uso para el consumo fresco, su variedad de uso como ingrediente principal en jugos, pastas, bebidas y otros concentrados, su sabor universalmente apreciado, su alto valor comercial por unidad de superficie cultivada, su alto valor nutritivo, porque contiene relativamente mucha vitamina A y C. (Ver Anexo No2).

Según el CATIE (1990), de la gran diversidad de hortalizas de follaje y fruto que se explotan a nivel centroamericano, el tomate es la mas importante, tanto por la superficie dedicada a la siembra como por el valor de producción que alcanza, además genera una alta entrada de divisas; emplea gran cantidad de mano de obra y promueve una considerable actividad económica por el monto de insumos y horas / hombre dedicada a su producción, mercadeo y agroindustria.

En El Salvador el tomate es cultivado por muchos agricultores, datos proporcionados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, reflejan una gran demanda de esta hortaliza, la cual no es cubierta con las siembras locales, por lo que en año 2000-2001, se importaron

alrededor de 24,462 toneladas, con un valor de \$7, 643,487 para satisfacer el mercado nacional. (MAG, 2002).

## 1. CLASIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Botánicamente, el tomate se clasifica como *Lycopersicon esculentum*. Este género pertenece a la familia de las *Solanáceas*. (Haeff, 1992).

El origen del género *Lycopersicon* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos. Durante el siglo XVI se consumían tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, pero para entonces ya habían sido traídos a España y servían como alimento en España e Italia.

Agronómicamente se pueden distinguir dos tipos distintos, que son los determinados y los indeterminados. (Haeff, 1992).

La planta determinada es de tipo arbustivo, de porte bajo, pequeño y de producción precoz., se caracteriza por la formación de las inflorescencias en el extremo del ápice.

El tomate de tipo indeterminado crece hasta alturas de dos metros y el crecimiento vegetativo es continuo. (Haeff, 1992).

La hoja es compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. (CATIE, 1990).

El tallo principal es un eje con un grosor que oscila entre 2-4 cm. en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios (ramificación simpoidal) e inflorescencias. (CATIE, 1990).

La raíz principal es corta y débil, las raíces secundarias son numerosas y potentes, además posee raíces adventicias. Seccionando transversalmente la raíz principal. (CATIE, 1990).

La flor es perfecta, regular e hipogina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal a intervalos de 135°, de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racemoso (dicasio), generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate; es frecuente que el eje principal de la inflorescencia se ramifique por debajo de la primera flor formada dando lugar a una inflorescencia compuesta, de forma que se han descrito algunas con más de 300 flores. La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. (CATIE, 1990).

El fruto es una baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. (CATIE, 1990).

La semilla posee forma plana y ovalada. La cáscara posee vellosidades. La semilla mide entre 1 y 5 mm según la variedad y grado de desecado y esta rodeada por una capa mucilaginosa. (Haeff, 1992).

## 2. MANEJO DEL CULTIVO A NIVEL DE INVERNADERO

### 2.1 SEMILLEROS

Los semilleros proporcionan las mejores condiciones para la germinación y las primeras etapas de desarrollo vegetativo del tomate. El éxito del cultivo depende gran parte de la aptitud de las plántulas para el transplante y, por consiguiente de la calidad de los semilleros.

Estos deben ubicarse en un lugar que facilite su control, provistos con suficiente agua, buen drenaje, tierra con buena textura, con bastante porosidad. Es necesario desinfectar la tierra del semillero, utilizando métodos físicos o químicos dependiendo el volumen a desinfectar.

Para la construcción de semilleros, se necesita proveer de techo los primeros días a las plántulas, para evitar excesos de agua o de luz del sol.

Las eras poseen una dimensión de 1 x 10 m<sup>2</sup> ya que esto permite realizar el deshierbe y raleo.

Para cada semillero se aplica una carretillada de estiércol o materia orgánica para mejorar la estructura. (Haeff, 1992).

Últimamente se ha difundido mucho la utilización de bandejas, como sustitución de la construcción de semilleros, el sustrato que se utiliza puede ser uno preparado de enraizamiento, o bien el que se encuentre al alcance del agricultor.

Actualmente muchos agricultores utilizan las bandejas por las ventajas que proporcionan, espacio, la comodidad y facilidad de manejo.

#### 2.1.1 FERTILIZACION

La fertilización en la etapa de semillero depende mucho del manejo. Van Haeff (1992) recomienda que por cada 10 m<sup>2</sup> de semillero se aplique 2 Kg. de Formula Triple quince y 2 Kg. de un fertilizante compuesto, como la formula 12-24-12, los cuales deben ir incorporados en los primeros 10 cm. de cada superficie.

Ascencio 2003, recomienda diluir 10 gr. de Formula triple quince por cada 100cc de agua y rosear la solución a cada plántula a los 10 días después de la siembra y a los 22 días. Además agrega que en muchos viveros realizan la aplicación de fertilizantes foliares con el fin de proporcionar mayor firmeza a y vigor a las plantas.

#### 2.1.2 RIEGO



Aunque ciertas variedades de tomate resisten bien a la sequía, es preciso suministrar suficiente agua, especialmente en la etapa de semillero. Van Haeff, (1992) menciona que el riego mediante una aspersión en gota fina durante tiempos calurosos, puede bajar la temperatura de la planta en más de 5°C,

En invernadero los niveles de temperatura aumentan por lo que se recomienda regar una vez al día, mediante una aspersión en gota fina.

En la etapa de semillero si es una era deberá regarse una vez al día pero si se trata de bandejas y con sustrato de enraizamiento deber regarse tres veces al día. Cuando el sustrato que contiene la bandeja es una mezcla de sustrato de enraizamiento y tierra puede regarse solamente dos veces al día. (Ascencio, 2003).

### 3. CONTROL CLIMATICO EN INVERNADEROS

El cultivo bajo invernadero siempre ha permitido obtener producciones de calidad y mayores rendimientos, en cualquier momento del año, a la vez que permiten alargar el ciclo del cultivo, permitiendo producir en las épocas del año más difíciles y obteniéndose mejores resultados.

El desarrollo de los cultivos está condicionado por cuatro factores ambientales o Climáticos:

Temperatura, humedad relativa, luz y CO<sub>2</sub>. Para que las plantas puedan realizar sus funciones es necesaria la conjunción de estos factores dentro de unos límites mínimos y máximos, fuera de los cuales las plantas cesan su metabolismo, pudiendo llegar a la muerte.

#### 3.1 Temperatura

Para el manejo de la temperatura es importante conocer las necesidades y limitaciones de la especie cultivada. La temperatura es el parámetro que influye en el

crecimiento y desarrollo de las plantas. Según FINTRAC-IDEA la temperatura ideal interna es entre 28°-30°C.

### 3.2 Humedad Relativa

La humedad relativa es la cantidad de agua contenida en el aire, en relación con la máxima que sería capaz de contener a la misma temperatura.

Cada especie tiene una humedad ambiental idónea para vegetar en perfectas condiciones, siendo para el cultivo del tomate una humedad relativa de 50-60%.

Cuando la HR es excesiva las plantas reducen la transpiración y disminuyen su crecimiento, se producen abortos florales, y si es muy baja las plantas transpiran en exceso pudiendo deshidratarse, además de los comunes problemas de mal de cuaje.

## **B. ENFERMEDADES BACTERIALES EN EL CULTIVO DEL TOMATE**

### 1. MARCHITEZ BACTERIANA. *Burkholderia solanacearum*

Esta enfermedad se observa en las zonas de producción de tomate, presentándose en los trópicos y en climas calurosos de todo el mundo (Saballos, 1982), afectando a cultivos como: **tomate**, patatas, berenjena, pimiento, cacahuete, banana, tabaco, entre otros.

Según Messiaen y Lafón (1968), la primera aparición de la enfermedad parece ser que se hizo en 1882 en **tomate**.

La marchites en tomate ha adquirido diversos nombres como: bacteriosis, malla, dormilona, bacteria wilt, además de podredumbre parda de la patata, marchitamiento bacteriano del sur, etc.



Fig. 1 Marchitez bacteriana

Fuente: CENTA, 2002

### 1.1 Características Morfológicas de *Burkholderia*

Se presenta en forma de bastones ó varitas rectas ó curvadas, con 0.5 a 1 por 1.5 a 4 um.

Se desplazan por medio de uno ó muchos flagelos polares. (Agrios, 1991).

Las colonias en agar son pequeñas, irregularmente redondas, lisas, de un húmedo brillante, volviéndose pardas por la formación de un pigmento oscuro soluble en el agua. (Messiaen y Lafón, 1968).

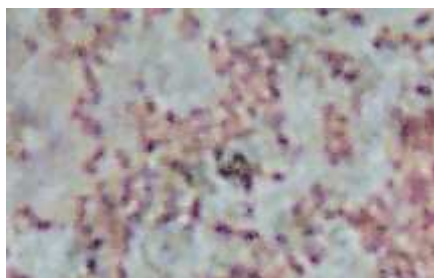


Fig.2 Agente causal de marchitez bacteriana (*Burkholderia solanacearum*)

## Clasificación Taxonómica

Clase:	Schyzomycetes
Orden:	Pseudomonadales
Familia:	Pseudomonadaceae
Género:	<b><i>Burkholderia</i></b>
Especie:	<b><i>solanacearum</i></b>
Sinónimos:	<b><i>Pseudomonas solanacearum</i>, <i>Ralstonia solanacearum</i></b>

Fuente: Martínez, 1999; Betancourt, 2003.

## 1.2 Epidemiología:

### 1.2.1 Sintomatología

Los síntomas que causa ***Burkholderia solanacearum*** en cultivos de solanáceas se manifiestan en una marchitez bastante súbita e imprevista, en donde las plantas jóvenes infectadas mueren rápidamente y las mayores pueden mostrar primero hojas decaídas, hojas descoloridas, o de un lado marchito antes de que la planta se marchite completamente y muera (Saballos, 1982). El marchitamiento y muerte de hojas van rara vez acompañados de la clorosis, pero provoca que las hojas se enrollen hacia el haz, y también provoca un acaparamiento de la planta (Martínez 1999).

La bacteria produce unas enzimas que degradan los componentes de las paredes del xilema y que provocan la obstrucción de los vasos conductores y con ello, la conducción del agua, ocasionando la marchitez de las plantas y su muerte. La marchitez no se presenta acompañada de amarillamientos, (Acuña, 1976; Betancourt 2003).

En algunos casos, como el tomate, puede ocurrir un desarrollo excesivo de raíces alimenticias. El tejido vascular del tallo, raíces o tubérculos se vuelve café y en una sección cortada se puede observar un blancuzco exudado bacterial.

Los depósitos de bacterias están comúnmente presentes alrededor del envoltorio vascular de la médula o parte principal y en la cabeza; las raíces a menudo se pudren y se desintegran en el tiempo en donde la planta se marchita completamente, (Saballos, 1982).

En la médula se puede formar una podredumbre parda, pero en los folíolos y frutos no se presenta moteado. (Messiaen y Lafón, 1968).

