

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS.
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA.



Efecto de enmiendas al suelo para prevenir la marchitez bacteriana, (*Ralstonia solanacearum* E. F. Smith), en el cultivo de tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill).

POR:

CLAUDIA MARÍA LINO RODRÍGUEZ
LÍDICE HORTENSIA PORTAL MIRANDA

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERA AGRÓNOMO

CIUDAD UNIVERSITARIA, DICIEMBRE 2013.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DOC. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

ING. AGR. M.SC. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA.

SECRETARIO

ING. AGR. M.SC. LUÍS FERNANDO CASTANEDA ROMERO.

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

ING. AGR. BALMORE MARTÍNEZ SIERRA.

DOCENTES DIRECTORES

ING. AGR. MARIO ALFREDO PÉREZ ASCENCIO.

ING. AGR. M.SC. ANDRÉS WILFREDO RIVAS FLORES.

ING. AGR. QUIRINO ARGUETA PORTILLO.

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. MARIO ANTONIO BERMÚDEZ MÁRQUEZ

RESUMEN

La marchitez bacteriana, causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* E. F. Smith, es una enfermedad predominante en regiones tropicales y subtropicales; siendo una de las principales limitantes, en la producción de solanáceas, especialmente papa y tomate a nivel mundial.

El objetivo de la investigación, fue evaluar el efecto de enmiendas al suelo, como posibles factores supresores del agente causal de esta enfermedad, *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith. en el cultivo de tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill). Las enmiendas fueron Sulfato de Calcio ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Ceniza y Bocashi, las dos últimas en dos diferentes dosis, así también se evaluó el bactericida a base de Sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri- Gent®) y un tratamiento testigo, sin aplicación. El estudio se estableció en el periodo que comprendió julio 2012 y julio 2013 en la Estación Experimental y de Prácticas, de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Se realizó una fase de laboratorio, que consistió en el de aislamiento del patógeno, su reconocimiento mediante pruebas bioquímicas, y la preparación de una suspensión bacteriana que se utilizó como inóculo. Las enmiendas se aplicaron 30 días después de inoculado el sustrato; se realizó un monitoreo semanal del cultivo. Se utilizó el híbrido de tomate Tocayo, útil por su adaptabilidad a las condiciones climáticas del área de estudio. El experimento se desarrolló bajo un diseño estadístico completamente al azar, con siete tratamientos y ocho repeticiones., Las enmiendas fueron evaluadas de acuerdo al porcentaje de incidencia, grado severidad y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE); sometiéndose al rigor de la prueba estadística Tukey, con un nivel de significancia ($\alpha=0.01$), apoyándose con el programa SAS v. 9.1.

La severidad de la enfermedad se redujo con el uso de bocashi en dosis de 6 onz./cubeta; la incidencia y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad fue reducida por el uso de ceniza en dosis de 4 onz./cubeta; determinándose que está, produjo el mejor efecto en la prevención de la enfermedad, en comparación al uso de sulfato de calcio y sulfato de gentamicina.

Palabras Clave: Marchitez bacteriana, *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, Enmiendas al suelo, Tomate.

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso por darnos la sabiduría necesaria para coronar nuestra carrera.

Al Ing. Agr. Mario Alfredo Pérez Ascencio, por proporcionarnos esta investigación, por su apoyo y por ser una persona tan especial.

Al Ing. Agr. M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas Flores, por su apoyo, por sus conocimientos compartidos y dirección en la ejecución de esta investigación.

Al Ing. Agr. Quirino Argueta Portillo, por su aporte en sus conocimientos compartidos.

Al Ing. Agr. Wigberto Lara Rodríguez, por su colaboración en la realización de esta investigación.

A la Lic. Rosmery Idalia Erroa Ramos y Lic. M.V.Z Rudy Anthony Ramos Sosa por el apoyo técnico brindado.

Al Ing. Agr. Leopoldo Serrano Cervantes por su disposición, consejos y apoyo en el desarrollo de la investigación.

Al Ing. Agr. Ricardo Ernesto Gómez Orellana por brindarnos su disposición en el uso del Laboratorio de Protección Vegetal.

Al Departamento de Fitotecnia por proporcionarnos equipo necesarios para el desarrollo de la investigación.

Al personal que labora en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, especialmente a Sr. Edis Valiente por su colaboración y por proporcionarnos las herramientas de trabajo que fueron de mucha utilidad.

DEDICATORIA

A DIOS: Por estar siempre conmigo e iluminar mi camino, guiándome hacia uno de mis grandes objetivos.

A MI HIJO: Carlos Alberto Pérez Lino, por ser la personita más importante de mi vida, por quien vivo y lucho diariamente.

A MI ESPOSO: Juan Carlos Pérez García por su apoyo, por su entrega y amor abnegable.

A MI PADRE Y MADRE José Alejandro Lino y Ana María Rodríguez Sigüenza, a quienes debo todo lo que soy.

A MIS HERMANOS: Ana Silvia Lino de Salazar, Alejandra Patricia Lino Rodríguez, José Alejandro Lino Rodríguez y Fátima Carolina Lino Rodríguez, a quienes amo muchísimo.

CLAUDIA MARÍA LINO RODRÍGUEZ.

DEDICATORIA

A DIOS: Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr esta meta.

A MI HIJA: Lídice Fernanda Díaz Portal por ser mi mayor motivación para culminar mis estudios.

A MI ESPOSO: Cesar Díaz Amaya por su apoyo incondicional durante la realización de este documento.

A MI PADRE: Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, tanto académicamente, como de la vida.

A MIS AMIGOS: Regina Interiano, Reynaldo Hernández, Claudia Lino, Rosalba Mancía por siempre apoyarme y darme ánimos durante todos estos años.

LÍDICE HORTENSIA PORTAL MIRANDA

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1 Descripción general del cultivo de tomate	3
2.1.1. Origen y clasificación taxonómica.	3
2.1.2. Características botánicas.	4
2.1.3. Etapas fenológicas	5
2.1.4. Requerimientos climáticos y edáficos	6
2.1.5. Manejo agronómico del cultivo.	7
2.1.6. Principales plagas y enfermedades.	8
2.1.7. Cosecha y rendimiento.	9
2.2. Marchitez bacteriana en el cultivo de tomate.	9
2.2.1. Historia de la enfermedad.	9
2.2.2. Descripción de la enfermedad y síntomas.	10
2.2.3. Características morfológicas y fisiológicas de la bacteria.	10
2.2.4. Ambiente favorable para el desarrollo de la bacteria.	12
2.2.5. Ciclo de la Enfermedad.	12
2.2.6. Variabilidad de plantas hospederas.	13
2.2.7. Caracterización de la bacteria.	13
2.2.8. Diagnóstico de campo.	13
2.2.9. Caracterización a nivel de laboratorio.	14
2.2.10. Aislamiento de <i>Ralstonia solanacearum</i> E.F. Smith	15
2.3 Métodos de control de la marchitez bacteriana	15
2.3.1. Control Químico.	15
2.3.2. Resistencias genéticas, fuentes y mejoramiento genético.	16
2.3.3. Control Biológico.	17

2.3.4. Control Cultural.	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS.	26
3.1. Descripción del área de estudio.	26
3.2. Fase de laboratorio	26
3.2.1. Preparación de medios de cultivo.	26
3.2.2. Recolección de material afectado.	27
3.2.3. Aislamiento del patógeno.	27
3.2.4. Identificación y caracterización de <i>R. solanacearum</i> E.F. Smith.	28
3.2.5. Preparación de inóculo.	30
3.2.6. Conteo Indirecto de la suspensión utilizada como inóculo	31
3.2.7. Inoculación de cubetas.	32
3.2.8 Análisis físico –químico del sustrato y enmiendas aplicadas.	32
3.3. Fase de campo.	33
3.3.1. Preparación y desinfección de sustrato para cubetas.	33
3.3.2. Delimitación del terreno.	33
3.3.3. Material vegetal evaluado.	33
3.3.4. Aplicación de tratamientos.	34
3.3.5. Fertilización.	35
3.3.6. Labores culturales.	36
3.4. Toma de Datos.	37
3.5. Metodología Estadística.	38
3.6. Metodología Económica.	40
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	41
4.1. Aislamiento de <i>Ralstonia solanacearum</i>	41
4.2. Prueba de patogenicidad.	41
4.3. Reacción de pruebas bioquímicas para la caracterización del patógeno.	42
4.4. Resultados de conteo indirecto de la suspensión utilizada como inóculo.	42
4.5. Resultados de análisis físico- químico del sustrato utilizado en el ensayo.	43
4.6. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato para la variable altura promedio de plantas.	43

4.7. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato para la variable número de hojas promedio de plantas.	45
4.8. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre la variable severidad de la marchitez bacteriana.	46
4.9. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre las variables incidencia y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).	48
4.10. Análisis del pH del sustrato para cada tratamiento.	51
4.11 Resultados económicos	52
5 .CONCLUSIONES	57
6.RECOMENDACIONES	58
7. BIBLIOGRAFÍA.	59
8. ANEXOS.	63

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Nutrientes necesarios para la producción de 1 Ha de tomate.	8
2	Principales aportes de los ingredientes utilizados para elaborar tipo bocashi	22
3	Descripción de las características morfológicas del híbrido utilizado en la investigación	34
4	Control preventivo de plagas y enfermedades.	36
5	Tabla de análisis de varianza	40
6	Análisis de varianza para la variable altura promedio (cm.) de plantas de tomate.	44
7	Comparación de medias de los tratamientos para la variable altura promedio de plantas de tomate.	44
8	Análisis de varianza para la variable número de hojas promedio de plantas.	45
9	Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable número de hojas promedio de plantas.	45
10	Análisis de varianza para la variable grado de severidad de la enfermedad.	47
11	Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable grado de severidad de la enfermedad.	47
12	Análisis de varianza para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.	48
13	Comparación de medias de los tratamientos para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.	49
14	Comparación de unidades de enfermedad calculadas por tratamiento para observar el ABCPE.	50
15	Resultados del análisis de pH del sustrato de cada tratamiento.	52
16	Presupuesto parcial de los tratamientos	53
17	Presupuesto parcial de beneficio neto para el T1 (sulfato de calcio) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).	53

18	Presupuesto parcial de beneficio neto para el T2 (Ceniza 4 onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).	54
19	Presupuesto parcial de beneficio neto para el T3 (Ceniza 6onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).	54
20	Presupuesto parcial de beneficio neto para el T4 (Bocashi 6onz.) comparado con el T0 (Testigo).	55
21	Presupuesto parcial de beneficio neto para el T5 (Bocashi 9onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).	55