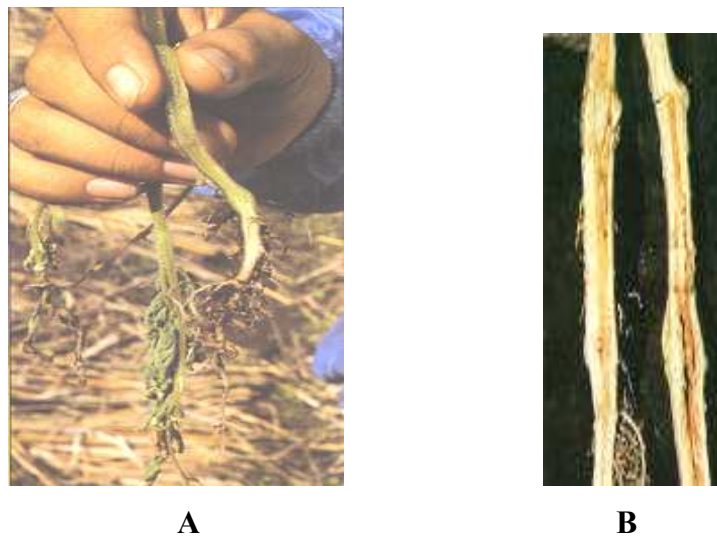


Fig.3 Daños de *Burkholderia solanacearum* .A daño en las raíces de plantas de tomate

**B.** Daño al tallo en tomate.

### 1.2.2 Diseminación y Sobre vivencia.

Esta bacteria puede sobrevivir en el suelo por muchos años y en hospederos silvestre, como *Amaranthus*, *Commelina* y *Ageratum*. (Betancourt, 2003).

Invade las plantas generalmente por debajo del nivel del suelo y su penetración está asociada al daño hecho a las raíces durante el trasplante, malezas y nemátodos.

Las bacterias son desimanadas por el agua lluvia, semillas, riego, equipo de labranza, o por insectos, tutores, heridas causadas al momento de realizar las actividades del cultivo, arrastre de tierra, entre otros. (Saballos, 1982; CENTA, 2002).

### 1.2.3 Ciclo de la enfermedad

*Burkholderia solanacearum* es un habitante del suelo, persistiendo durante varios años. Invade la planta penetrando por las heridas, casi siempre hipogreas. El organismo emigra primero a los grandes vasos del xilema y en los tallos suculentos progresa por los espacios intercelulares de la corteza y de la médula, produciendo cavidades lisígenas.

La respuesta fisiológica del huésped varía con el grado de infección. La invasión de un solo haz lateral en el pecíolo de un tomate produce decaimiento (epinastia), mientras la invasión de todos los haces produce el marchitamiento.

Cuando resultan invadidos los haces del tomate se presenta una tendencia a formar raíces adventicias que se desarrollan en el tejido, precisamente en la parte exterior del haz invadido. El marchitamiento, según se cree, es debido a obturación mecánica gradual de los vasos del xilema, produciendo el patógeno, materias tóxicas. (Messiaen y Lafón, 1968).

### 1.2.4 Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad

En las zonas de producción de tomate que presentan condiciones alternas de altas temperaturas y humedad relativa alta (mayores de 60%) suelos con deficiente drenaje y ph bajo, favorecen el desarrollo de este patógeno (CENTA, 2002), además les favorecen la deficiencia de nitrógeno y potasio (Martínez, 1999).

*Burkholderia solanacearum* son bacterias que se vuelven más activas a temperaturas que oscilan entre 30° a 35°C. (Betancourt, 2003).

## 2. METODOS DE CONTROL DE ENFERMEDADES

Un control de las enfermedades exige la utilización de medidas múltiples e implica un programa de control integrado, que abarque más de un método disponible para

conseguir no sólo un mejor control sino que asegure que los procesos utilizados no afecten desfavorablemente al medio ambiente (NAS 1992; French 1982).

Consistiendo de esta manera el control de las enfermedades en la prevención del mal ó en la reducción de la incidencia ó gravedad de la enfermedad y teniendo como mayor medida a las poblaciones que las plantas individuales. (NAS ,1992).

Agrios (2001), destaca que es de gran utilidad el estudio de los síntomas, las causas y los mecanismos del desarrollo de las enfermedades, debido a que permite diseñar un adecuado método para combatir las enfermedades; estos métodos varían considerablemente de una enfermedad a otra, dependiendo del tipo de patógeno, del hospedante y de la interacción que se establece entre los dos. En cambio French Y Hebert (1982), mencionan siete factores que son útiles para desarrollar métodos adecuados de control, siendo estos:

- 1- Sobre vivencia del patógeno en el suelo, en desechos, malas hierbas y vectores.
- 2- Capacidad de multiplicación saprofítica ó sobre el hospedante.
- 3- Diseminación de los propágulos y sus vectores.
- 4- Condiciones ecológicas favorables para su desarrollo.
- 5- Variabilidad del patógeno que le permitiría vencer la resistencia del hospedante.
- 6- Grado y tipo de resistencia del hospedante.
- 7- Gama de hospedantes y hospedantes alternos.

Algunos autores como Agrios (2001), dan a los distintos métodos de control, una clasificación como:

- a) Medidas Reguladoras de Control que ayudan a eliminar los patógenos de sus hospedantes ó de cierta área geográfica.

- b) Prácticas Culturales evitan que las plantas entren en contacto con el patógeno, reduciendo de esta forma la abundancia de éste en las plantas, en un campo ó un área geográfica.
- c) Métodos de Control Biológico y algunos métodos culturales que ayudan a mejorar la resistencia del hospedante ó favorecen el crecimiento de microorganismos que son antagonistas del patógeno.
- d) Métodos de Control Físicos Y Químicos, protegen a las plantas contra el inóculo del patógeno y curan alguna infección que ya está en desarrollo.

En cambio otros autores como Hebert (1982) los presentan bajo categorías de control por prácticas culturales, control químico, resistencia del hospedante, control biológico y control legislativo o reglamentado.

## 2.1 CONTROL DE LAS ENFERMEDADES BACTERIANAS DE LAS PLANTAS.

Para el control de éstas enfermedades es de importancia tomar en cuenta algunos aspectos tomados anteriormente como: un conocimiento de la biología del patógeno, dónde vive, cómo se desplaza y cuáles son las circunstancias que favorecen ó dificultan su existencia. (Noval y Castro, 1987).

Como una forma eficaz para combatir las enfermedades parasitarias producidas por hongos ó bacterias, Messiane Y Lafon 1968, presentan tres formas distintas de combate:

- ▶ Utilizando productos que son al mismo tiempo venenosos para el parásito e inofensivos para la planta y el consumidor.
- ▶ Modificando las prácticas culturales, de tal forma que el nuevo sistema de cultivo sea desfavorable al parásito.
- ▶ Introduciendo por hibridación y selección, factores de resistencia hereditarios (genes de resistencia) en las variedades de plantas cultivadas.



CUADRO 1. ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS OCASIONADAS POR BACTERIAS. GENERO DE BACTERIAS Y LA CLASE DE SINTOMA QUE CAUSAN.

<i>Agrobacterium</i>	Tumores ó agallas en donde el patógeno penetra por heridas e incita un proceso de división celular acelerado, que formará el tumor.
<i>Clavibacter</i> ( <i>Corybacterium</i> )	Cancros generalmente sobre la corteza y llegan hasta el xilema, tomando la apariencia de úlceras. La bacteria destruye las porciones dejando cavidades, generalmente llenas de líquido y se observan en cortes de tejidos.
<i>Erwinia</i>	Pudriciones suaves ó blandas, que se originan por efecto de las enzimas que desintegran la lámina media, produciéndose liberación de agua contenida en las células.
<b>Burkholderia</b>	<b>Manchas foliares, tizones con quema de hojas, marchitamientos en donde la bacteria ataca el sistema vascular de la planta por medio de enzimas, toxinas bloqueando los vasos alterando la transpiración, provocando el marchitamiento.</b>
<i>Xanthomonas</i>	Manchas foliares en donde la bacteria invade los espacios intercelulares produciendo manchas oscuras, tizones que producen muerte de hojas y brotes tiernos
<i>Streptomyces</i>	Sarna de la papa, Pudrición del camote.
<i>Xilella</i>	Marchitamientos, tizones que afectan las hojas y brotes tiernos matándolos.

FUENTE: Comité Internacional de Taxonomía de Bacterias (1980).

Saballos 1982, presenta a las prácticas sanitarias como una parte muy importante dentro del combate dirigido a: reducir el inóculo en los campos ya sea por secado ó quemado de secciones ó plantas infectadas, reducir la diseminación de las bacterias de una a otra planta a través de la descontaminación de herramientas después de manipular plantas enfermas.

Además sugiere que las variedades resistentes suplementadas con prácticas culturales (fertilización, riego, rotación de cultivos, etc.) y las aplicaciones químicas son las más efectivas medidas de control para las enfermedades bacterianas.

En la actualidad debido a las enfermedades que atacan a diversos cultivos como:

Tomate, papa, berenjena, (marchites bacteriana) Saballos, 1982; Walker, 1959; Frijol (mal del talluelo, tizones) Hernández y Serrano (1996); DISAGRO (2003); maíz (roya) Van Der Plank, 1968 citado por Bustamante *et al* 2000; crucíferas (pudriciones negras) Saballos (1982); algunos frutales como los cítricos (chancros) y plantas ornamentales (tizones), Agrios (1991), se han implementado toda clase de métodos de control.

En tomate se tienen algunos métodos de control para la enfermedad **marchitamiento bacteriano del sur** causado por *Burkholderia solanacearum*, en los cuales debido a la amplia lista de huéspedes de este organismo la rotación no tiene valioso éxito, aunque Thorold citado por Walker (1959) observó que en Trinidad puede ser útil intercalar entre las cosechas susceptibles algunas plantas de colliflor.

Además se tiene el desarrollo de variedades resistentes que con el paso del tiempo está teniendo más atención, así por ejemplo en Indonesia se han obtenido algunos éxitos injertando tomates en pies de *Solanum torrum*, que es altamente resistente a la enfermedad. (Kartans y Thung, citado por Walker, 1959).

## 2.2 CONTROL QUIMICO

Como una forma de controlar las enfermedades en las plantas se tiene el uso de sustancias químicas, naturales ó sintéticas, siendo el químico el único medio posible para atacar el problema de las enfermedades. (NAS, 1992).

El control químico estuvo algún tiempo dirigido al control de hongos, por lo que comúnmente se utiliza el término fungicida para referirse a los productos químicos que controlan las enfermedades de las plantas. (French, 1982).

El principio por el cual se basan los métodos de control químico es la protección, ya sea ésta directamente a la superficie de las plantas ó bien para erradicar un patógeno que ya ha infectado la planta. Sin embargo, el objetivo de algunos tratamientos químicos es reducir la cantidad de inóculo antes que entre en contacto con la planta. Para esto los tratamientos incluyen: tratamientos del suelo (fumigación), desinfección de almacenes, control de los insectos vectores de los patógenos, aplicación a la semilla, a órganos aéreos. (French y Hebert, 1982; NAS, 1992; Agrios ,2001; Agrios ,1991).

Algunas sustancias químicas deben ser menos tóxicas a las planta cultivada que a los organismos que se pretende combatir, aunque muchos de los compuestos químicos tienen efectos genéticos adversos sobre los organismos inferiores y superiores, entre ellos el hombre.

Los compuestos químicos para controlar las enfermedades bacterianas en comparación con el control químico de las enfermedades fungosas, ha sido, mucho menos exitoso.

Los productos químicos se pueden aplicar en forma de aspersiones foliares, teniendo a los compuestos de cobre que dan buenos resultados, pero no resultan como un control satisfactorio de la enfermedad, sobre todo cuando las condiciones ambientales favorecen el desarrollo y la propagación del patógeno.

Cabe mencionar dentro de los productos a los antibióticos que se han utilizado en los últimos años para combatir algunas enfermedades bacterianas y cuyos resultados han sido alentadores, siendo absorbidos por la planta y distribuida sistémica mente. (Agrios, 2001).

Para que resulten eficaces en la prevención de la penetración de las plantas huéspedes susceptibles, los fungicidas y bactericidas deben estar sobre la planta antes de que llegue el inóculo.

Para el cultivo del tomate que es muy susceptible al ataque por patógenos que afectan el follaje, fruto y otras partes de la planta, se recomienda tener un control químico desde el semillero efectuando aplicaciones al suelo, en campo se recomienda aplicaciones por semana (DISAGRO,2003) ó aplicaciones químicas 15 y 30 días después de la siembra. (Betancourt, 2003).

### 2.3 CONTROL BIOLÓGICO

Entenderemos como control biológico el involucramiento de prácticas que llevan a reducir la incidencia de indeseables, excluyendo al control químico (French y Hebert ,1982), y que implica como lo define DeBach (1964) “la acción de parásitos, predadores ó patógenos que mantienen la densidad de la población de un organismo plaga en un promedio menor del que ocurriría en su ausencia”.

Este tipo de control biológico en donde hay una destrucción total ó parcial de poblaciones de patógenos por otros organismos, frecuentemente ocurre en la naturaleza, de tal forma que contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos (Agrios, 2001).

Debido a las muchas restricciones en el uso de productos químicos y al aumento en la demanda de productos orgánicos, crece el interés por el uso de microorganismos benéficos como una alternativa en el manejo integrado para el caso de patógenos de importancia económica. (Bustamante *et al*, 2000).

En el control biológico de patógenos, es de importancia hacer mención que los suelos para diferentes cultivos pueden mantener la existencia y el crecimiento de diferentes clases de microorganismos (Hernández y Serrano, 1996), denominándose así:

-Suelos supresivos que reducen las actividades del patógeno al mínimo y  
-Suelos conductivos en donde el microorganismo plaga tiene todas las ventajas para atacar la planta (Chet y Baker 1980, citado por Bustamante; Agrios, 2001).

Actualmente se abre camino mediante el control biológico al uso de bacterias, hongos y razas atenuadas de virus de uso en diferentes tipos de compost enriquecidos, tratamientos de semillas ó protección cuando se injerta.

Estos agentes de control se destacan por la característica de ejercer una multiplicidad de modos de acción para controlar el desarrollo de patógenos. Siendo éstos: antibiosis, competencia por espacio ó por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (mico parasitismo, lisis enzimática e inducción de resistencia).

Como resultado de este control biológico a través de los años, se tiene el manejo de muchas enfermedades, siendo en 1972 que New y Ken introdujeron el primer método de control biológico (con fines comerciales) de una enfermedad bacteriana de las plantas (agalla de la corona) mediante el uso de otra bacteria. (Agrios, 2001).

Además a partir de investigaciones realizadas desde 1994, el IMIZA y el JICA, detectaron varias especies de microorganismos antagónicos que pueden ser usados como agentes de biocontrol, siendo: bacterias (*Pseudomonas fluorescen*, *Bacillus sp*) además hongos del género *Trichoderma sp*.

Tomaremos para el caso dos de los géneros anteriormente mencionados: *Bacillus sp* entre ellas especie *subtilis* probada para combatir la podredumbre de las raíces en maní, trigo, algodónero y cebolla; los cuales muestran efectos antagónicos contra patógenos como *Rhizotocnia solani*, *Sclerotium sp* en suelo en plantas de tomate, *Fusarium oxysporum var.phaseoli* en frijol, además de controlar tizón en plántulas de maíz por *Fusarium roseaum*.

*Trichoderma sp* el cual manifiesta efectos contra patógenos como *Rhizoctonia solani* tanto *in Vitro* e invernáculo en cultivos agrícolas, hortícolas, igualmente lo hace hacia *Phytophthora cinnamomi* en aguacate. (Cundor *et al* ,2003; Hernández y Serrano, 1996; Lara, 1993; Solano, 1991).

### 2.3.1 *Bacillus subtilis*

Como parte del grupo de las bacterias, su forma es de bastones ó varitas rectas (Saballos, 1982) produce esporas ovales ó cilíndricas, es una bacteria grampositiva, además son fermentativas, usualmente hidrolizan caseína y almidón (REDPAPA, 2003).

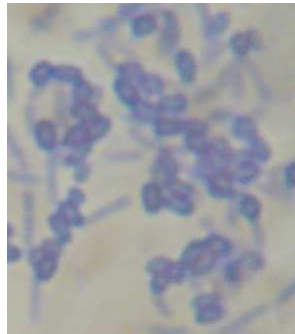


Fig.4 Estructura de *B.subtilis*, tomado en el microscopio con objetivo 40x, por las estudiantes de la investigación, 2003.

La mayoría de estas bacterias grampositivas producen antibióticos como mecanismo de control de la enfermedad, pero es necesario conocer las interacciones para conocer sus mecanismos de acción y diseñar nuevos productos de biocontrol de patógenos en la agricultura. (De Felipe, 2003).

El potencial y uso comercial de cepas de género *Bacillus sp* en el control biológico es conocido ampliamente, a través de estudios diversos, realizados con *Bacillus subtilis* en la roya de frijol (Baker *et al*, 1983; citado por Bustamante). Así como también se han mostrado mediante pruebas *in Vitro* con *Bacillus subtilis* aisladas de arroz (Torres *et al*, 2001; citado por Fernández-Larrea, 2001), la capacidad de inhibir el crecimiento de

hongos fitopatógenos de suelo tales como: *Rhizoctonia solani*, así como también al agregar *Bacillus subtilis* en el suelo infestado por *Fusarium oxysporum var. phaseoli* la enfermedad se redujo en un 10%. (Hernández y Serrano, 1996)

Lara, citado por Hernández menciona que el tizón en plántulas de maíz ocasionado por *Fusarium roseum*, puede controlarse mezclando una suspensión de *Bacillus subtilis* con la semilla, obteniendo después de pruebas de invernadero buenos resultados.

Afirmando De Felipe (2003), que *Bacillus subtilis* es efectivo contra patógenos de *Fusarium* y *Rhizoctonia*.

Solano, 1991 en su ensayo de efecto antagónico de *Bacillus subtilis* contra hongos patógenos del suelo en plántulas de tomate causantes de la enfermedad mal del talluelo, concluyó que en las pruebas *in Vitro* *Rhizoctonia solani* fue completamente inhibido por *Bacillus subtilis*.

Castellanos *et al* (1995), evaluaron *Bacillus subtilis* para el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla, en combinación con fungicidas y mostrando éste un mejor control que los otros tratamientos.

*Bacillus subtilis* formulado como biopesticida, es una bacteria inocua para la planta, pero que mata agresivamente ó elimina a los patógenos más dañinos a la planta. (Sampson, 2003).

Uno de los usos de *Bacillus subtilis* como agente de control biológico es también mediante el tratamiento de semillas.

### 2.3.2 *Bacillus thuringiensis*

Es una bacteria que fue descrita en 1911 por Berliner en un aislamiento de un bacilo de larvas de la polilla en Alemania, sin embargo su descubrimiento data de 1901 por el japonés S.Ishiwata cuando aisló una bacteria como agente causante de una enfermedad en larvas de gusanos de seda.

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria grampositiva, con capacidad esporulante altamente emparentada con otras especies de *Bacillus*.

Se caracteriza por la producción de un cuerpo paraesporal (cristal) durante el proceso de esporulación.

El uso de formulados comerciales a base de *Bacillus thuringiensis* se remonta desde los años 30 en Europa, encontrándose actualmente en el mercado mundial más de 65 productos diferentes a base de *Bacillus thuringiensis*, los cuales se estima que para 1996 representaron alrededor de 204.8 millones de dólares, un poco más del 1% del mercado mundial de plaguicidas.

Los buenos resultados obtenidos con los productos a base de *Bacillus thuringiensis* como sistema de control biológico, ha incentivado el desarrollo a nivel tecnológico de nuevos sistemas de presentación de la endotoxina

*Bacillus thuringiensis* y *B. cereus* comparten las mismas características fenotípicas y bioquímicas, aunque por definición *B. thuringiensis* se caracteriza por la presencia de inclusiones cristalinas formada durante su esporulación.

Las formulaciones comerciales de *B.thuringiensis* pueden aplicarse al follaje, el suelo, el medio acuático o instalaciones de almacenamiento de alimentos. Tras aplicar una subespecie de *B.thuringiensis* a un ecosistema, las células vegetativas y las esporas pueden persistir en concentraciones gradualmente decrecientes durante semanas, meses o años como un componente de la microflora natural. (Herrero, 2001).

## HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

*B. thuringiensis* se encuentra distribuido ampliamente en todo el mundo, debido principalmente a su capacidad esporulante, lo que le confiere una elevada resistencia al calor y a la sequedad (Martin y Travers, 1989). Aunque se describía como una bacteria



del suelo, en la actualidad se ha observado además del suelo, en hojas vegetales, aguas y en insectos, el segundo hábitat donde más comúnmente se han aislado cepas de *B.thuringiensis* es en hojas vegetales y almacenes de grano. (Herrero, 2001).

#### 2.4 *Trichoderma sp*

Los hongos del género *Trichoderma sp* por su adaptabilidad y fácil manipulación ha permitido su uso en el control biológico, siendo considerado con algunos otros organismos (*Gliocladium sp*, hongos micorrízicos y rizobacterias benéficas) Fernández-Larrea (2001); como una fuente principal en el control biológico en la microbiota del suelo, según Bustamante (2000).

*Trichoderma sp* es un hongo que habita fundamentalmente en el suelo y puede actuar sobre diversos hongos fitopatógenos que causan graves enfermedades en los cultivos (ANAP, 1999) y debido a esto la composición de la microflora del suelo es hasta cierto punto determinante en el desarrollo del hongo patógeno introducido dentro del suelo. (Hernández y Serrano, 1996).

La capacidad antagonista de *Trichoderma sp* es altamente variable pues dentro de sus mecanismos de biocontrol están: mico parasitismo, competencia por los nutrientes en el exudado de las semillas y/o antibiosis y dependerá de la especificidad de la cepa aislada, además se le atribuye una acción hiperparasítica, por lo que son capaces de destruir las paredes celulares e interior de las células del hongo fitopatógeno, debido a su actividad enzimática, lo cual reduce su desarrollo y provoca su destrucción. (ANAP, 1999).

*Trichoderma sp* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas (estructuras de resistencia) y conidios (estructuras de esporulación), éstas son más activas contra

fitopatógenos en diferentes fases del ciclo de vida, desde la germinación de las esporas hasta la esporulación.

El parasitismo puede ocurrir mediante penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y desorganización del contenido celular.



Fig.5 Estructura del hongo *Trichoderma sp.*

La competencia por el espacio y los nutrimentos es más favorable, principalmente para los hongos que se desarrollan en la superficie de las hojas antes de efectuar la penetración, no actuando sobre aquellos que penetran rápidamente. (Bustamante, 2000).

Sus usos como biocontrolador han sido efectivos contra varios patógenos, entre ellos:

*Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotium rolfsii* y *Pythium sp*; en varios cultivos con resultados satisfactorios en campo, organopónicos e hidropónicos. (ANAP, 1999; Hernández y Serrano, 1996; Lara, 1993).

Además en países como Cuba se elaboran los productos biológicos a partir de diferentes cepas de *Trichoderma sp*, en promedio 250 TN/año, y que permiten proteger más de 100,000 Ha de cultivos de importancia económica como: **tomate**, tabaco y el chile.

Varios autores señalan el incremento de peso de las plántulas que se desarrollan en presencia de este hongo, por ejemplo: el aumento en peso de plantas de frijol, del peso de los brotes de plántulas de trigo, incremento en la tasa de germinación y el peso seco

de brotes y guías de plantas de tomate, aumento del crecimiento del sistema radicular de plantas mejoradas de maíz dulce.

Pruebas realizadas en 1988 con *Trichoderma sp*, por el Departamento de Patología de la Universidad de Colorado, comprobaron el incremento del desarrollo de plantas de tomate, petunias, lechugas, crisantemos, col, pepino, zanahoria, frijoles, entre otras.

A pesar de ser un habitante natural del suelo, *Trichoderma sp* tiene la capacidad de sobrevivir en el filoplano y en el antoplano, según Nelson y Polwison, Kovach y Finkelstein.

El biocontrol es técnicamente factible para un amplio rango de enfermedades del follaje y frutos en varios sistemas de cultivo.