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Fase de laboratorio: aislamiento de la bacteria.	28
2	Pruebas de laboratorio: Realización de tinción Gram, Prueba de KOH 3% y Pruebas bioquímicas	29
3	Pruebas de patogenicidad	30
4	Preparación del inóculo	31
5	Método indirecto de conteo bacteriano	31
6	Inoculación de <i>R. solanacearum</i> al sustrato	32
7	Preparación y desinfección de sustrato	33
8	Aplicación de tratamientos	35
9	Programa de fertilización del cultivo	35
10	Mapa de campo de la investigación	39
11	Resultados del aislamiento bacteriano	41
12	Plantas de tomate con síntomas de marchitez	42
13	Dilución 10^8 en el que se obtuvo un conteo promedio de 2.5×10^9 ufc/ml	43
14	Altura promedio de plantas de tomate	44
15	Número de hojas promedio de plantas de tomate	45
16	Comportamiento de la severidad de la enfermedad	47
17	Porcentaje de incidencia de la enfermedad	49
18	Área bajo la curva del progreso de la enfermedad	50
19	Benéficos netos	56

INDICE DE ANEXOS

ANEXOS		PAGINA
A-1	Distribución geográfica de productores de tomate en El Salvador	63
A-2	Características morfológicas de tallo, hojas, flor y fruto de tomate.	64
A-3	Etapas fenológicas del cultivo de tomate	64
A-4	<i>R. solanacearum</i> extraída del sistema vascular de la planta.	65
A-5	Ciclo de la marchitez bacteriana.	65
A-6	Síntomas y características de la bacteria	66
A-7	Resultados de pruebas bioquímicas	74
A-8	Resultados de análisis físico químico del sustrato antes de inocular la bacteria	75
A-9	Resultados de análisis físico químico del sustrato después de inocular la bacteria	77
A-10	Resultados de análisis físico-químico de ceniza	78
A-11	Resultados de análisis físico-químico de bocashi	79
A-12	Escala de severidad utilizada en la investigación	80
A-13	Toma de datos de la altura en centímetros de plantas de tomate desde el trasplante hasta la maduración.	81
A-14	Toma de datos del número de hojas en plantas de tomate desde el trasplante hasta la maduración.	82
A-15	Toma de datos de las variables Incidencia, severidad y área bajo la curva de progreso de la enfermedad.	83

1. INTRODUCCIÓN.

Dentro de los cultivos que constituyen el rubro hortícola de El Salvador, se encuentra el cultivo de tomate, ocupando el primer lugar de las hortalizas de importación, para el año 2012 se importaron 93.10 TM equivalente a \$ 11,904,676.97 (MAG, 2012). Dichas importaciones provienen de Guatemala y Honduras.

La producción de tomate en el país, abastece únicamente el 48% de la demanda interna; puesto que se cultiva a baja escala, por pequeños y medianos productores que no cuentan con la tecnología y el financiamiento adecuado, para que este cultivo sea rentable.

En el país se destina únicamente un 2% del territorio, para el cultivo de esta hortaliza, en el 2012 se estima que se cultivaron 1,095 Mz. obteniendo un rendimiento promedio de 433.8 qq.⁻¹Mz. (MAG 2012).

El cultivo de tomate presenta muchos riesgos fitosanitarios, ya que es afectado por diversas plagas y enfermedades. Una de las enfermedades que causa mayor incidencia en este cultivo es la marchitez bacteriana; causada por la bacteria ***Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*** E. F. Smith. Esta bacteria, habita en el suelo y posee una gran cantidad de hospederos, lo que permite su diseminación.

Entre los factores, que más inciden en el desarrollo de la enfermedad se tiene: la humedad, la temperatura alta y la acidez del suelo; lo que produce el medio favorable, que permite la permanencia de la bacteria, la cual penetra por los haces vasculares de la planta, ocasionándole una marchitez total.

A escala mundial, las pérdidas en rendimiento causadas por esta enfermedad, pueden alcanzar desde un 15% hasta un 95%, (Javier citado por Díaz Blandón, 1999). En Centroamérica, se informa de pérdidas debido a la marchitez bacteriana del tomate, que oscilan y alcanzan un 20-30% en Panamá; 50% en Costa Rica y un 40% en El Salvador (CATIE citado por Díaz 1999).

Las estrategias de manejo, para el control de la enfermedad han sido muchas; sin embargo están limitadas a cultivos o sitios específicos. El uso de cultivares de tomate con niveles resistencia genética, no han sido eficaces para minimizar los daños causados por la enfermedad. Muchas han sido las prácticas agrícolas, para contrarresta la marchitez

bacteriana entre esta destacan: la rotación de cultivos, que en algunos casos es un método de control efectivo; el uso de enmiendas orgánicas e inorgánicas, y el uso de microorganismos antagonistas a *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith (Díaz 1999).

Las enmiendas aplicadas al suelo, han demostrado tener un efecto supresivo sobre los patógenos del suelo; por ello, durante el ciclo vegetativo del cultivo de tomate, se llevó a cabo este estudio, que consistió en el uso de enmiendas al suelo como: Sulfato de calcio, ceniza, bocashi en diferentes dosis y el uso de un bactericida comercial a base de sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri-Gent®), para el manejo del agente causal de la marchitez bacteriana. Por lo tanto, en esta investigación se buscaron alternativas económicamente viables y a corto plazo, que disminuyeron el ataque de la enfermedad. Con lo que se verían beneficiados los productores de tomate, quienes tendrán menos pérdidas, mayor producción y disposición en el mercado; esto permitirá satisfacer la demanda interna y disminuir las importaciones, lo que aumentaría el ingreso para el productor a nivel nacional.

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Descripción general del cultivo de tomate.

El tomate es uno de los cultivos hortícolas con mayor área cultivada y producción global. Siendo China el mayor productor con 31,6% y Estados Unidos el segundo con 12,7%. En cuanto a la exportación de tomate fresco, España, los Países Bajos y México se disputan las tres primeras posiciones con cifras que rondan mil millones de dólares (CENTA 2002).

A nivel nacional según Alfaro (2011) el comercio de tomate se reduce a la importación, principalmente: Guatemala y Honduras. El volumen importado en los últimos 5 años, en promedio, fue de 89.25 miles de toneladas métricas.

Según datos del Anuario de Estadísticas Agropecuarias, en el periodo comprendido entre 2011 y 2012, había un total de 1,095 manzanas cultivadas de tomates y una producción de 43.4 toneladas métricas, por 3.7 miles de productores (MAG 2012) (A.1).

2.1.1. Origen y clasificación taxonómica.

Origen

El origen del género *Lycopersicon* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile. Probablemente desde ahí fue llevado a Centroamérica y México donde se domesticó y ha sido por siglos parte básica de la dieta. Luego, fue llevado por los conquistadores a Europa. Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos y para entonces ya habían sido llevados a España y servían como alimento en España e Italia. En otros países europeos solo se utilizaban en farmacia y así se mantuvieron en Alemania hasta comienzos del siglo XIX. Los españoles y portugueses difundieron el tomate a Oriente Medio y África, y de allí a otros países asiáticos, y de Europa también se difundió a Estados Unidos y Canadá (Escalona *et. al.* 2009).

Clasificación taxonómica

El tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas.

Nombre común: Tomate, Jitomate

Género: Lycopersicon

Especie: sculentum

Clase: Dicotyledonea

Orden: Solanales (Personatae)

Familia: Solanaceae

Subfamilia: Solanoideae

Tribu: Solaneae

Fuente: CENTA 2002.

2.1.2. Características botánicas.

Planta

El tomate es una planta de porte arbustivo que se cultiva anual, puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, y el crecimiento es limitado en variedades determinadas y en variedades indeterminadas (Nuez 2001).

Semilla

La semilla de tomate tiene forma lenticular con dimensiones aproximadas de 5 x 4 x 2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal (Nuez 2001).

Sistema radical

El sistema radical alcanza una profundidad de hasta 2 m, con una raíz pivotante y muchas raíces secundarias. Sin embargo, bajo ciertas condiciones de cultivo, se daña la raíz pivotante y la planta desarrolla un sistema radical fasciculado, en que dominan raíces adventicias concentrándose en 30 cm del perfil (Escalona *et. al.* 2009).

Tallo principal

Los tallos son ligeramente angulosos, semileñosos, de grosor mediano y con tricomas (pilosidades), simples y glandulares. Eje con un grosor de 2-4 cm en su base, en el se desarrollan las hojas, tallos secundarios e inflorescencias (A. 2).

Hojas

Las hojas son compuestas e imparipinnadas, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares (A. 2).

Flor

La flor del tomate es perfecta. Consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo dispuestos de forma helicoidal y de igual número de estambres que se alternan con los pétalos. Los estambres están soldados por las anteras y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo y evitan la polinización cruzada. El ovario es bi o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias denominadas comúnmente como “racimos”, la primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas (A. 2).

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 (A. 2).

2.1.3. Etapas fenológicas

Según Casaca (2005) la fenología del cultivo comprende las etapas que forman su ciclo de vida. Dependiendo de la etapa fenológica de la planta, así son sus demandas nutricionales, necesidades hídricas, susceptibilidad o resistencia a insectos y enfermedades (A. 3).

En el cultivo del tomate, se observan 3 etapas durante su ciclo de vida

- **Inicial:** Comienza con la germinación de la semilla. Se caracteriza por el rápido aumento en la materia seca, la planta invierte su energía en la síntesis de nuevos tejidos de absorción y fotosíntesis.
- **Vegetativa:** Esta etapa se inicia a partir de los 21 días después de la germinación y dura entre 25 a 30 días antes de la floración. Requiere de mayores cantidades de nutrientes para satisfacer las necesidades de las hojas y ramas en crecimiento y expansión.
- **Reproductiva:** Se inicia a partir de la fructificación, dura entre 30 ó 40 días, y se caracteriza porque el crecimiento de la planta se detiene y los frutos extraen los nutrientes necesarios para su crecimiento y maduración.

2.1.4. Requerimientos climáticos y edáficos.

Luminosidad o Radiación: La luz solar es un requisito para el crecimiento de la planta. El tomate es un cultivo que no lo afecta el fotoperíodo o duración del día, sus necesidades de luz oscilan entre las 8 y 16 horas; aunque requiere buena iluminación. (Corpeño 2004).

Temperatura: La temperatura del aire es el principal componente del ambiente que influye en el crecimiento vegetativo, desarrollo de racimos florales, el cuaje, desarrollo, maduración y la calidad de los frutos. Los rangos para un desarrollo óptimo del cultivo oscilan entre los 28 - 30° C durante el día y 15 - 18° C durante la noche (Corpeño 2004).