Lo *et al*, indican que la capacidad de sobrevivir en el filoplano es una característica deseable de las cepas utilizadas en el biocontrol de enfermedades foliares, por ejemplo: Migheli *et al*, citado por Lo *et al*, señalan que en el cultivo del tomate pueden sobrevivir dos semanas, refiriendo ésta supervivencia hasta la duración de las evaluaciones (28días) no se descartan que es posible que puedan persistir por un mayor tiempo.

## **C. METODOS ALTERNATIVOS**

### **1. FERTILIZACION**

Se define como la adición de macro y micro nutrientes contenidos en formulaciones químicas a las plantas en el momento oportuno (CENTA, 2002), con el fin de suplir las deficiencias nutricionales cuando se detectan en análisis de suelo y foliar.

Aunque no todos los cultivos tienen los mismos requerimientos en lo que a extracción de nutrientes se refiere, se ha establecido que para un desarrollo normal de plantas cultivadas y la obtención de buenas cosechas, es necesario el suministro de 16 elementos, considerados como esenciales en el desempeño de tales funciones.

Estos elementos principales se les clasifican en tres grupos, siendo:

-Elementos Mayores: Nitrógeno, Fósforo, Potasio

-Elementos Secundarios: Calcio, Magnesio, Azufre.

-Elementos Menores: Boro, Cobre, Hierro, Manganeso, Molibdeno, Zinc (FERTICA, 2003).

Radizando la importancia de éstos en el grado de extracción que la planta hace de ellos.

Además es necesario un balance en el suelo entre sus diferentes elementos, como tan perjudicial es para el cultivo la carencia de determinado elemento, como un exceso del mismo.

#### CUADRO 2. RESUMEN DE LAS FUNCIONES DE ALGUNOS ELEMENTOS EN LAS PLANTAS.

ELEMENTO	FUNCIONES
Nitrógeno (N)	Mejor conocido por construir proteínas y conforme el nitrógeno aplicado aumenta hasta lo óptimo, la concentración de la mayoría de los otros minerales en la planta también aumenta.
Fósforo (P)	Aumenta el contenido de fitatos de los granos. La fitina es una forma de almacenamiento orgánico de importantes minerales de la dieta como: calcio, zinc y hierro.
Potasio (K)	Aumenta el licopeno del tomate y la vitamina C en muchas frutas y hortalizas
Magnesio (Mg)	Funciona como átomo central de la clorofila, una molécula orgánica que recolecta energía solar. Tanto el magnesio como el calcio están ligados en un pectato orgánico que refuerza las paredes de las células de la planta.
Azufre	Forma parte de dos importantes aminoácidos, cisterna y metionina. Influye en el tipo de proteínas que se forman en

	la calidad panificable del trigo.
Cloruro	Permanece en su mayor parte como anión libre en la planta, suprime muchas enfermedades y promueve una mejor calidad de la cosecha, y frecuentemente aumenta el peso del grano de los cereales.
Manganeso, Cobre, Hierro y zinc	Apoyan la actividad de las enzimas, moléculas orgánicas que catalizan las síntesis de muchas sustancias fotoquímicas singulares y esenciales

Fuente: Bruulsema, (2001)

Dentro de las interacciones más importantes en la producción agrícola, tenemos aquella que se da entre los nutrientes y los factores bióticos (enfermedades, malas hierbas e insectos), pudiendo ésta limitar en determinado momento el desarrollo de la planta, presentando un riesgo para operaciones de cultivo. (Orellana, 2002).

La nutrición influye sobre la velocidad de crecimiento y la rapidez de las plantas para defenderse del ataque por los patógenos. (Bayercropscience, 2003).

Sin embargo una fertilización excesiva puede llegar a producir un crecimiento joven y condiciones ambientales propicias para ciertos agentes causales de enfermedades.

La fertilización nitrogenada incrementa la susceptibilidad de plantas Solanáceas, como la papa (*Solanum tuberosum*) a la marchitez ocasionada por *Burkholderia solanacearum*. Aunque existe la posibilidad de que la forma de Nitrógeno (amonio ó nitrato) de que dispone el hospedero ó el patógeno lo que en realidad afecte la severidad de la enfermedad. (Agrios, 1991; NAS, 1992).

## 2. Enfermedades de las plantas.

En las plantas se reconocen dos causas de enfermedad: enfermedades carenciales, por difusión orgánica, y parasítica. El estado patológico determinado por la carencia de un mineral, depende del papel fisiológico que este juega en la planta.

Los patógenos pueden penetrar la planta y no causar ningún daño, debido a que su crecimiento puede ser limitado por la resistencia que la misma ejerce sobre el patógeno. Esta resistencia -definida como la habilidad de la planta para prevenir, restringir o retardar el desarrollo de una enfermedad- puede provenir a menudo de una inadecuada relación entre las características químicas de la planta y el patógeno, su estado nutricional, la presión osmótica, o el ph, pero mayormente tiene que ver con los factores nutricionales.

Las plantas bien fertilizadas producen nuevas raíces para reemplazar las destruidas por los patógenos, requiriendo de esta manera niveles adecuados de todos los nutrientes, pero especialmente del fósforo y potasio; pues al restringirse el crecimiento de ésta se reduce el desarrollo general de la planta y su rendimiento disminuye.

La adición de niveles adecuados de fertilizantes puede ayudar a la planta a compensar los estados de estrés causados por las enfermedades. (Orellana, 2002).

## 2.1 Mejoramiento de la nutrición y reducción de la actividad patogénica.

El mejoramiento de la nutrición de las plantas con el uso de fertilizantes y suplementos foliares estimulan el vigor de la planta; a la vez que pueden reducir la habilidad de los patógenos causantes de enfermedades, inhibiendo su crecimiento, penetración o actividades enzimáticas.

Los fertilizantes juegan un papel importante dentro de la reducción de las actividades virulentas, pues afectan la sobre vivencia de los patógenos en el suelo, modificando el ambiente físico y químico. En el caso de diferentes fuentes de nitrógeno afecta el ph y así el crecimiento de patógenos en el suelo.

Los fertilizantes pueden alterar también la composición y el ph de los exudados en la planta hospedera y esto de alguna manera afecta a los patógenos invasores.

No todas las enfermedades pueden ser totalmente eliminadas por un fertilizante, pero la severidad de la mayoría de las mismas se ve reducida por medio de una adecuada fertilización, además un desbalance nutricional puede favorecer en determinado momento el desarrollo de algunas enfermedades. (Sampson, 2003; Orellana, 2002).

### 3. USO DE BOCASHI.

Actualmente se presenta en el mundo una tendencia a la producción y consumo de productos alimenticios obtenidos de manera “limpia”, es decir sin el uso (o en una mínima proporción) de insecticidas, biocidas, fertilizantes sintéticos, químicos, etc.

La producción orgánica del tomate es una alternativa que beneficia tanto a productores como a consumidores, los primeros se ven beneficiados porque en sus tierras se reduce considerablemente la contaminación del suelo, del agua y del aire, lo que alarga la vida económica de los mismos y la rentabilidad de la propiedad. Los consumidores se ven beneficiados en el sentido que tienen la seguridad de consumir un producto 100% natural, libre de químicos, saludables y de alto valor nutritivo.

La utilización del abono orgánico fermentado (Bocashi) en la producción de hortalizas, ha despertado interés entre los agricultores, principalmente por los efectos negativos que ocasionan los productos químicos a la salud humana y el elevado costo de los insumos.

Hoy día, no existe una fórmula para preparar el abono orgánico fermentado, sólo existen principios básicos y una tecnología que los propios agricultores deben desarrollar utilizando una variedad de alternativas y manejo de los recursos naturales existentes en su medio.

Dentro de los principales ingredientes tenemos: estiércol de bovino seco o molido, tierra, paja de trigo bien picada, mazorca de maíz, ceniza de fogón, levadura, melaza, gallinaza, diferentes tipos de harinas, y otros con los que el agricultor puede contar.

El uso de este tipo de formulaciones tiene efectos positivos en el suelo, tales como : incremento en la actividad de la fauna del suelo, reducción de microorganismos patógenos (Bulluck *et al.* 2002, citado por Soto *et al.*, 2002) por lo que se considera como un método alternativo para el control de marchitez bacteriana en tomate, incremento en la densidad aparente, estabilización del pH, incremento de la capacidad de intercambio catiónico, disminución del lavado de nitratos (Stamatiadis *et al.* 1999 , Dixon y Walsh 1998, Ingham citado por Soto *et al.* 2002) y degradación de residuos de plaguicidas (Bloock 1998, Büyüksönmez, *et al.* 2000 citado por Soto 2002).

El uso de formulaciones como el Bocashi también tiene la desventaja de que el incremento en los contenidos de sales a niveles altos pueden afectar el crecimiento de cultivos sensibles y fitotoxicidades. (Soto *et al.* 2002)

En México se evaluó el efecto del uso de Bocashi en un almacigo de *Coffea arabica.* , y no hubo diferencias significativas para ninguna de las variables entre el uso únicamente de bocashi y el manejo convencional.

#### 4. RESISTENCIA SISTEMICA ADQUIRIDA (SAR)

Según Sermeño, *et al.* (2001) Este es un tipo de resistencia, la cual se desarrolla o activa cuando las plantas son dañadas por fitófagos, lo que provoca que se desencadene una serie de reacciones en las hojas.

Metcalf Luckermann, 1994 define la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) como un incremento cualitativo y cuantitativo de los mecanismos de defensa en las plantas contra las enfermedades en respuesta a estímulos físicos o químicos extrínsecos.



Aunque se desconoce el mecanismo que origina el fenómeno SAR, se podría definir en teoría como una expresión sistémica de una subsecuente acción de agentes de defensa.

La resistencia puede ser inducida por el tratamiento de plantas, con una variedad de patógenos de plantas y microorganismos no patogénicos. Otros inductores incluyen materiales derivados de plantas, químicos inorgánicos y químicos orgánicos.

La resistencia puede ser inducida en el follaje o sistémica mente dentro de las raíces en algunos casos. La resistencia sistémica es inducida por el tratamiento de semillas, raíces tallos, cotiledones o laminas foliares.

La resistencia local es inducida directamente por el tratamiento de los órganos de la planta a proteger. (Kuc y Stobel, 1992).

Tuzuc y Kuc, (1991), citados por Sermeño, (2001) mencionan que algunas de las ventajas de la inmunización de plantas son: la inmunización es efectiva contra enfermedades virales, bacterianas y fungosas, puede ser lograda por medio de agentes biológicos y químicos, es sistémica y puede durar toda la vida de la planta, es transmisible de raíces a yema o por vía del cultivo de tejidos en algunas especies.

Según Tuzun y Kuc, 1991; citado por Sermeño, (2001). La posible manipulación de estos mecanismos naturales en la practica del control de enfermedades puede ser muy provechosa, efectiva, persistente, económica y una alternativa mas segura de proteger las plantas contra virus, bacterias y hongos patógenos, bajo condiciones de invernadero y campo. Investigaciones en laboratorio alrededor del mundo han demostrado que la inmunización es viable, contra un amplio ámbito de patógenos foliares y patógenos radicales en aproximadamente 25 cultivos, incluyendo cereales, cucurbitáceas, leguminosas, solanáceas, árboles y pequeños frutales. Este tipo de protección puede variar entre las especies de plantas.

El fenómeno de Inducción de Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) puede ser inducido por diversas sustancias químicas. La lista de agentes que se proponen como inductores de resistencia Sistémica a fitopatógenos incluye varias sales inorgánicas como silicón, oxalatos, fosfatos y ácidos nucleicos y grasos no saturados, etc. En muchos casos, estos agentes, cuando son aplicados sobre las superficies foliares pueden ocasionar una necrosis local, probablemente debida a una vía dependiente del ácido salicílico, similar a la inducida por la infección de un patógeno. Con algunos de los agentes inductores, la protección observada puede no ser sistémica y confundirse con efectos antimicrobiales directos. (Kessmann *et al.*1994).

Según Tuzun y Kuc, 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 sistémicos 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.

Wincks *et al.*1991; citado por Sermeño (2002) manifiesta que la aplicación de ácido fosfórico ( $H_3PO_3$ ), a dosis de 1.2 g/L, después de la infección, reducen la incidencia y severidad de *Plasmopara viticola*.

La simple aspersión foliar de 0.1 m 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 mu. Los fosfatos fueron supresivos cuando se aplicaron solos. (Reuveni *et al.* 1995)

### 3) MATERIALES Y METODOS

#### 3.1) DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

El experimento se llevó a cabo en el Invernadero y Laboratorio de Investigación del Departamento de Protección Vegetal ubicado en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, localizándose geográficamente a 13°17'59"LN y 89°5'48" LW, a una altura de 700 metros sobre el nivel del mar.

#### 3.2) FASE PREVIA DE LABORATORIO

Para esta fase se realizó la recolección del material vegetal enfermo de tomate con *Burkholderia solanacearum*, procedente del Valle De Zapotitán, Departamento de la Libertad y del cual se tomó una parte del tallo cercana al área de las raíces de la planta, estos se colocaron en una hoja de papel toalla, dentro de una bolsa plástica, para trasladarlo al laboratorio de protección vegetal para su posterior cultivo.

Como una forma de comprobar la existencia de *Burkholderia solanacearum* en las plantas de tomate, se realizó una prueba a nivel de campo, en donde se hizo un corte transversal al tallo de una planta de tomate enferma, de manera que la porción obtenida se introdujo en una bolsa con agua manteniendo una inclinación hacia solo un lado, y pasados unos diez minutos se fue observando un hilo blanquecino correspondiente a los exudados que presenta la bacteria. CENTA (2002).



Fig.6 Prueba para detectar la bacteria *Burkholderia solanacearum*

### 3.3) FASE DE LABORATORIO

Siendo necesario para el desarrollo de esta investigación, se estableció la fase de laboratorio, pues es en esta fase en donde se obtuvo el material para inocular en las plantas ya establecidas de tomate en el invernadero, siendo este: bacterias del género *Bacillus subtilis*, el hongo *Trichoderma sp*, el aislamiento de *Burkholderia solanacearum*, así como la preparación de *Bacillus thuringiensis* Agree® 50WP comercial el cual a diferencia de los demás se aplicó tanto al suelo como a la parte foliar de la planta.

#### 3.3.1) AISLAMIENTO DEL PATÓGENO

Según Agrios, 1991 se hace necesario para aislar una bacteria ó patógeno de una planta enferma, llevar a cabo los siguientes pasos:

- 1- esterilización del material de cristalería, mediante el autoclave.
- 2- Preparación de las soluciones para tratar la superficie del tejido infectado, con el fin de eliminar ó reducir los contaminantes de superficie que pudieran interferir con el aislamiento del patógeno.

Dentro de los compuestos esterilizantes de superficie que mayormente se utilizan está el Hipoclorito de sodio al 5.75%, el cual limpia los tejidos

infectados ó para sumergir cortes de esos tejidos en dicha solución, además se usa como un limpiador de las mesas de trabajo antes de efectuar el aislamiento.

Para este caso el material enfermo consistió de unos trozos de tallo cortados a nivel de las raíces del tomate, infestado con *Burkholderia*, éstos fueron pequeños cortes del tejido y se colocaron en una solución al 10%, luego con pinzas estériles se colocaron los cortes a un papel filtro estéril para eliminar excesos de cloro, luego se trasladaron en las cajas de petri que contenían el medio de cultivo.

### 3- Preparación de medios de cultivo

Para el aislamiento de la bacteria el medio de cultivo utilizado fue el agar nutritivo, el cual contiene peptona, extracto de carne, siendo muy útil para este tipo de aislamiento. En el caso del medio de cultivo para el hongo el medio usado consistió de papa-dextrosa –agar (PDA), el cual es bueno para la mayoría de hongos.

Además se realizaron pruebas de acción antagónica *in Vitro* de: *B. subtilis*, *B.thuringiensis*, y el hongo *Trichoderma* después de 72 horas de sembrados, y con la solución KCL 0.1M sobre la *Burkholderia solanacearum* aislada y de los cuales se hicieron cinco repeticiones, sembrando en la mitad de la placa la bacteria antagónica y en la otra la bacteria patógena, con el objetivo de que la solución KCL 0.1M muestre inocuidad a dicha bacteria , como un requisito básico de un agente inductor de resistencia.

En las cinco placas de *B.subtilis* se observó un efecto diferente, pues cuatro placas mostraron interacción sobre *Burkholderia s.*, y en una placa apenas se acercó a la bacteria concluyendo que *in Vitro* si puede haber un efecto sobre la *B.solanacearum*.

Para la prueba de *B.thuringiensis* el efecto mostrado también fue diferente, pues en dos placas creció *B.thuringiensis* pero sin haber tenido contacto con la *Burkholderia s*, luego en las demás placas *Burkholderia* creció acercándose a *B.thuringiensis* manteniéndose casi relacionadas.

Para la prueba de *Trichoderma sp* en las cinco placas sembradas, se observó que el hongo no tuvo un efecto antagónico, pues el crecimiento que presentó no afectó a la *Burkholderia solanacearum*.

En las pruebas de la solución KCL 0.1M, ésta fue disuelta en el medio de cultivo en donde fue sembrada la bacteria, observándose que en las cinco placas hubo un crecimiento de colonias de *Burkholderia s*. pero fueron pequeñas y aisladas.

#### 3.4) FASE PREVIA DEL INVERNADERO.

También para tener un ambiente limpio de malezas, se realizó una poda del interior y exterior del invernadero, con el fin de evitar que éstas albergaran otro tipo de patógenos virulentos.

##### 3.4.1) Desinfección del suelo y llenado de bolsas

La desinfección es importante en esta fase para que las plántulas de tomate a transplantar no presentarán contaminación por algún contaminante del suelo, desarrollándose de la siguiente manera: en un área despejada del vivero se colocó la cantidad de suelo a ocupar, mezclándola con materia orgánica, luego a estos elementos se les adicionó de manera espolvoreada Basamid granulado , con el propósito de desinfectar el sustrato; dejando el sustrato cubierto de un plástico negro de manera que el efecto físico de la temperatura eliminará los microorganismos patógenos contenidos, permaneciendo tres semanas de esta manera y haciendo un volteo de éste al momento

de la mezcla , siete días después de establecido y luego otro al momento del llenado de las bolsas. Las bolsas tenían una dimensión de 9x12 pulgadas.

#### 3.4.1.1) Cuidado y manejo de las plántulas de tomate en bandejas.

Para el caso de las plántulas de tomate se obtuvo en bandejas una clase de híbrido conocido como Gen Price, con una adaptación a los 200 a 1,600 msnm ;el cual tenía 22 días de edad al ser transplantadas.

Como parte de su manejo se realizaron dos riegos al día.

Dicho híbrido tiene una cosecha a los 68-70 días después del transplante, además de poseer una forma redonda a cuadrado, crecimiento determinado, frutos de textura firme de buen color con un peso de 2.5 a 3.5 onzas.

#### 3.4.1.2) Transplante y manejo

Al tener las plantas listas de la etapa anterior se procedió a trasladar las plantas al invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas, en donde se transplantaron en las bolsas listas con el suelo preparado, luego a los 4 días de plantadas se colocaron unas estacas con medida de 60cms al lado de la planta, posteriormente se realizó la primera fertilización a los ocho días después del transplante utilizando 15 gramos de fórmula 15-15-15.

### **4) FASE DE INVERNADERO**

#### 4.1) Establecimiento de los tratamientos en el invernadero

Teniendo las plantas listas se procedió al establecimiento de los distintos tratamientos que consisten en:

##### 1- Tratamiento Bocashi:

Este tratamiento consistió en colocar el sustrato de bocashi en diez bolsas de 9x12 pulgadas, las cuales se ubicaron al azar y en donde se transplantaron las plantas de tomate procedentes de la bandeja.

Este se aplicó con el objeto de mejorar las condiciones de las plantas, además para que sirviera de alguna manera como un vehículo de control biológico de los patógenos presentes en la microflora. (Hoitink *et al* 1997, Hoitink y Boehm 1999, citado por Bustamante)

#### 2- Tratamiento de Fertilización:

En este caso se realizó una fertilización diferente a nueve bolsas que contenían plantas de tomate, la cual consistió en la aplicación de fórmula 16-20-0 a los nueve días después del trasplante, dicho fertilizante se recomienda para el inicio ó arranque del cultivo de tomate, por proveer fósforo que sirve para el crecimiento radicular, en la floración y en el desarrollo de meristemas. (FERTICA, 2003; AGROINFORMACION, 2003).Aplicándose una dosis de 15gr a cada una de las plantas, alrededor del tallo principal de forma que no existiera un contacto con éste.

#### 3-Tratamiento *Bacillus subtilis*:

Se procedió a la inoculación de la bacteria completamente desarrollada en Medio de cultivo en el laboratorio, con una edad de tres días de crecimiento, en nueve unidades experimentales, y la cual fue mezclada con el suelo tres días antes del trasplante de las plantas de tomate, colocándose a unos 2 cms de profundidad, realizando un riego en dichas bolsas para mantener la humedad que favorece el ambiente de la bacteria.

#### 4- Tratamiento *Trichoderma sp*:

Para este tratamiento se hizo una inoculación al suelo del hongo *Trichoderma sp* con todo y medio de cultivo en donde se encontraba y el cual se aplicó a nueve bolsas con plantas de tomate. Dicho tratamiento también fue colocado tres días antes del trasplante de las plantas de tomate.

#### 5- Tratamiento *Bacillus thuringiensis* al suelo



Este tratamiento consistió en una aplicación de una parte del cultivo de *B.thuringiensis* Agree® 50WP comercial al suelo, con una edad de tres días de crecimiento en el Laboratorio y se aplicó con tres días de anticipación al trasplante a nueve unidades experimentales ubicadas al azar.

#### 6- Tratamiento *Bacillus thuringiensis* foliar

Se procedió a hacer una preparación de esta bacteria *B.thuringiensis* Agree® 50WP comercial con tres días de crecimiento en el Laboratorio, de manera que se aplicó a la parte foliar en forma asperjada a nueve bolsas con las plantas de tomate, y al igual que los demás tratamientos con bacterias se realizó tres días antes del trasplante.

#### 7- Tratamiento **KCl 0.1M**

Este tratamiento consistió en la aplicación de una solución de cloruro de potasio 0.1 M a una hoja de tomate completamente desarrollada, tres días antes de inocular la bacteria *Burkholderia solanacearum*.

#### 8- Tratamiento Testigo

Para este tratamiento se contó un total de nueve plantas de tomate ubicadas al azar, y a las cuales no se les realizara ningún tipo de control de la enfermedad; regándolas diariamente hasta la finalización de la investigación.

#### 4.2) Diseño Estadístico.

En este experimento se utilizó el diseño estadístico completamente al azar con ocho tratamientos y nueve repeticiones. Cada repetición constó de nueve bolsas de polietileno cada una conteniendo una planta de tomate.

#### 4.3) Variables a Evaluar

Utilizando una hoja de datos, con la finalidad de llevar un control adecuado, se fueron recopilando las observaciones hechas a las plantas de tomate, realizando observaciones todos los días de la duración del proyecto y basándonos en una escala de la enfermedad formulada por Arteaga *et al*,2003 siendo ésta:

#### **RANGO DE DAÑOS**

- 0= Sin presencia de síntomas
- 1= Presencia de epinastia en hojas inferiores
- 2= Epinastia generalizada
- 3= Epinastia y pérdida de turgencia de las hojas
- 4= Decaimiento generalizado(marchites)
- 5= Muerte de la planta

Dentro de los aspectos evaluados están los siguientes:

- grado de la enfermedad: este factor se determinó tomando el promedio de grados por cada tratamiento y luego éste se dividió por el número de repeticiones hechas, las cuales fueron nueve.
- porcentaje de incidencia por tratamiento: este se determinó a través de una regla de tres simple para cada tratamiento, tomando el número de plantas sanas como el cien por ciento, para sacar por diferencia las plantas enfermas.