Humedad Relativa: La humedad relativa óptima para este cultivo oscila entre 65-70%; dentro de este rango se favorece el desarrollo normal de la polinización, garantizando así una buena producción; ya que por ejemplo, si hay condiciones de baja humedad relativa (menos del 45%) la tasa de transpiración de la planta crece, lo que puede acarrear estrés hídrico, cierre estomático y reducción de fotosíntesis, afectando directamente la polinización especialmente en la fase de fructificación cuando la actividad radicular es menor (Corpeño 2004).

Suelos: Se considera que un suelo ideal debe de tener las siguientes condiciones: 45% de minerales, 5% de materia orgánica, 25% de agua y 25% de aire o espacio poroso. El tipo y la cantidad relativa de minerales, más los constituyentes orgánicos del suelo, determinan las propiedades químicas del suelo (Corpeño 2004).

Los suelos aptos para cultivar tomate son los de media a alta fertilidad, profundos y bien drenados, pudiendo ser franco-arenosos, arcillo-arenosos y orgánicos. El pH del suelo tiene que estar dentro de un rango de 5.9-6.5, para tener el mejor aprovechamiento de los fertilizantes que se apliquen (Corpeño 2004).

Contar con un buen análisis de suelos antes de la siembra, es una condición indispensable para poder manejar un plan de fertilización adecuado a los rendimientos esperados; además nos sirve para hacer las enmiendas en el suelo; es decir, hacer las aplicaciones de cal o materia orgánica necesaria para tener las condiciones requeridas para un desarrollo normal del cultivo (Corpeño, 2004).

2.1.5. Manejo agronómico del cultivo.

Riego

El consumo diario de agua por planta adulta de tomate es de aproximadamente 1.5 a 2 Litros⁻¹día, la cual varía dependiendo de la zona, las condiciones climáticas del lugar, la época del año y el tipo de suelo que se tenga. Pero en general, en riego por goteo se aplican entre 30 a 40 m³ de agua mz.⁻¹ día⁻¹, dependiendo del tamaño de la planta, población y época del año (Corpeño 2004).

Semillero o establecimiento de plantines

El almacigo deberá ser preparado en un lugar plano, con buena iluminación, cercano a una fuente de agua y protegido del ataque de insectos, ya sea con malla anti-insectos, agryl o agrifon. Las semillas de tomate tardan en emerger de 6 – 8 días, dependiendo de las condiciones ambientales (CENTA 2003).

Trasplante

La plántula de tomate estará lista a los 22 días después de la siembra, cuando tenga de 2 y 3 pares de hojas y de 10 – 15 cm de altura, tallo bien desarrollado y completamente sano (CENTA 2003).

Al momento del trasplante se debe considerar que el suelo tenga la humedad necesaria para que la planta no se deshidrate y pueda recuperarse más fácilmente, Se deberá seleccionar las horas más frescas del día, es decir, las primeras horas de la mañana y las últimas de la tarde (Corpeño 2004).

Fertilización

Debe ser oportuna y adecuada. Es necesario considerar el análisis de suelo, el arreglo espacial y el riego, pero en general se recomienda que todos los elementos sean suministrados (Corpeño 2004).

Requerimientos nutricionales del cultivo

Dependiendo de la variedad de tomate a sembrar y del tipo de manejo, así serán las demandas nutricionales; sin embargo, en forma general, los requerimientos nutricionales del cultivo, en kg/ha, son:

Cuadro 1. Nutrientes necesarios para la producción de 1 Ha de tomate.

ELEMENTO	Kg.⁻¹Ha
Nitrógeno	150
Fósforo	200
Potasio	275
Calcio	150
Magnesio	25
Azufre	22

Fuente: CENTA 2002.

2.1.6. Principales plagas y enfermedades.

Control de malezas

Las malezas compiten por agua, luz, nutrientes y espacio físico, son hospederas de plagas, lo que ocasiona reducción en la producción o la formación de frutos de mala calidad. El manejo inadecuado de las malezas puede incrementar los costos de producción del cultivo, reduciendo la rentabilidad obtenida por el agricultor (CENTA 2002).

Las malezas más comunes en el cultivo de tomate son: zacates o gramíneas, ciperáceas como el coyolillo (*Cyperus rotundus*), Verdolaga (*Portulaca sp.*), Flor amarilla (*Baltimora recta*) y otras.

Plagas

Los insectos que atacan el cultivo de tomate son: Mosca blanca (*Bemisia tabaci*), responsable de transmitir geminivirus al cultivo Tortuguillas (*Diabrotica sp. Ceratoma sp. Epitrix sp.*) Minador de la hoja (*Liriomyza sp, diptera*). Gusano del fruto de tomate (*Heliothis zea, Boddie*) Acaro del bronceado (*Aculops lycopersici, Masee*) (CENTA 2002).

Enfermedades

Para los cultivos que se desarrollan durante la época de lluvias, es necesario hacer aplicaciones de fungidas y bactericidas frecuentemente, para evitar la diseminación rápida de las enfermedades en el cultivo; por regla general se recomienda que las plantas vengán protegidas desde el semillero y cuando estas son puestas en el terreno definitivo, la aplicación de fungidas para el control del mal del talluelo es indispensable, ya que *Phytophthora sp., Fusarium sp., Pythium sp., Sclerotium sp.,* y *Rhizoctonia sp.*, son el

grupo principal de hongos que afectan esta etapa y están presentes en la mayoría de los suelos (Corpeño 2004).

2.1.7. Cosecha y rendimiento.

La cosecha debe realizarse manualmente; los frutos recolectados se clasifican según tamaño y estado de madurez: verde maduro, pimentón o rosado y rojo maduro; luego se llenan las cajas con capacidad de 50 o 25 libras (CENTA 2003).

Dependiendo del manejo y variedad de tomate sembrada se puede llegar a cosechar entre 1,200 – 1,500 cajas de 50 libras por manzana, en un periodo de un mes de cosecha (CENTA 2003).

2.2. Marchitez bacteriana en el cultivo de tomate.

La marchitez bacteriana es una enfermedad bastante severa en muchas zonas cálidas, templadas, tropicales y subtropicales. La enfermedad es también conocida como “Marchitez bacteriana sureña”, “la marchitez de las solanáceas” y otros nombres comunes (Jones *et. al.* 2001).

2.2.1. Historia de la enfermedad.

A nivel mundial, los primeros indicios de la enfermedad surgieron en Italia en el año 1882, de allí se considera la posible diseminación a otras partes del mundo (Rodríguez 2007). En 1986 se hace referencia a la primera descripción del patógeno ***Pseudomonas solanacearum***, como el agente causal de la marchitez bacteriana, por Edwin F. Smith, cuya nomenclatura dada, sufriría modificaciones de acuerdo a estudios consecuentes del mismo Smith (1914) (López citado por Rodríguez 2007).

En América Latina, fue localizada en 1965, en áreas amazónicas de Sur América, sobre grandes altitudes en Perú y Costa Rica, en lo que respecta a Guatemala, surge en el municipio de Palencia, del cual fue colectada y aislada procediéndose a la demostración de su patogenicidad (Loarca citado por Rodríguez 2007).

2.2.2. Descripción de la enfermedad y síntomas.

La marchitez bacteriana es una enfermedad de tipo vascular. Se caracteriza por la invasión primaria de la bacteria *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith (patógeno), a los vasos del tejido xilémico. Se propaga invadiendo internamente el tejido vascular, principalmente los vasos de las raíces y el tallo, sin embargo se presenta hasta la parte superior de las plantas infectadas (etapa final de la enfermedad) (Rodríguez 2007).

Cuando una planta se ve infectada, penetra por el sistema de absorción radicular y entra en el sistema vascular, distribuyéndose a los vasos del tejido xilémico (tubo conductor) de forma vertical u horizontal (Watanebe citado por Rodríguez 2007). Produce un taponamiento de los conductos, consecuentemente la planta sucumbe ante una falta de hidratación celular, ocasionando de esta forma un marchitamiento vascular y por ende sistémico (Mejía *et al.* citado por Rodríguez 2007).

Estos pueden llenarse tanto con los microorganismos o sus productos del metabolismo, que el agua no alcanza a llegar a las hojas y la planta se marchita rápidamente. En algunas plantas, como el tomate, puede producirse un desarrollo excesivo de raíces adventicias. Los tejidos vasculares del tallo, raíces y tubérculos se ponen cafés y al observarlos en cortes transversales dejan ver un exudado bacteriano de color blanco. Es muy común observar pústulas bacterianas en torno a los haces vasculares de la médula y corteza, lo cual hace que las raíces a menudo se pudran y desintegren cuando la planta se marchita permanentemente (Agrios 1998).

El marchitamiento de las solanáceas se produce durante las horas más calurosas del día, intensificándose cada vez más hasta ocasionar la muerte. Los síntomas son característicos en plantas jóvenes debido a su periodo de susceptibilidad dentro los 20 a 25 días después al trasplante o emergencia (Rodríguez 2007).

2.2.3. Características morfológicas y fisiológicas de la bacteria.

Se presenta en forma de bastones, rectas ó curvadas gram-negativos, con 0.5 a 1 por 1.5 a 4 μm . Se desplazan por medio de uno ó muchos flagelos polares. (Agrios 1998) (A.4)

La bacteria es aerobia, produce reacciones positivas a catalasa y oxidasa, y produce nitritos a partir de nitratos. Como las *Pseudomonas* no fluorescentes, produce inclusiones intracelulares, retráctiles, sudanofílicas, compuestas por ácido polidroxibutírico. Algunos

aislados bacterianos producen un pigmento marrón que se difunde en medios complejos, y un pigmento negro en rodajas de patata esterilizadas en autoclave. El patógeno produce reacción negativa a la producción de levano, hidrólisis del almidón, e hidrólisis de aesculina. Además puede crecer en medios líquidos compuestos por 0.5% y 1% de NaCl, pero no 2% de NaCl y producir una hidrólisis débil de Gelatina (Jones *et al.* 2001); (Lelliott y Stead 1987); (Schaad1988).

R. solanacearum *E. F. Smith* es una especie compleja que presenta gran diversidad. Aunque los investigadores han dividido las especies en “grupos”, estirpes, patovares, biotipos y razas, no existe un consenso universal para definir una división intraespecífica válida. De forma general se ha utilizado la división de la especie en biotipos y razas. Raza 1 afecta solanáceas en general y varias otras plantas cultivadas de muchas familias, las de mayor importancia son el tomate y chile pimiento, Raza 2 ataca las musáceas (banana, plátano), Raza 3 específica de papa. Aun así, la especie se divide en cuatro biotipos, basados principalmente en la utilización en laboratorio de ciertos disacáridos y alcoholes hexosa; y en tres razas basadas en la gama de plantas huésped (Jones *et al.* 2001); (Lelliott y Stead 1987); (Schaad1988).