Plantas sanas ----- 100%

Plantas enfermas ----- X

- área bajo la curva de progreso de la enfermedad: para determinar el área bajo la curva se tomó como base el porcentaje de incidencia para cada tratamiento, y el tiempo de progreso de la enfermedad.

Quedando la fórmula de la siguiente manera:

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

En donde:

$Y_i$  = proporción de la enfermedad en el tiempo 1

$Y_{i+1}$  = proporción en el tiempo 2

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

## 5) DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Después de terminada la fase de invernadero y basándose en las observaciones realizadas diariamente a cada uno de los tratamientos, se obtuvieron los siguientes resultados:

### A) Incidencia (% de plantas enfermas):

Esta variable se comenzó a evaluar en el momento en que las plantas de los ocho tratamientos mostraron los primeros síntomas de Marchites Bacteriana causada por *Burkholderia solanacearum*, los cuales fueron evidentes en un cien por ciento a los nueve días después de inoculada la bacteria en el T1 (Bocashi), T2 (testigo), T4 (*Bacillus subtilis*), T5 (Trichoderma), T6 (*Bacillus thuringiensis* al suelo), T7 (*Bacillus thuringiensis* foliar), T8 (KCl 0.1M) y a los 13 días en el T3 (Fertilización).

Resultados similares fueron obtenidos por Alcalá *et al.* (1995), quienes colocaron una gota de una suspensión que contenía *Burkholderia* en la axila de la tercera hoja por debajo del ápice de la planta de tomate, papa y pimentón, inoculándose 15 plantas.

Según las observaciones realizadas los síntomas aparecieron 10 días después de inoculadas las plantas de tomate, y mostraron síntomas evidentes de marchites, los cuales comenzaron por la hoja inoculada y se extendían luego a toda la planta causando su muerte a los quince días aproximadamente.

Winstead y Kelman, 1952 al inocular mediante la punción al tallo plantas de tomate susceptibles de 4 a 5 semanas de edad, les permitió obtener colonias características de *Burkholderia solanacerum* en medio TZC de Kelman (1954), mientras que las plantas inoculadas con agua destilada estéril (testigo) no mostraron síntomas de marchites, ni presentaron infección latente con la bacteria al realizar su aislamiento en el mismo medio.

Tomando en cuenta lo anterior se atribuye la incidencia en todos los tratamientos a la inoculación de la bacteria.

Sin embargo los resultados del Análisis de Varianza correspondientes a la incidencia (% de plantas enfermas) de los ocho tratamientos, demuestran que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados en la variable incidencia, esto significa que las medias de los tratamientos no se comportan igual.

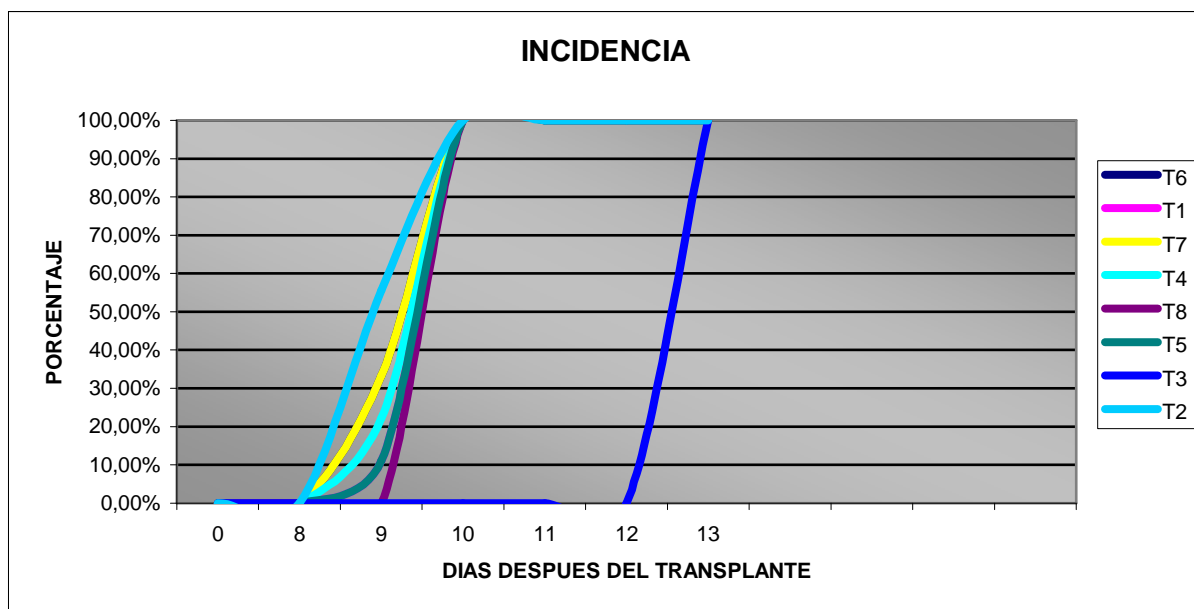
CUADRO 3. Resultados obtenidos para los datos de incidencia de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.

Tratamiento	Prueba de Duncan *
T1 (Bocashi)	a
T2 (Testigo)	a
T7 ( <i>B.thuringiensis</i> foliar)	a
T4 ( <i>B.subtillis</i> )	a
T5 ( <i>Trichoderma sp</i> )	a
T6 ( <i>B.thuringiensis</i> al suelo)	a

T8 (KCl 0.1M)	a
T3 (Fertilización)	b

\* Tratamientos con igual letra, mostraron resultados estadísticamente similares.

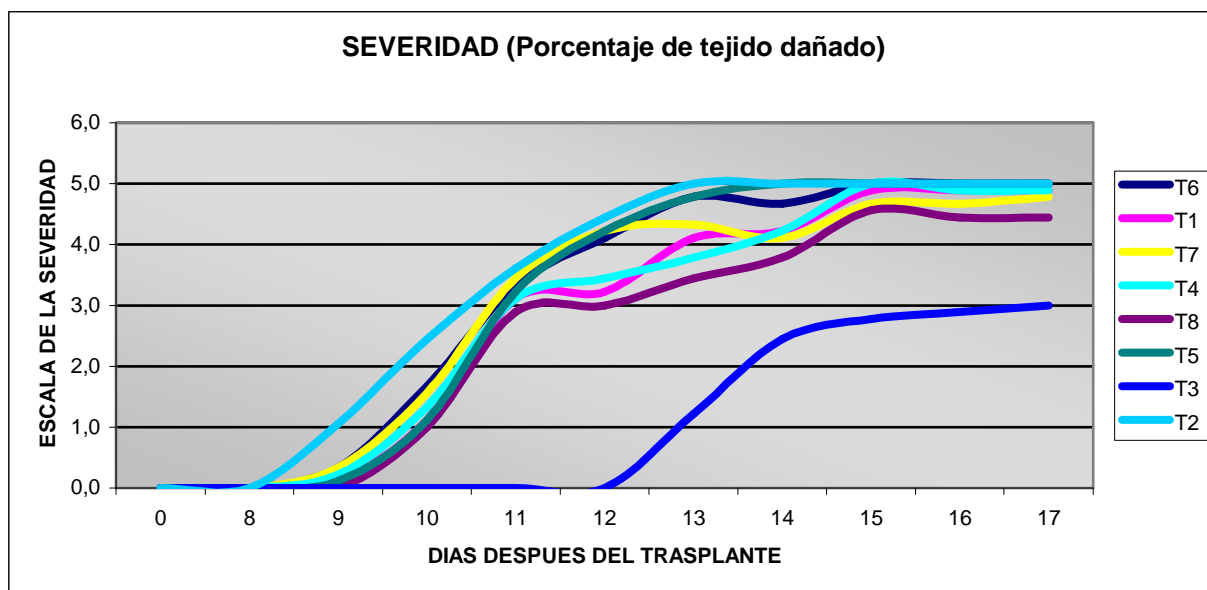
Al analizar los datos del cuadro 1 se puede observar que el T3 (Fertilización) resulto mejor que el resto de los tratamientos ya que este no mostró incidencia hasta los cuatro días después que los demás tratamientos. Este mismo comportamiento puede observarse en la gráfica 1:



Fuente: Datos tomados a diario a lo largo del ensayo (Noviembre-Diciembre, 2003).

### B) Severidad (% de tejido dañado):

De acuerdo a la escala de severidad de Rivas y Arteaga (2003), la presencia de epinastia en hojas (grado 1) se comenzó a observar a partir de el noveno día después de inoculada la *Burkholderia s* en el T2 (testigo), a los 10 días en T1 (bocashi), T4 (*B.subtilis*), T5 (*Trichoderma sp*), T6 (*B.thuringiensis* al suelo), T7 (*B.thuringiensis* foliar), T8 (KCl 0.1M) y a los 13 días en T3 (fertilización) (gráfico 2).



Fuente: Datos tomados a diario a lo largo del ensayo (Noviembre-Diciembre, 2003).

La muerte de las plantas (grado 5) ocurrió a los 13 días después de inoculada la *Burkholderia*, excepto las plantas del T3 (fertilización) las cuales murieron 17 días después de inoculado el patógeno.

El Análisis de varianza de la severidad (% de tejido dañado) reflejó que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos.

CUADRO 4. Resultados obtenidos para los datos de severidad de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.

Tratamiento	Prueba de Duncan *
T2 (testigo)	a
T7 ( <i>B.thuringiensis</i> foliar)	a
T6( <i>B.thuringiensis</i> al suelo)	b
T4 ( <i>B.subtillis</i> )	b
T1 (bocashi)	c
T5 ( <i>Trichoderma</i> sp)	c
T8 (KCl 0.1M)	c

T3 (fertilización)	d
--------------------	---

\* Tratamientos con igual letra, mostraron resultados estadísticamente similares

Los datos obtenidos de la prueba de Duncan nos indican que el T3 (fertilización) mostró mejores resultados en el manejo de la severidad en las plantas, seguido del T8 (KCl 0.1M), T5 (*Trichoderma sp*) y T1 (bocashi) siendo éstos tres intermedios y los tratamientos T6 (*B.thuringiensis* al suelo), T4 (*B.subtilis*), T7 (*B.thuringinesis* foliar), y T2 (testigo) se tuvieron resultados poco efectivos en el manejo de marchites.

El efecto T3 (fertilización) sobre el manejo de marchites bacteriana y la reducción de tejido enfermo en las plantas, se atribuye a que fue el único tratamiento al que no se le aplicó fórmula triple quince a los ocho días después de inoculada la bacteria, sino que se le aplicó otra formulación (16-20-0) requerida para el cultivo en los primeros días de transplantadas las plantas.

Según Orellana, 2003 la fertilización nitrogenada incrementa la susceptibilidad de plantas solanáceas como la papa (*Solanum tuberosum* L.) a la marchites ocasionada por *Burkholderia solanacearum*. Existe también la posibilidad de que la forma del nitrógeno (Amonio o nitrato) de que dispone el hospedero o el patógeno son lo que en realidad afecte la severidad de la enfermedad.

NAS 1992, menciona que en algunos casos se ha demostrado la eficacia de la modificación de la nutrición como medio de influir en el desarrollo de la enfermedad.