En cultivo *in vitro* la bacteria pierde rápidamente la patogenicidad, la bacteria debe ser conservada en estado inactivo bajo aceite mineral, de forma liofilizada o congelada (- 70 a - 80 °C). El medio Tetrazolium descrito por Kelman en 1954 es el mejor para cultivar *R. solanacearum* *E. F. Smith*. En este medio la bacteria produce dos tipos de colonias fácilmente distinguibles. Una es pequeña, aplanada roja y mantecosa; mientras que el otro es grande, elevada sobre la superficie del medio, blanquecina, y en el centro ligeramente rosado, y fluida. Estas últimas son las adecuadas para ser transferidas ya que suelen ser las patogénicas (Jones *et al.* 2001).

Existe la formación de amonio como resultado de procesos fisiológicos del patógeno; no obstante, no hay formación de otros gases o ácidos. El cultivo de la bacteria presenta un olor desagradable muy distintivo, es un microorganismo totalmente aeróbico, por lo cual depende del oxígeno para su desarrollo y multiplicación (Valbuena 2003).

Para el aislamiento de la bacteria *R. solanacearum* *E. F. Smith*. a partir de suelo el medio selectivo más eficiente es el de G.A. Granada y L. Sequeira (Jones *et al.* 2001).

2.2.4. Ambiente favorable para el desarrollo de la bacteria.

Favorece el desarrollo de la bacteria ciertas condiciones como la temperatura (25 a 35°C), la humedad del suelo, humedad relativa (mayores de 60%) suelos con deficiente drenaje y pH bajos. Por esta razón es que ocasiona mayores daños cuando se presenta en zonas de costa (Coutinho citado por Rodríguez 2007).

En climas fríos (menos de 18°C), como en altitudes superiores a 2,500 msnm, la bacteria crece muy lentamente y convive con el cultivo, como infección latente, sin ocasionar daños aparentes ni presentar síntomas visibles. En este caso, los restos de las plantas o material vegetativo se convierten de en fuente de propagación, siendo portadores asintomáticos de la bacteria que al ser sembrados en lugares más calurosos, desarrollan la enfermedad en el cultivo, la cual es severa (Coutinho citado por Rodríguez 2007).

Clasificación taxonómica

Clase:	Betaproteobacteria
Orden:	Burkholderiales
Familia:	Burkholderiaceae
Género:	<i>Ralstonia</i>
Especie:	<i>solanacearum</i>
Sinónimos:	<i>Pseudomonas solanacearum</i> E.F. Smith <i>Ralstonia solanacearum</i> E.F. Smith

Fuente: Rodríguez 2007.

2.2.5. Ciclo de la Enfermedad.

R. solanacearum es primero un patógeno habitante del suelo. La raza 1 puede sobrevivir indefinidamente como organismo de vida libre o en la rizosfera de las plantas, localizándose en muchos casos hasta unos 70 cm de profundidad. Se ha determinado que esta raza puede sobrevivir por seis años en condiciones de barbecho y por más de 10 años en suelos cultivados con plantas susceptibles. La bacteria penetra por heridas de las raíces causadas por insectos, nematodos o el hombre. En condiciones muy favorables puede penetrar por hendiduras donde emergen las raíces secundarias (CATIE 1990) (A. 5).

La diseminación de la enfermedad se realiza por salpique y por el arrastre superficial por la lluvia y el agua de riego; también por las herramientas, materiales y equipos agrícolas; por el trasplante de plantas infectadas en el almácigo o por prácticas culturales tales, como la poda o deshierbe o el amarre de las plantas (CATIE 1990) (A. 5).

2.2.6 Variabilidad Plantas hospederas.

R. solanacearum E.F. Smith se caracteriza como una bacteria cosmopolita, extremadamente variable, adaptada a gran número de plantas, sobre las más variadas condiciones edafoclimáticas, principalmente en las regiones tropicales y sub-tropicales del mundo (Rodríguez 2007).

Centenares de especies de plantas pertenecientes a más de 50 familias botánicas han sido identificadas como hospederas de las cuales las más afectadas por esta fitobacteria, son: papa, tomate, berenjena, chile pimiento, jengibre, banano entre otros (Kelman citado por Rodríguez 2007).

2.2.7. Caracterización de la bacteria.

Importancia de la caracterización

El diagnóstico de una enfermedad bacteriana y la identificación de la bacteria son la forma más eficaz y segura de comprobar, que la bacteria asociada al hospedero, es en realidad el patógeno. Para la detección del patógeno puede ser realizada por exposición a medios físicos y químicos (reacciones serológicas) (Díaz citado por Rodríguez 2007).

2.2.8. Diagnóstico de campo.

El diagnóstico de campo de las enfermedades de plantas, requiere de varios pasos consecutivos, que pueden variar según las circunstancias, pero generalmente consisten en los siguientes: 1. Observación de síntomas, 2. Determinación de las circunstancias particulares del caso; condiciones climáticas; relieve del terreno; distribución de la enfermedad en el campo; historial de los cultivos previo a la aplicación de fertilizantes, insecticidas, fungicidas, herbicidas y 3. Observación de señales de patógenos (Arai citado por Rodríguez 2007).

Metodología para la diagnosis de enfermedades

- Se realiza corte de un trozo de tallo o raíz de 1-2 cm de largo de una planta con marchitez no muy avanzada (A. 6).
- Se suspende ese mismo trozo en posición horizontal y sumergida en la parte superior de una columna de agua desmineralizada. Casi de inmediato, o a veces después de unos 5-10 minutos, comienza a fluir un hilo de bacterias de uno o más conductos del sistema vascular, que desciende dentro del agua (French y Herbert 1980) (A. 6).

Este exudado lechoso del tallo refleja la posible presencia de *R. solanacearum* en el sistema vascular, evidenciada la presencia de la enfermedad, es necesario efectuar una prueba de diagnóstico, ya que la marchitez de la planta causada por la bacteria *R. solanacearum*, puede confundirse con los síntomas inducidos por otros agentes patógenos como: *Fusarium eumartii*, *F. oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Erwinia chrysanthemi*, por daños de insectos y nematodos, daños mecánicos, en la base del tallo (Díaz citado por Rodríguez 2007).

Después de constatar en el campo la presencia de flujo bacteriano es necesario la toma de muestra vegetal, la cual puede ser transportada y preservada en un sistema de cámara húmeda, cuyo propósito es el de crear condiciones favorables de humedad para el desarrollo rápido de la bacteria que puede estar relacionada en la producción del síntoma de la enfermedad (Rodríguez 2007).

2.2.9. Caracterización a nivel de laboratorio.

El proceso de caracterización, a nivel de laboratorio, comprende toda una sucesión de procesos y metodologías encaminadas al aislamiento y purificación del patógeno, para el efecto de considerar características, morfológicas, químicas y patológicas, ya que pueden existir similitudes entre un patógeno, en la morfología y aspectos de identificación, que resulta no ser tan sencillo a diferencia de otros patógenos (Denny citado por Rodríguez 2007).

2.2.10. Aislamiento de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith.

Luego de realizar un diagnóstico de campo, basado en la observación de síntomas en las plantaciones o planta específica, apoyada con resultados de pruebas rápidas como flujo bacteriano se procede a aislar la bacteria (Arai citado por Rodríguez 2007).

- Primero se procede a la selección de material representativo, para la obtención del exudado de la bacteria previo desinfección (alcohol al 70%) del material designado (tallos) y colocarlos en tubos de ensayo que contengan agua estéril o algún caldo nutritivo, para el efecto (Denny y Hayward citado por Rodríguez 2007).
- Segundo: luego de la obtención del flujo bacteriano, se procede a realizar estriados en medios de cultivo selectivos para bacterias en cajas Petri, para la siembra de la bacteria mediante estriados que diluyen la concentración de la misma en el medio en direcciones contrarias y en giros hasta de 180°. Esto se realiza dentro de una cámara de flujo laminar (Arai citado por Rodríguez 2007).
- Tercero: colocar en la incubadora previamente calibrada dentro de los 28° C para dar la condición óptima para el crecimiento de las colonias de bacterias, con un periodo de 48-72 horas.
- Cuarto: se inicia el proceso de purificación de la bacteria, seleccionando colonias que correspondan con las características morfológicas y propias de la bacteria, para su posterior replicación en el medio nutritivo idóneo (Arai citado por Rodríguez 2007).

2.3. Métodos de control de la marchitez bacteriana.

El control de *R. solanacearum* es difícil debido a su amplia gama de hospedantes, su sobrevivencia en el suelo y su variación biológica. Una combinación integrada de medidas de control es lo más apropiado (Martin y French 1985).

2.3.1. Control químico.

Los productos químicos comerciales, incluyen antibióticos-bacteriostáticos, fertilizantes, fungicidas y fumigantes, usualmente son de poco éxito y su uso resulta altamente costoso. Los fumigantes tales como Metam-sodio han sido usados para la desinfección

del suelo antes del trasplante, pero en general no es económica ni ecológicamente factible, para su aplicación en grandes áreas de terreno (Díaz 1999).

Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos tóxicos que inhiben o destruyen a otros microorganismos, producidas por lo general de actinomicetos y *Penicillium*. Su forma de acción es la de ser absorbidos y trasladados sistémicamente por la planta, estos resultan ser de uso más común en el control de enfermedades bacterianas (Agrios 1988).

Según Agrios (1988) los antibióticos de uso más común en la prevención de la marchitez bacteriana son Estreptomicina y oxitetraciclina

Estreptomicina tiene un efecto sistémico translaminar. Se obtiene de *Streptomyces griseus*.

Se expende bajo el nombre comercial de Agrimycin® y actualmente como Agri-Gent® (en mezcla con oxitetraciclina)

Oxitetraciclina.

Se obtiene de *Streptomyces rimosus* y tiene un control de fitoplasmas.

Según Agrios (1988) en el momento de realizar las labores culturales del cultivo es necesario la desinfección de las herramientas tales como cuchillos, sumergiéndolos durante 10 segundos en una solución de formaldehído al 10% cuando se utilicen de planta en planta.

2.3.2. Resistencias genéticas, fuentes y mejoramiento genético.

Cuando se buscan fuentes de resistencia genética se presenta el problema de la enorme variabilidad y complejidad del patógeno que existe una serie de patotipos de los cuales cada uno tiene interacciones muy específicas con el genotipo del hospedante con ambiente sobre todo la temperatura y el tipo de suelo (CIP, 1989). Por otro lado, ha sido difícil obtener cultivares de tomate que combinen una alta resistencia a la marchitez bacteriana y buenas características hortícolas (Scott *et al*; Sonada *et al*, citado por Díaz 1999).

2.3.3. Control biológico.

El control biológico de fitopatógenos del suelo con bacterias ha sido estudiado como un enfoque alternativo a las medidas de control físico y químico por más de setenta años (Weller citado por Díaz 1999).

Recientemente, la investigación sobre métodos de control de la marchitez bacteriana ha estado dirigida hacia la evaluación de enmiendas orgánicas e inorgánicas y a la aplicación de microorganismos antagonistas a las semillas o a las raíces de las plantas antes de la siembra (Díaz *et al.* 2003).

La incorporación de varios materiales orgánicos e inorgánicos en suelo infestado con ***R. solanacearum***, así como el uso de microorganismos antagonistas, han demostrado que suprime la marchitez bacteriana del tomate (Díaz *et al.* 2003).

Entre los microorganismos antagonistas a *R. solanacearum*, se reportan *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus spp* y hongos micorrizicos, mutantes y avirulentos (Díaz *et al.* 2003).

El control biológico está basado en el antagonismo microbiano, el cual puede ser directo (competencia y antibiosis) o indirecto (resistencia inducida de la planta hospedante). Las bacterias antagonistas a *R. solanacearum* han sido aisladas de varias fuentes (suelos supresivos y la rizosfera de plantas hospedantes). En adición a esto, cepas avirulentas a *R. solanacearum* pueden ser potenciales antagonistas a cepas virulentas del patógeno, ya sea mezcladas o mediante el tratamiento previo de la planta hospedante (Trigaleet *al.* citado por Díaz 1999).

Díaz, *et al* (2003) Evaluó el efecto de microorganismos antagonistas como *P. cepacia*, *Bacillus cereus* y *Glomus occultum* sobre la incidencia, severidad y poblaciones de *Ralstonia solanacearum* en condiciones de campo e invernadero, pero no encontró ningún efecto significativo en la reducción de dichas variables, pero se redujo el ABCPE (Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad) usando antagonistas.

Arteaga y Avendaño, (2004) Realizaron un estudio sobre el manejo de marchitez bacteriana en tomate a nivel de invernadero, para lo cual evaluaron el uso de controladores biológicos (*Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* tanto al suelo como a la parte foliar y el hongo *Trichoderma sp*), el uso del hongo tuvo un efecto significativo en

relación a la bacterias, lo que atribuye a la acción parasítica. (*Bacillus thuringiensis*) aplicado tanto al suelo como a la parte foliar, no produjo actividad biocida contra *R. solanacearum*; el uso de la bacteria (*Bacillus subtilis*) no mostró el efecto esperado a lo largo del progreso de la enfermedad de marchitez bacteriana.

2.3.4. Control cultural.

Rotación de cultivos.

Los patógenos que habitan el suelo y que atacan a las plantas de una o varias especies o incluso familias, en ocasiones pueden eliminarse del suelo, sembrando al cabo de 3 ó 4 años cultivos que pertenezcan a familias que no sean atacadas por esos patógenos. En algunos casos la rotación de cultivo puede tener cierta utilidad al reducir, aunque no eliminar los patógenos en el suelo (Agrios 1998).

También se ha constatado que muchas de las veces, la enfermedad permanece en el suelo por mucho tiempo, ya sea por el amplio rango de hospederos que presenta, o por su gran longevidad natural sin la ayuda en un hospedero en el medio. Algunos estudios demuestran que durante la primera cosecha del cultivo, luego de pasar por un periodo de rotación, se observan resultados significativamente positivos para el cultivo; sin embargo, a la segunda siembra, la presencia de la enfermedad es apreciable de forma muy amplia (Kelmany MacCarter citado por Valbuena 2003).

Un sistema de cultivo que ha reducido la incidencia de la marchitez incluyen la rotación con maíz y arroz, donde la población de *R. solanacearum* declinó rápidamente en campos de papa infectados en Perú (Elphinstone y Aley citado por Díaz 1999).

Michel *et al.* citado por Díaz (1999) al sembrar tomate mezclado con *Vigna unguiculata* encontraron que se redujo significativamente la marchitez bacteriana en tomate.

Uso de enmiendas

Enmiendas

Son productos naturales a base de Calcio y Magnesio que se utilizan para corregir la acidez del suelo y neutralizar los efectos tóxicos causados por altas concentraciones de Aluminio, Hierro y Manganeso en los suelos ácidos. Asimismo se usan para suministrar Calcio y Magnesio cuyas deficiencias son muy comunes en dichos suelos. Por sus altos

contenidos de Calcio también se les denomina cales. Las enmiendas también pueden ser utilizadas para corregir los suelos alcalinos, o sea aquellos que tienen pH muy alto (generalmente pH mayor de 8), caracterizados por sus altas concentraciones de sales. En estos casos se usa el sulfato de calcio (CaSO_4) que por su reacción ácida en el suelo actúa como corrector de la alcalinidad (Blanco 2006).

✓ **Sulfato de Calcio ($\text{Ca SO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)**

El sulfato de calcio constituye una importante fuente de calcio y azufre para la fertilización de los cultivos, así como también la alternativa económicamente más recomendable para la recuperación de suelos sódicos, salino sódicos y con altos contenidos de aluminio. Su velocidad de reacción depende del tamaño de la partícula y de la humedad del medio.

Entre las mejoras que aporta el sulfato de calcio a los suelos se tienen:

Mejora la Estructura del Suelo: El calcio es un ion necesario para que se produzca la floculación de las arcillas, es decir para enlazar las partículas individuales del suelo y formar agregados más grandes. Esto mejora las características físicas, mejora el drenaje y aumenta las reservas de agua útil en el suelo. Esto ayuda también a disminuir e incluso prevenir la formación de costras en la superficie del suelo (FERMAGRI s.f.).

Disminución de pH en Suelos Sódicos: El sulfato de calcio, por ser una sal neutra, no tiene un efecto importante en la modificación del pH de suelos normales, si produce una reducción inmediata de la alcalinidad en los suelos sódicos hasta alcanzar niveles de 7.5 - 7.8, debido al reemplazo de los iones Na^+ que, al ser una base fuerte, influye directamente en el grado de basicidad de los suelos y además, el calcio reacciona con los iones bicarbonato, precipitándolo como CaCO_3 y liberando protones que disminuyen el pH del suelo. Estas reacciones pueden disminuir la incidencia de las cales y los bicarbonatos que inducen a deficiencias de hierro (FERMAGRI s.f.).

Estabilización de la Materia Orgánica: Al proporcionar calcio intercambiable, este se constituye en el mejor mecanismo para ligar la materia orgánica así como los polímeros solubles en agua a las arcillas (FERMAGRI s.f.).

Disminución de Pérdidas de Nitrógeno: El calcio del sulfato de calcio ayuda a disminuir las pérdidas por volatilización del nitrógeno amoniacal proveniente de aplicaciones de amoníaco, nitrato de amonio, urea, sulfato de amonio o algunos fosfatos de amonio. El

sulfato de calcio se combina con el carbonato de amonio para formar una sal compleja (sulfato de amonio), haciéndolo más estable y evitando su volatilización hacia la atmósfera. Además por su contenido de calcio, es importante para acelerar el proceso de nitrificación, ya que la mayoría de los organismos responsables de la conversión del amonio en nitrato requieren calcio (FERMAGRI s.f.).

Mejoramiento de la Capacidad de Intercambio Catiónico: Desde el punto de vista químico, la utilización de sulfato de calcio incrementa la capacidad de intercambiar cationes en el suelo, debido al aumento de cargas negativas que se producen cuando el ion sulfato es adsorbido en las arcillas (FERMAGRI s.f.).

Enmiendas orgánicas y abonos orgánicos

Las enmiendas orgánicas utilizadas comúnmente como abonos orgánicos son productos resultantes de la descomposición biológica de la materia orgánica que al ser incorporados al suelo mejoran sus propiedades físicas, químicas y biológicas lo cual se refleja en un incremento de la capacidad productiva del suelo (Blanco 2006).

✓ **Bocashi**

La palabra bocashi es de origen Japonés y significa “materia orgánica fermentada” o literalmente “suavización”. El bocashi es un tipo de abono el cual se caracteriza por conservar mucha energía en forma de vitaminas, azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos, los cuales a su vez, son una fuente de alimento para organismos benéficos que aumenta la biodiversidad de este (Shintani y Tabora citado por Gómez 2001).

La elaboración de los abonos orgánicos fermentados se puede entender como un proceso de semi-descomposición aeróbica (con presencia de oxígeno) de residuos orgánicos por medio de poblaciones de microorganismos, que existen en los propios residuos, con condiciones controladas, y que producen un material parcialmente estable de lenta descomposición en condiciones favorables y que son capaces de fertilizar a las plantas y al mismo tiempo nutrir la tierra (Restrepo y Hensel 2009).

Según Restrepo y Hensel (2009) Describe que entre los principales factores que afectan el proceso de la elaboración de los abonos orgánicos fermentados se encuentran:

a) Temperatura Está en función del incremento de la actividad microbiológica del abono, que comienza después de la etapa de la mezcla de todos los ingredientes. Aproximadamente, después de catorce horas de haberlo preparado, el abono debe

presentar temperaturas que pueden superar fácilmente los 50°C, lo que es una buena señal para continuar con las demás etapas del proceso.

b) pH La elaboración de este tipo de abono requiere que el pH oscile entre un 6 y un 7,5 ya que los valores extremos inhiben la actividad microbológica durante el proceso de la degradación de los materiales. Sin embargo, al inicio de la fermentación el pH es bien bajo, pero gradualmente se va auto-corrigiendo con la evolución de la fermentación o maduración del abono.

c) Humedad La humedad óptima para lograr la máxima eficiencia en el proceso de fermentación del abono, oscila entre el 50% y el 60%(en peso) o sea, los materiales están vinculados a una fase de oxidación. Cuando la humedad es inferior al 35%, se da una descomposición aeróbica muy lenta de los materiales orgánicos que hacen parte del compuesto. Por otro lado, cuando la humedad supera el 60%, la cantidad de poros que están libres de agua son muy pocos, lo que dificulta el proceso de fermentación, resultando un proceso anaeróbico putrefacto, el cual está vinculado a una fase de reducción de la materia orgánica, que no es lo deseado ni lo ideal para obtener un abono de buena calidad.

d) Aireación La presencia del oxígeno o una buena aireación es necesaria para que no existan limitaciones en el proceso aeróbico de la fermentación del abono. Se calcula que como mínimo debe existir de un 5% a un 10% de concentración de oxígeno en los macroporos de la masa. Sin embargo, cuando los microporos se encuentran en estado anaeróbico debido a un exceso de humedad, ello puede perjudicar la aireación del proceso y, en consecuencia, se obtiene un producto de mala calidad.

e) El tamaño de las partículas de los ingredientes La reducción del tamaño de las partículas de los componentes del abono puede presentar la ventaja de aumentar la superficie para su descomposición microbológica. Sin embargo, el exceso de partículas muy pequeñas puede llevar fácilmente a una compactación que favorece el desarrollo de un proceso anaeróbico, lo que no es ideal para obtener un buen abono.