Los efectos del nitrógeno en el crecimiento del huésped pueden influir notablemente en la susceptibilidad de las plantas a ciertos patógenos. Además agrega que las plantas se deben fertilizar de manera que se les proporcione un equilibrio adecuado de nutrición para un desarrollo sano; los niveles óptimos de fertilización en particular con relación al nitrógeno, suelen favorecer el desarrollo de la enfermedad.

Orellana, 2002 afirma que cuando la infestación es muy intensa, como en el caso de los hongos, bacterias y virus, la pura utilización de nutrientes es suficiente para matar a la planta. Por lo general la planta atacada muere por acción de las toxinas que el patógeno expulsa en su interior.

### C) Área bajo la curva del progreso de la enfermedad:

Los resultados obtenidos del Análisis de Varianza del abcpe demuestran que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos; esto indica que las medias de los tratamientos no son iguales en cuanto al abcpe.

CUADRO 3. Resultados obtenidos para los datos del abcpe de marchites bacterial en tomate, con ocho tratamientos de manejo.

Tratamiento	Prueba de Duncan *
T2 (testigo)	a
T7 ( <i>B.thuringiensis</i> foliar)	b
T6 ( <i>B.thuringiensis</i> al suelo)	b
T4 ( <i>B.subtillis</i> )	c
T1 (bocashi)	d
T5 ( <i>Trichoderma sp</i> )	d
T8 (KCl 0.1M)	e
T3 (fertilización)	f

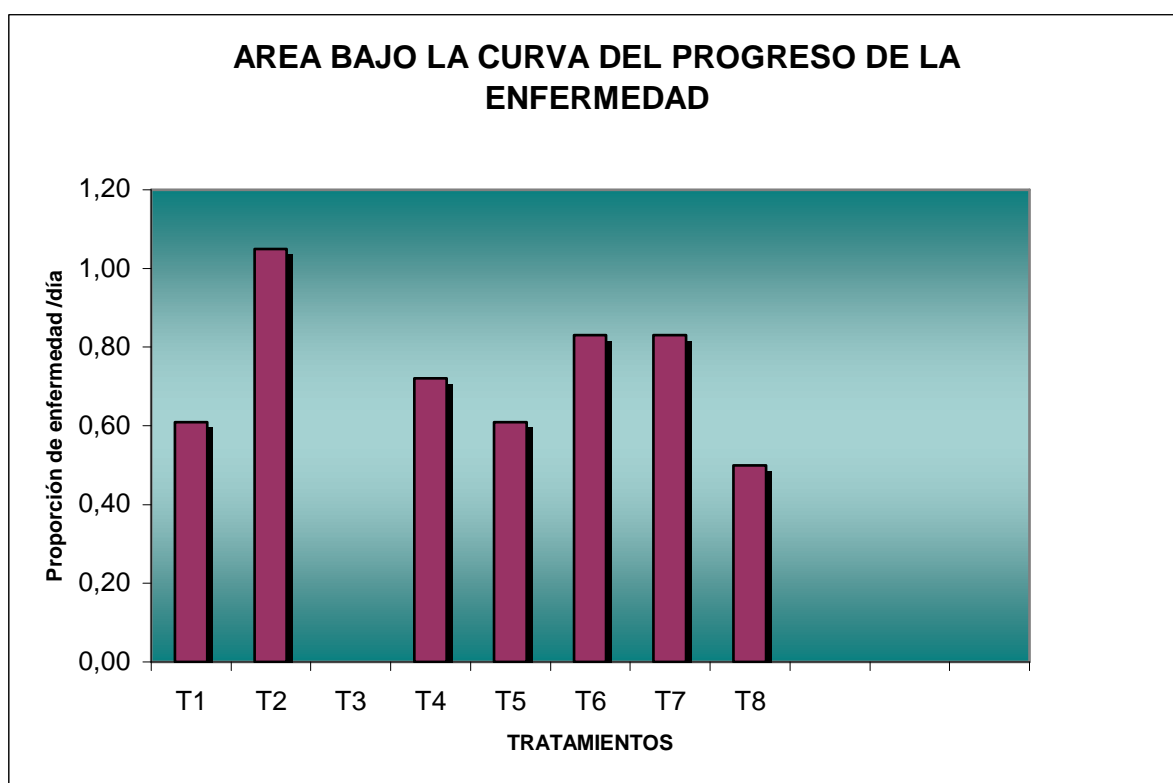
\* Tratamientos con igual letra, mostraron resultados estadísticamente similares

El T3 (fertilización) presentó un abcpe de 0.088 unidades siendo este el nivel más bajo por lo tanto la tasa de desarrollo de la enfermedad es menor, seguido por el T8 (KCl 0.1M) con 0.500 unidades, T5 (*Trichoderma sp*) con 0.610 unidades y T1 (bocashi)



con 0.610 unidades, siendo éstos tres los intermedios; el T4 (*B.subtillis*) con 0.720 unidades, T6 (*B.thuringiensis* al suelo) con 0.830 unidades, T7 (*B.thuringiensis* foliar) con 0.830 unidades y T2 (testigo) con 1.050 unidades fueron los que presentaron una mayor tasa de desarrollo de la enfermedad.

De igual manera se puede observar en el Gráfico 3, en donde el T3 (fertilización) obtuvo menor promedio de abcpe de proporción de marchites por día, en comparación con el testigo absoluto, T2 (testigo), el cual presentó el promedio de abcpe más alto (1.050 unidades) en el experimento.



Fuente: Datos tomados a diario a lo largo del ensayo (Noviembre-Diciembre, 2003)

Se esperaba que de los 8 tratamientos alternativos para el manejo de la Marchites Bacteriana en tomate, uno o varios tuvieran un efecto significativo.

En el caso del **T3 (fertilización)** a lo largo del progreso de la enfermedad Marchites Bacteriana, éste por tener un elemento esencial como el fósforo en mayor cantidad, de acuerdo al requerimiento del tomate en sus primeras etapas de crecimiento, le confirió

cierta resistencia y vigor a las plántulas de tomate contra la bacteria *Burkholderia solanacearum*, retardando el avance de la enfermedad en las plantas de tomate, lo que produjo mejores resultados.

El T5 (*Trichoderma sp*) mostró a lo largo del progreso de la enfermedad un efecto sobre *Burkholderia solanacearum*, que se le atribuye a la acción parasítica del hongo *Trichoderma sp* ó al efecto de las sustancias producidas como antibióticos que podría tener un efecto notable; aunque este efecto no fue muy activo como el que presenta el hongo al inhibir el crecimiento de otros hongos fitopatógenos como: *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora parasitica* entre otros.(Hernández y Serrano, 1996).

T6 y T7 (*Bacillus thuringiensis*) aplicado tanto al suelo como a la parte foliar, no produjo actividad biocida contra *Burkholderia solanacearum* y entre los factores que posiblemente no ayudaron a su acción están: que la bacteria *Bacillus thuringiensis* no tenía un ambiente propicio de humedad que la mantuviera activa antes de haber inoculado la *Burkholderia solanacearum*., también se puede deducir tomando en cuenta la prueba *in Vitro* que *B. thuringiensis* no tiene una actividad específica contra *Burkholderia solanacearum* en campo.

El T4 (*Bacillus subtilis*) no mostró el efecto esperado a lo largo del progreso de la enfermedad de Marchites Bacteriana; esto pudo deberse a que si bien las bacterias del género *Bacillus sp* viven en los límites de temperatura entre los 50 y 70° C, la temperatura óptima para un buen y mejor desarrollo es de 37°C, (Montealegre *et al*, 2003), tomándose en cuenta que la temperatura a la que permaneció ésta en invernadero estaba entre los 20 a 29.5°C, razón por la cual *B.subtillis* no pudo realizar una acción efectiva contra el ataque de *Burkholderia solanacearum*. a la que estuvo expuesta.

El **T1 (Bocashi)**, produjo un efecto positivo en el control de Marchitez Bacteriana esto podría estar relacionado con el incremento de materia orgánica, ya sea este un contenido medio o bajo. Estudios realizados demuestran que estos contenidos pueden influir en la permanencia de la *Burkholderia solanacearum*. en el suelo.

Además a mayor contenido de materia orgánica menor será el desarrollo de marchitez bacteriana, probablemente relacionado con el aumento de las poblaciones microbianas benéficas, ejerciendo algún tipo de control.

La gráfica de abcpe( área bajo la curva de progreso de la enfermedad )demuestra que el **T8 (KCl 0.1M)** no produjo el efecto deseado, esto significa que si bien las plantas de este tratamiento desarrollaron o activaron, agentes químicos y/o biológicos como inductores de una resistencia sistémica contra *Burkholderia solanacearum* su respuesta no fue satisfactoria; cabe mencionar que en sorgo como en pepino la sola aplicación foliar de sales de fósforo 0.1M y sales de potasio respectivamente, a la vez que generan una resistencia , controlan los agentes patógenos causantes de enfermedades.

El **T2 (testigo)** por no contar con ningún método de control contra la marchitez bacteriana no produjo buenos resultados.

Podríamos decir que al comparar cada uno de estos tratamientos biológicos alternativos para el manejo de marchitez bacteriana, de alguna manera ejercen algún tipo de control , pero este es mínimo pues al final todas las plantas murieron; pero podrían emplearse técnicas MIP (Manejo Integrado de Plagas) utilizando una combinación de agentes biológicos y químicos en menor proporción.

En el manejo de enfermedades un retardo de la incidencia y/o severidad, ayudan a ganar tiempo para ejecutar medidas de control coadyuvantes.

## CONCLUSIONES

- El uso de abonos orgánicos como el Bocashi, es un método alternativo para el manejo de Marchites Bacteriana en tomate, aunque no ejerce una resistencia pero sí algún tipo de control.
- La aplicación adecuada de la fertilización, ayuda al mejoramiento en la nutrición de la planta, lo que influye sobre el vigor de la misma, reduciendo la habilidad de algunos patógenos como: *Burkholderia solanacearum*; haciéndola una alternativa para el manejo de Marchites Bacteriana en tomate.
- El efecto del cloruro de potasio 0.1M como un agente inductor de resistencia sistémica adquirida (SAR) en las plantas de tomate, no produce una reducción en el progreso de la enfermedad Marchites Bacteriana.
- Para el empleo de controladores biológicos, como métodos alternativos para el manejo de patógenos, causante de enfermedades como: *Burkholderia solanacearum*, es necesario que exista una acción antagónica específica.

## RECOMENDACIONES

- Realizar otras investigaciones en donde se evalúen diferentes formulaciones de abonos orgánicos tipo Bocashi, para determinar su efecto en el manejo de enfermedades de plantas.
- Aplicar las fertilizaciones de acuerdo a los requerimientos necesarios en las diferentes etapas fisiológicas del cultivo.
- Evaluar diferentes concentraciones de cloruro de potasio, como inductor de Resistencia Sistémica Adquirida (SAR), en marchites bacteriana.
- Hacer investigaciones orientadas a la acción antagónica específica de bacterias y hongos en el manejo de *Burkholderia solanacearum*.

## LITERATURA CITADA

Acuña, O.; Hernández, E. 1976. Manual de Enfermedades de cultivos tropicales. México. P.72.

Agrios, G. 1991. Fitopatología. México, D.F. Ed. Limusa. P 29,30; 39-41; 215-217; 479-490.

Agrios, G. 2001. Fitopatología. Trad. Manuel Guzmán Ortiz. México, D.F. Editorial. Limusa. P10; 183-200.

AGRO. 2000. El cultivo del tomate. Consultado el 01 de Agosto de 2003. Disponible en línea <http://www.agro.com>.

AGROINFORMACION. s.t. Tomatera. Consultado el 22 de Agosto de 2003. Disponible en línea <http://www.agroinformacion.com/img/upload/tomatera.git>.