Cuadro 2. Principales aportes de los ingredientes utilizados para elaborar el abono tipo bocashi

INGREDIENTE	APORTE
Carbón vegetal	Mejora las características físicas del suelo. Facilita una mejor distribución de las raíces, la aireación y la absorción de humedad y calor. Beneficia la actividad macro y microbiológica de la tierra.
Gallinaza o estiércoles	Principal fuente de nitrógeno. Mejora las características de la fertilidad de la tierra con algunos nutrientes, principalmente con P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu y Bo. Aportar inóculo microbiológico y otros materiales orgánicos.
Cascarilla de arroz	Mejora las características físicas de la tierra. Facilita la aireación, la absorción de humedad y el filtrado de nutrientes. Beneficia incremento de la actividad macro y microbiológica. Estimula el desarrollo uniforme y abundante del sistema radical. Aporta Silicio, Fosforo y Potasio.
Pulidura o salvado de arroz o afrecho	Aporta activación hormonal, nitrógeno y es muy rica en otros nutrientes muy complejos. Presenta minerales, tales como fósforo, potasio, calcio y magnesio.
Melaza de caña o chancaca o piloncillo	Principal fuente energética para la fermentación de los abonos orgánicos. Favorece la multiplicación de la actividad microbiológica. Rica en potasio, calcio, fósforo y magnesio; y contiene micronutrientes, principalmente Bo, Zn, Mn y Fe.
Levadura	Principal fuente de inoculación microbiológica. Es el arranque o semilla de fermentación.
Tierra común	Proporciona mayor homogeneidad física al abono y distribuir su humedad. Aumenta el medio propicio para el desarrollo de la actividad microbiológica de los abonos y, consecuentemente, lograr una buena fermentación.
Carbonato de calcio o cal agrícola	Regular la acidez que se presenta durante todo el proceso de la fermentación.
Agua	Homogeniza la humedad de todos los ingredientes que componen el abono. Propicia las condiciones ideales para el buen desarrollo de la actividad y reproducción microbiológica, durante todo el proceso de la fermentación

Fuente: Restrepo y Hensel 2009.

Forma de para preparar abono orgánico tipo bocashi

Los materiales descritos anteriormente se dividen en tres partes para lograr una mezcla homogénea, los ingredientes se colocan uno tras otro, realizando tres capas pueden ser (suelo, bocashi fermentado, semolina de arroz, granza, carbón, levadura, cal agrícola y melaza), hasta formar una mezcla y humedecerla con abundante agua, una vez elaborado debe controlarse la temperatura a un máximo de 50 °C, esto se logra bajando o subiendo la altura del montículo y haciendo volteos dos veces al día.

Se debe de hacer en donde este protegido del sol y de la lluvia para darle calidad al producto, el cual estará listo en 22 días o cuando la temperatura es de cero grados centígrados.

✓ Ceniza

Las cenizas se obtienen de la combustión de madera o corteza de madera en diferentes industrias de fabricación de tableros, fabricación de ladrillos y pasta de papel para la obtención de energía.

Características generales de la ceniza

Describir las características físico-químicas de las cenizas es complicada, pues estas pueden variar dependiendo de múltiples factores como el material de origen, las temperaturas y las condiciones de combustión, la eficiencia en la separación de partículas, la aplicación de pre tratamientos, El grado de exposición a la intemperie antes de su aplicación y a las diversas fracciones de cenizas (Adriano *et al.*; Campbell; Etiégui y Campbell; Carlson y Adriano; Demeyer *et al.*, citado por Omil 2007).

Las cenizas de madera presentan contenidos importantes de diferentes nutrientes como K, P, Mg y Ca, los cuales se encuentran en formas relativamente solubles (Someshwar; Vance, citado por Solla 2001). Algunos de estos elementos se encuentran como óxidos, hidróxidos y carbonatos, por lo que el material presenta un fuerte carácter alcalino (Etiégui y Campbell, citado por Solla 2001). De este modo, el potencial neutralizante expresado en términos de equivalentes de CaCO₃, varía entre el 25 y el 100 %, por lo que es posible su uso para corregir la acidez de suelos (Ohno y Erich, citado por Solla 2001).

Influencia de los componentes del árbol sobre las características de las cenizas

Hakkila, citado por Omil (2007) estudiando la composición en función de las distintas partes del árbol concluyó que las ramas y las raíces, por lo general, son más ricas en algunos elementos como el P, K y Mg que el tronco, la corteza y las acículas. Sin embargo, los mayores valores de Ca, Mn, Al y S fueron las que provenían de las cenizas de corteza. Por otra parte, cómo la concentración de Ca, Mg y Fe aumentan con la edad de las hojas y el N, P y K disminuyen, su concentración en las cenizas también.

Influencia de las diferentes especies arbóreas sobre las características de las cenizas

Las especies arbóreas empleadas en la combustión es otra variable a considerar cuando se compara la composición química de las cenizas. Varios autores han estudiado el efecto de las especies arbóreas en el resultado de la composición química de las cenizas (Sommerwar, Hakkila; Lumme y Laiho, citado por Omil 2007). Hakkila citado por Omil (2007) concluyó que, entre especies existe una gran variabilidad en la composición química de las cenizas, sin embargo las maderas duras generalmente contienen una mayor cantidad de K y P y menores de Ca y Si.

Las prácticas de manejo propuestas han tenido poco éxito, dado que la biología de la bacteria no está bien definida. El control químico, ha sido una alternativa poco viable para pequeños productores de muchos países. Ha sido difícil obtener cultivares resistentes bajo condiciones de alta temperatura y humedad (Hernández y Bustamante 2002).

Ante las variantes que presentan el manejo eficaz de la enfermedad y la dificultad de conocer el comportamiento de la bacteria, el potencial que representa el control biológico y cultural de este microorganismo constituye una de las alternativas más apropiadas para lograr su control (Hernández y Bustamante 2002).

Priou *et al.* (2004) recomienda que en una parcela donde hubo presencia de marchitez bacteriana, para disminuir la incidencia de la enfermedad y reducir la supervivencia de la bacteria en el suelo, la utilización de enmiendas orgánicas y fertilización mineral. Proporcionando como experimentos el uso de gallinaza fresca + fertilización mineral en dos dosis 5 ton.⁻¹Ha y 10 ton.⁻¹Ha y un tratamiento testigo, el siguiente experimento que recomienda es el uso de gallinaza descompuesta + fertilización mineral en dos dosis 5 ton.⁻¹Ha y 10 ton.⁻¹Ha. Contra un tratamiento testigo y finalmente recomienda el uso de

ceniza de cocina + fertilización mineral 1.35 ton.⁻¹Ha. y la combinación entre gallinaza descompuesta 5 ton.⁻¹Ha + ceniza de cocina 1.35 ton.⁻¹Ha contra un tratamiento testigo utilizando solo fertilización mineral respectivamente para cada experimento. Estos experimentos son recomendados por el investigador como una técnica alternativa para prevenir la marchitez bacteriana en papa dentro de un contexto de manejo integrado de la enfermedad.

Hernández y Bustamante (2001) Realizaron una investigación sobre el control de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas (broza de café, cachaza, bocashi y dos tipos de compost, evaluados en diferentes combinaciones), estas enmiendas fueron evaluadas por su efecto sobre la severidad de la enfermedad y la fluctuación poblacional de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith en el suelo. Las cuales no eliminan en su totalidad la presencia de la bacteria en el suelo, pero si funcionan como un control aunado a la utilización de variedades resistentes. Los resultados que se obtuvieron de esta investigación demostraron el nivel de modificación que estas enmiendas tienen en el suelo, tanto en el pH como porcentaje de minerales.

Díaz *et al.* (2003) Evaluaron el uso de enmiendas para contrarrestar la enfermedad de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate, (cal dolomítica, compost comercial y un tratamiento sin enmienda). El uso de enmiendas redujo significativamente la severidad de la marchitez.

Núñez *et al.* (2002) Determinaron como influyen la cal, la urea, y la combinación de ambas sobre la supervivencia de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, causante del moko de las musáceas, la urea redujo el 93.89%, la mezcla redujo en un 86.50% y la cal redujo en un 88.29%, concluyendo que el mejor tratamiento fue urea al reducir las poblaciones de *R. solanacearum* en el suelo en el menor tiempo, comparado con el resto de los tratamientos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Descripción del área de estudio.

El experimento constó de dos fases una de laboratorio y una fase de campo. La primera se realizó en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador y la segunda en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, ubicado en el municipio de San Luis Talpa, departamento de La Paz a una altura de 50 msnm, entre 13° 28' 30.21" N, 89° 5' 43.39" W, con una precipitación y temperatura anual de 1,700 mm/año T ° min. 22.3 °C y max. 30.0 °C, respectivamente.

3.2. Fase de laboratorio.

3.2.1. Preparación de medios de cultivo.

Para el aislamiento del patógeno se prepararon medios de cultivo, que contenían sustancias con la capacidad de identificar, seleccionar y caracterizar de forma específica la bacteria. Este proceso se llevó a cabo considerando la previa esterilización de los materiales en autoclave, así también tomando en cuenta las condiciones asépticas en el área de trabajo. Se preparó la cantidad necesaria de medio, para el llenado de cajas Petri. se utilizaron los medios Agar Pseudomonas, Agar Cetrimide, ambos selectivos y útiles para distinguir bacterias de este género; para preparación de 1000 ml de Agar Pseudomonas se utilizaron 22.5 gramos de medio y 10 ml de glicerol, en un Erlenmeyer de 2000 ml, al que se le agregaron 1000 ml de agua destilada, se le adicióno el medio y se le agregó el glicerol, se colocó el magneto de agitación y se llevó a punto de ebullición, así también se prepararon 250 cc de Caldo nutritivo el que se vació en tubos de ensayo con tapón de rosca (10 ml.tubo⁻¹) (Fig. 1 a.).

Además se elaboraron los medios necesarios para la realización de las pruebas bioquímicas, de los que se prepararon 25 ml, para realizar 5 repeticiones por prueba, de los que se vaciaron 2 ml en tubos de ensayo, los caldos en tubo con rosca y para los medios sólidos en tubo de ensayo con tapas de algodón, se prepararon 500 cc de medio PDA (Papa Dextrosa Agar) para realizar el conteo indirecto de la población bacteriana del inóculo. Una vez se preparados los medios, se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 2 horas y junto a los medios se esterilizó material de cristalería, cajas Petri, pipetas, envueltos en papel de empaque y agua destilada en tubos de

ensayo; a las azúcares para pruebas bioquímicas (sucrosa, dextrosa, manitol y lactosa), se les ajustó el pH del medio a 7.5 y se esterilizó a 118 °C, los medios estériles y enfriados se almacenaron en refrigeradora.

3.2.2. Recolección de material infestado.

Se recolectaron muestras de plantas de tomate, con características sintomáticas de marchitamiento, procedentes del área de estudio, para comprobar la presencia del agente causal de la marchitez bacteriana *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, se observaron las plantas en cuanto a síntomas macroscópicos: manifestación de raíces adventicias, coloración de vasos y sistemas de conducción (Fig. 1 b.).

Estas plantas se colocaron en papel periódico humedecido y se trasladaron en bolsas plásticas, al laboratorio. También, se realizó una prueba a nivel de campo, descrita por French y Herbert 1980, denominado test de flujo, que consistió en hacer un corte de tallo de aproximadamente 2-3 cm de largo de una planta con marchitez no muy avanzada, la cual se suspendió en posición vertical y trascurridos 5 minutos, comenzó a fluir un hilo blanquecino que descendió dentro del agua, el cual es un indicador la posible presencia de la bacteria en el sistema vascular de la planta (Fig. 1 c.).

3.2.3. Aislamiento del patógeno.

Se obtuvieron aislados de tallos de plantas de tomate con síntomas de marchitez, a las que se le realizó el test de flujo bacteriano, para asegurar la presencia de la bacteria; dichos tallos se desinfectaron con alcohol al 70%, hipoclorito de sodio al 1% y agua destilada estéril, los que se sumergieron en dichas soluciones por 1 minuto, realizándole lavados (Fig.1 d.).

Dicho procedimiento se realizó en cámara de flujo laminar bajo condiciones asépticas, haciendo uso de pinzas estériles se colocaron los tallos en tubos de ensayo que contenían 10 ml de Caldo nutritivo, para facilitar la salida de flujo bacteriano, se dejaron en incubación a una temperatura de 28° C durante 24 horas (Fig.1 d.).

Trascurrido este período, la suspensión se sembró con asa estéril en cajas Petri en el medio selectivo para *Pseudomonas sp.* Agar Pseudomonas. Las cajas sembradas con la suspensión se colocaron de forma invertida y se incubaron a una temperatura de 28° C, durante 24 horas (Fig.1 e, f y g.).



Fig. 1. **a.** Preparación de medios de cultivo. **b.** Material vegetal infestado, con características sintomáticas de marchitamiento, procedentes del área de estudio. **c.** Prueba de campo, denominado test de flujo. **d.** Desinfección de material vegetal. **e.** Suspensión bacteriana obtenida de los tallos infestados **f.** Aislamiento de suspensión bacteriana en caldo nutritivo. **f.** Cajas Petri en incubación por 24 horas.

3.2.4. Identificación y caracterización de *R. solanacearum* E.F. Smith.

Realización de tinción Gram

Después de realizar la purificación de colonias aisladas de la bacteria *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith, se realizó la tinción Gram a fin de identificar con certeza el patógeno. Se colocó en un portaobjeto una gota de agua destilada estéril, con el asa se tomó una pequeña porción del cultivo bacteriano y se estiro hizo un frotis. Se extendió sobre la superficie de la lámina, se esperó a que se secase a temperatura ambiente y se fijó con la llama del mechero.

Posteriormente se cubrió el frotis con Cristal violeta durante 1 minuto, se procedió a lavar suavemente con agua, luego se cubrió con lugol durante 1 minuto, se escurrió el lugol y se lavó con agua, en seguida se decoloró la preparación con alcohol acetona, hasta que no escurriera colorante, se lavó con agua, se cubrió con safranina por 1 minuto, nuevamente se lavó con agua, se dejó secar al aire y finalmente se observó al microscopio con el objetivo de inmersión y resultó como un bacilo corto Gram negativo (Fig. 2 a.).

Prueba de KOH 3%

Se utilizó para esta prueba una solución de KOH al 3%, portaobjetos y asa bacteriológica. Se tomó una asada de bacteria proveniente del cultivo. Se colocó en una gota de KOH 3% y se removió. El mucus bacteriano se mostró pegajoso y formó hilos al separar el asa, el resultado se consideró como Gram negativa (Fig. 2 b.).

Realización de pruebas bioquímicas

Una vez que se observó el crecimiento de la bacteria *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith y las características de tamaño, forma, superficie, color de colonia, se realizó para la caracterización específica de la bacteria una serie de pruebas bioquímicas a fin de conocer la fisiología que presentaba, es decir el tipo de enzimas que posee, de las cuales se utilizó para la fermentación de azúcares Dextrosa, Sucrosa, Manitol y Lactosa; para la hidrólisis de proteínas Indol y Gelatina, entre otras pruebas realizadas a la bacteria fueron Rojo de metilo, Voges Proskauer, Citrato, Nitritos, Almidón, movilidad y TSI (tres azúcares glucosa, lactosa, sacarosa, citrato de amonio y hierro), se procedió a inocular los medios, identificando cada uno de ellos, considerando el color que poseía cada uno de los medios, para inocular medios líquidos, se trasladó una asada de bacteria y se agitó dentro de cada tubo.

Para inocular medios sólidos con bisel, se hizo uso de aguja bacteriológica, se estrió sobre la superficie y luego se puncionó hasta el fondo de cada tubo, los medios sin bisel fueron puncionados únicamente, cada una de las pruebas se realizó 5 veces por repetido y se dejaron a temperatura de 28 °C por 24 horas, para luego de este lapso observar los resultados (Fig. 2 c.) (A. 7).



Fig. 2. a. Reactivos y colorantes utilizados para la tinción Gram, b. Mucus bacteriano se formó pegajoso y creó hilos al separar el asa de la laminilla, siendo positiva la prueba. c. Pruebas bioquímicas realizadas a *R. solanacearum*.

Realización de Pruebas de Patogenicidad (Postulados de Koch)

Se utilizaron plántulas de tomate, sembradas en macetas (5x5x5 cm.) con sustrato elaborado con suelo y bocashi, desinfectado con Hipoclorito de Sodio al 5%. A los 30-35 días de la siembra, se trasplantaron a bolsas de polietileno de, se llevaron al propagador regándolas diariamente (Fig. 3 a.).

A partir de los cultivos puros se preparó una suspensión bacteriana en agua destilada, cuando las plantas de tomate, tenían la cuarta o quinta hoja desarrollada, se inocularon, mediante la técnica por punción con jeringa estéril, en la axila de la segunda o tercera hoja extendida con la que se depositó 1 ml. de suspensión bacteriana (Fig. 3 b y c.).

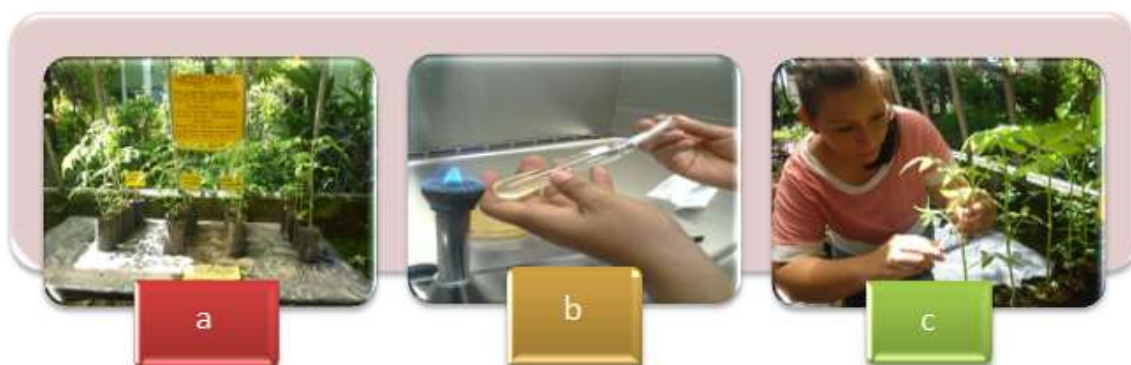


Fig. 3. a. Plántulas de tomate utilizadas en pruebas de patogenicidad b. Suspensión bacteriana de *R. solanacearum* c. Inoculación con una suspensión bacteriana por punción con jeringa estéril (1 ml).

3.2.5. Preparación de inóculo.

Se preparó un inóculo inicial del patógeno, procedente de las cajas Petri, que contenían Agar Pseudomona, de las que se tomó con el asa bacteriológica, una alícuota de bacteria y se inoculó por agitación en 18 tubos que contenían 10 ml de Caldo Nutritivo (Fig. 4 a), estos tubos se incubaron a una temperatura de 28° C durante 24 horas, esto con el fin de obtener mayor cantidad de células viables, que se usarían como inóculo inicial (Fig. 4 b.).

Una vez cumplió el tiempo de incubación se añadió la solución de cada tubo a un depósito plástico con capacidad de un litro, que contenía Caldo Tripticasa Soya, para la preparación de 1000 ml, se usó 30 g de medio y Caldo Nutritivo, para la preparación de 1000 ml se usó 8 g de medio, los depósitos una vez inoculados con la suspensión, se sellaron y se incubaron a temperatura ambiente por 72 horas (Fig. 4 c, d y e).