Alcala D.; Lara, B.1995.Estudio de la marchitez Bacteriana de la papa y el tomate en tres localidades del Estado de Lara. Consultado el 01 de Agosto de 2003. Disponible en línea [http://www.tomate/revista de la facultad de agronomia/U\\_C\\_V\\_48\(3\):275-289.2.htm](http://www.tomate/revista%20de%20la%20facultad%20de%20agronomia/U_C_V_48(3):275-289.2.htm).

ANAP- OXFAM. 1997. Lucha biológica; Extensión de las técnicas de empleo de productos biológicos en el control de plagas en la agricultura. Habana, Cuba. ANAP. 20-24

Benavides, M. 2002. Estrategias para el uso de los mecanismos naturales de tolerancia al estrés en plantas. DF. México. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. P. 245

Betancourt, J. C. 2003. Manejo integrado de plagas de productos hortícolas. Proyecto agricultura sostenible en zonas de ladera Fase II. El Salvador. CENTA-FAO. P 98,99.

Bustamante, E.; Platero, G.; Gamboa, A. 2000. Biodiversidad como fundamento en la exclusión y manejo de plagas. Manejo integrado de Plagas Costa Rica, No 56. P 6-21.

Bruulsema T. 2001. La nutrición de las plantas. Productos de Hortalizas Centroamérica. Año 3. No 3. P 12.

CATIE. 1990. Tomates. II serie. Turrialba, Costa Rica. P 11-14.

Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral. 2002. Consultado el 15 de Septiembre de 2003. Disponible en <http://redhidro@lamolina.edu.pe>.

Cundorm, M.; Mazza, S. s.f. Evaluación de *Trichoderma sp* contra *Rhizoctonia solani* in vitro e invernáculo. Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. P. 14

DISAGRO. 1996. Cultivo de Tomate. Boletín DISAGRO 4(1): 1-8. DISAGRO.

Dodson J. 1997. Enfermedades del tomate. Guía practica para agricultores, productores y comercializadores de semillas y asesores agrícolas. P. 4

ECOLUZ. s.f. *Trichoderma*. visitado el 25 de Octubre de 2003. Disponible en línea <http://www.geocities.com/ecoluz/Trichoderma.htm>.

Fernández- Larrea, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control Fitosanitario. Manejo integrado de plagas. Costa Rica. No 62. P.96-100.

French, E.; Herbert, T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica. IICA. P 142-148,154-187; 198-211.

Gil, H. 1995. Fertiguia. Fertica. Manual Técnico Proagro.

Hernández, A. B. A.; Serrano P. C. 1996. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* en cultivo de frijol, mediante aislamiento de *Trichoderma sp.* a nivel de invernadero. Tesis Ing. Agr. San Salvador, El salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. 103p

Herrero, S.S. 2001. Los receptores de las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* y sus implicaciones en el desarrollo de resistencia. Tesis Doctoral. Valencia, España. [http://www.uv.es/\\_herrero/index-archivo/s\\_herrero:tesis.pdf](http://www.uv.es/_herrero/index-archivo/s_herrero:tesis.pdf).

Instituto Internacional de la Potasa. s.f. El Potasio en las plantas. Suiza. No 2. P 4



Lara, R. E. 1993. Biocontrol in vitro de *Rhizoctinia sp.* mediante aislamientos de *Trichoderma sp.* Diagnostico, estudio y manejo. Protección Vegetal. El Salvador. Año 3, No2

Messiaen, C. M. Laton R. 1968. Enfermedades de las hortalizas Trad. Pedro Camps. Salvaeditores. Barcelona, España. Salvaeditores. P 11,45-47, 52-53.

Molina A. 2003. Péptidos Antimicrobianos e inmunidad Innata en plantas. Departamento de Biología-UPM-. Madrid, España. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. P 12

Montealegre, J; Reyes, R.; Herrera, R. Selección de bacterias bioantagonicas para el control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate. Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. P 14-18

Mora, K.; Hernández, Y.; Trujillo, G.; Control in vitro de *Ralstonia solanacearum*, agente causal de la Marchitez Bacteriana del tomate. Caracas Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Instituto de Botánica Agrícola, Laboratorio de Bacterias Fitopatógenas. P 28

Noval, A.; Castro R.S. 1987. Bacteriosis de plantas. Hojas divulgadoras. Madrid, España. No 4/87.

Nuez, F. 1999. El cultivo de tomate. España. Ediciones Mundi prensa. P 18-20

Orellana L. 2002. Nutrición racional. Interacciones de la fertilización específica y las enfermedades. Productores de Hortalizas Centroamérica. Año 2, No 1. P 14,15.

Parodi, P. P. s.f. Resistencia Sistémica adquirida. Chile. Departamento de Ciencias vegetales. P 2-5

Pérez E. 2002. Cultivo de tomate. Guía Técnica. El Salvador No 8. P8, 35-38.

Rivas, F. A. W.; Barrientos, R. C. A.; Hernández M. C. A.; Saz, V. N. E. 1990. Recolección, aislamiento e identificación de cepas nativas de *Rhizobium leguminosarum biovar. phaseoli*. Tesis Ing. Agr. San Salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. 71 p.

Romero A. 2003. Crecimiento de Almacigo de café con abono tipo Bocashi y abono verde de *Eritrina poeppigiana*. [http: www.infoagro.go.cr/tecnología/cafe\\_2000/café10.htpml](http://www.infoagro.go.cr/tecnología/cafe_2000/café10.htpml).

Saballos, P. 1982. Algunos aspectos sobre bacterias fitopatógenas. Boletín divulgativo. El Salvador. No 1-82. P 6-14, 18-24.

Sermeño, J.M.; Rivas, A.W.; Menjivar R.A.2001. Manual Técnico: Manejo Integrado de Plagas. San Salvador, El Salvador. UES. P 202-205.

Soto, G.; Muñoz C. 2002. Consideraciones Teóricas y prácticas sobre compost, y su empleo en la agricultura orgánica. Boletín N<sup>o</sup> 65. Turrialba Costa rica. CATIE. P 123-129

Solano, B. D. 1991. Efecto antagónico de *Bacillus subtilis* contra hongos patógenos del suelo en tomate. Protección Vegetal. El Salvador. Año 1, No1. P 15-18

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

Van, H. J. N. 1992. El Cultivo de Tomate. 2<sup>a</sup> ed. México D.F. Editorial Trillas. P 9-14.

Walker, J.C. 1959. Enfermedades de las hortalizas. Trad. Dr. Antonio Arnalverderol. Barcelona, España. Salvaeditores. P387,388; 530-532.

Winstead, N.; Kelman A. 1952. Inoculation thechniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanace*. P 245-250.

Yossen, V.; Vargas, S. G.; Díaz, M.; Dimos, C. 2002. Disponible en: /www.webbeta.CATIE.ac.cr/buscar.asp.

# ANEXOS

ANEXO 1: PRODUCCIÓN DE TOMATE AÑO 2002.

<b>Países</b>	<b>Producción tomates año 2002 (toneladas)</b>
China	25.466.211
Estados Unido	10.250.000
Turquía	9.000.000
India	8.500.00
Italia	7.000.000
Egipto	6.328.720
España	3.600.00
Brasil	3.518.163
Rep. Islámica de Irán	3.000.000
México	2.100.000
Grecia	2.000.000
Federación de Rusia	1.950.00
Chile	1.200.000
Portugal	1.132.000
Ucrania	1.100.000
Uzbekistán	1.000.000
Marruecos	881.000
Nigeria	879.000
Francia	870.000
Túnez	850.000
Argelia	800.000
Japón	797.60
Argentina	700.000

Fuente: F.A.O.

ANEXO 2. Valor nutricional del tomate por 100 g. de sustancia comestible.

<b>Valor nutricional del tomate por 100 g de sustancia comestible</b>	<b>valor</b>
Residuos (%)	6.0
Materia seca (g)	6.2
Energía (kcal)	20.0
Proteínas (g)	1.2
Fibra (g)	0.7
Calcio (mg)	7.0
Hierro (mg)	0.6
Caroteno (mg)	0.5
Tiamina (mg)	0.06
Riboflavina (mg)	0.04
Niacina (mg)	0.6
Vitamina C (mg)	23
Valor Nutritivo Medio (VNM)	2.39
VNM por 100 g de materia seca	38.5

Fuente: Grubben, 1977

ANEXO 3. DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS PARA EL CONTROL DE LA MARCHITEZ BACTERIANA EN TOMATE.



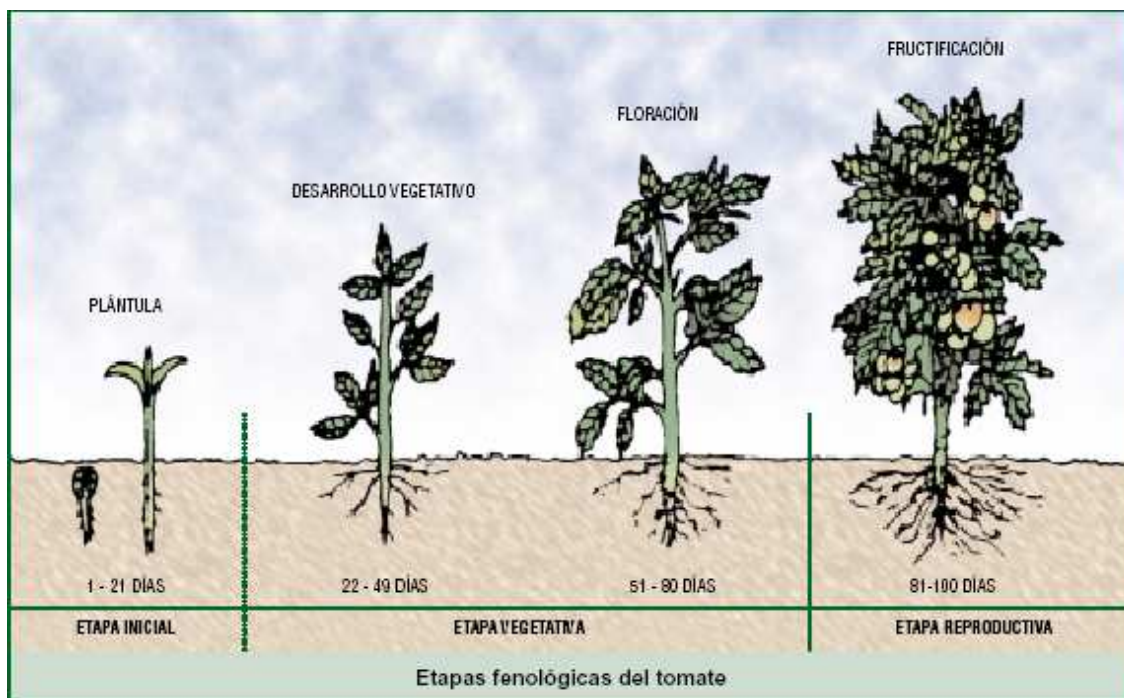
Tratamiento 6										
Tratamiento 1										
Tratamiento 7										
Tratamiento 4										
Tratamiento 8										
Tratamiento 5										
Tratamiento 3										
Tratamiento 2										

- T<sub>1</sub>= Bocashi
- T<sub>2</sub>= Testigo
- T<sub>3</sub>= Fertilización
- T<sub>4</sub>= ***B. subtilis***
- T<sub>5</sub>= ***Trichoderma sp***
- T<sub>6</sub>= ***B. thuringiensis*** comercial al suelo
- T<sub>7</sub>= ***B. thuringiensis*** foliar
- T<sub>8</sub>= KCl

ANEXO 4. HOJA PARA LA RECOLECCION DIARIA DE LOS DATOS (GRADOS DE LA ENFERMEDAD) UTILIZADA EN LA INVESTIGACION.

Tratamiento	T6	T1	T7	T4	T8	T5	T3	T2
Planta								
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
Promedio								

ANEXO 5. EL CULTIVO DEL TOMATE Y LA DURACION (DIAS) DE SUS ETAPAS FENOLÓGICAS



Fuente : CENTA, 2002