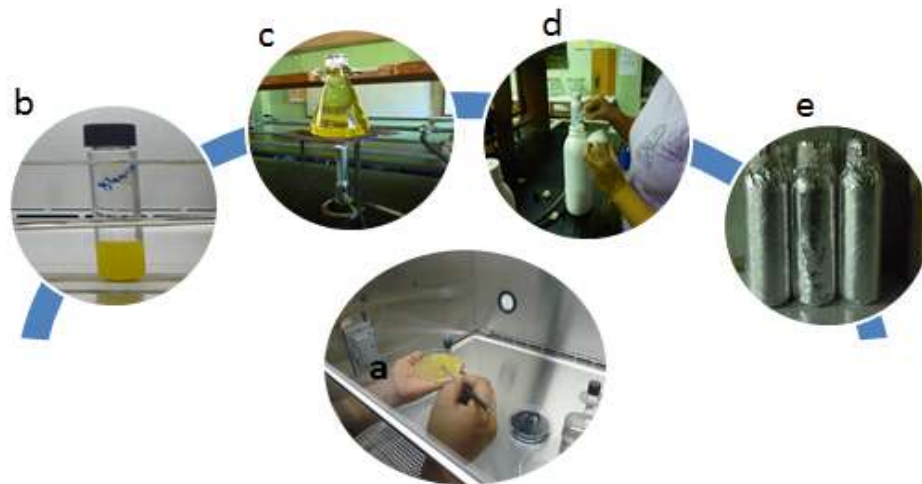


Fig. 4. a. Preparación del inóculo a partir de un inóculo inicial b. 10 ml de inóculo inicial c. Medio Caldo Nutritivo utilizado en preparación del inóculo d. Inoculación de suspensión bacteriana. e. Incubación por 72 horas a temperatura ambiente.

3.2.6. Conteo Indirecto de la suspensión utilizada como inóculo.

Para cuantificar el número de células microbianas de la suspensión utilizada como inóculo, se realizó el conteo por el método indirecto, este consistió en hacer diluciones decimales del cultivo 10^{-8} , en condiciones estériles, se colocaron 10 ml de la suspensión bacteriana, en un erlenmeyer con 90 ml de agua destilada estéril, se agito por 3 minutos, a partir del erlenmeyer agitado, se hizo 8 diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8}), considerando al erlenmeyer como la primera dilución, seguidamente con una pipeta estéril, se tomó 1 ml de la mezcla del erlenmeyer y se transfirió a un tubo con agua destilada estéril y se agitó esta mezcla fue 10^{-2} , con la misma pipeta se tomó 1 ml de la mezcla del erlenmeyer y fue depositado en una caja Petri, se agregaron 15 ml de medio PDA una vez licuado con $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ (calor tolerable al tacto) y se movió la caja describiendo un "8" para homogenizar, de igual forma hasta completar la dilución 10^{-8} , se rotularon las cajas según las diluciones aplicadas, se envolvieron en papel y se colocaron en la estufa por 24 horas a 28°C . (Fig. 5).

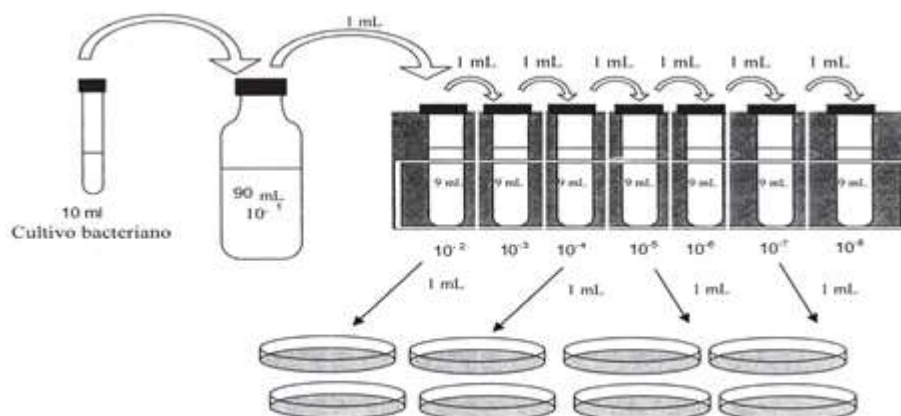


Fig. 5. Método indirecto del conteo bacteriano.

3.2.7. Inoculación de cubetas.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación del inóculo, este se transportó al área del experimento, conservando esta solución en una cadena de frío para controlar la condición del patógeno (Fig. 6 a.). El suelo de cada cubeta fue inoculado con 250 ml de una suspensión 2.5×10^9 ufc.ml⁻¹ (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum* E. F Smith, se procuró colocar cantidades iguales uniformizando al sustrato. Considerando dejar un nivel bajo y similar de humedad (Fig. 6 b y c).

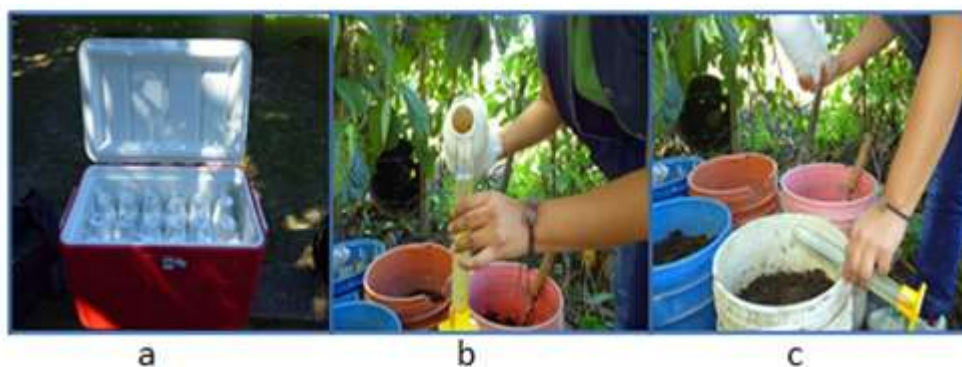


Fig. 6. a. Transporte de inóculo al área de experimento. b. 250 ml aplicado al sustrato. c. Inoculación de *R. solanacearum* al sustrato previamente esterilizado.

3.2.8 Análisis físico –químico del sustrato y enmiendas a aplicar.

Análisis físico - químico del sustrato antes y después de aplicar inóculo y después de aplicar el inóculo.

Se tomó una muestra del sustrato antes de aplicar el inóculo y otra 30 días después, se tomaron submuestras de 10 cubetas, a 10 cm. de profundidad, las submuestras se mezclaron en una cubeta limpia, se tomó 1 lb. de sustrato mezclado, se recogió en una bolsa limpia indicando el nombre, la dirección del sitio de experimento, luego se llevó al Laboratorio de Suelos del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), donde se realizó un análisis de rutina y se determinó Textura al tacto, pH en agua, y contenido de nutrientes disponibles de Fósforo y Potasio (A. 8 y 9).

Análisis físico – químico de las enmiendas a aplicar.

Se tomaron 100 g. de las enmiendas ceniza y bocashi, se llevaron las muestras al Laboratorio de Química Agrícola del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), donde se determinaron los elementos Nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y pH (A. 10 y 11).

3.2. FASE DE CAMPO.

3.3.1. Preparación y desinfección de sustrato para cubetas.

Se utilizó para la elaboración del sustrato una relación de 3:1, es decir tres partes de suelo cada cubeta contenía 30 lb. de sustrato distribuidas de la siguiente manera, tres partes de suelo (22.5 lb) y una parte de piedra pómez (7.5 lb), se preparó un volumen de 1 m³ de sustrato, se colocó también ½ lb. de carbón picado quedando en la superficie con el objetivo de conservar la humedad (Fig. 7 a.).

El sustrato se desinfectó con Metam-sodio (BL 52.2 SL®), un biocida, en una dilución de 1l. en un barril de 200 l. de agua, que se distribuyó por cubeta a razón de 2.83 l. (0.75 gal.). Luego se procedió a cubrirlos con plástico, bajo la recomendación de aplicación de 21 días antes de aplicar el inóculo, para que el producto actuara satisfactoriamente (Fig. 7 b y c.).



Fig. 7. a. Preparación del sustrato y llenado de cubetas b. desinfección química de sustrato. c. Cubetas cubiertas por 21 días.

3.3.2. Delimitación del terreno.

Se realizó una limpieza manual del terreno, luego se delimitó el área donde se colocaron las cubetas y el suelo se cubrió con polietileno termo encogible, con el fin de evitar la diseminación del patógeno mediante el agua de riego.

3.3.3. Material vegetal evaluado.

Se utilizó el híbrido de tomate Tocayo, el cual posee las siguientes características:

Cuadro 3: Descripción de las características morfológicas del híbrido:

Híbrido	Habito de crecimiento	Forma del fruto	Peso prom. (gramos)	Rendimiento	Otras características
Tocayo	Semideterminado	Bloquí alargado	90 -120 g.	25 lb.planta ⁻¹	Susceptible a nemátodos Buenas ramificaciones Larga vida de anaquel No es tolerante, ni resistente a marchitez bacteriana.

Elaboración de sustrato y siembra:

Para la elaboración de los plantines se preparó el sustrato dos semanas antes, contenía 50% de suelo, 25% de lombriabono y 25% de bocashi, utilizando bandejas de 128 celdas, se sembraron dos semillas por celda, seleccionando al final la mejor plántula para su evaluación.

Manejo de semillero - plantín

Las plántulas se fertilizaron a los 8 días después de la emergencia (dde) con Bayfolan en una dosis de 5cc⁻¹l. de agua, se aplicó el fungicida Carbendazim e Imidacloprid (insecticida) en dosis de 1 cc⁻¹l. de agua, repitiendo a los 15 (dde) y a los 21 (dde) para prevenir la posible presencia de plagas y enfermedades El suelo se mantuvo a capacidad de campo, lo cual requirió hacer el riego cada dos o tres días.

Trasplante

El trasplante se realizó a los 28 días después de la emergencia, las plántulas tenían una altura de 15 cm. y un grosor de 1 cm; al momento del trasplante se aplicó la solución arrancadora (250cc⁻¹planta) constituida por la fórmula 18-46-0 (5 lb diluidas en 200 litros de agua).

3.3.4. Aplicación de tratamientos.

Las enmiendas Sulfato de calcio (CaSO₄), bocashi y ceniza, se aplicaron 30 días después de la inoculación, 15 días después se aplicó el bactericida sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri- Gent®) para realizar el trasplante se esperaron 15 días posteriores a la aplicación del bactericida; esto para permitirles que tuvieran una descomposición completa y potenciar su efecto supresivo de la marchitez bacteriana, así como evitar riesgos de posibles efectos fitotóxicos de las enmiendas y químicos sobre el cultivo (Fig. 8).



Fig. 8. a. Aplicación de Sulfato de calcio al sustrato b. Aplicación de ceniza en dos diferentes dosis c. Aplicación de bocashi en dos diferentes dosis. d. Aplicación del bactericida 15 días antes del trasplante.

3.3.5. Fertilización.

La fertilización del cultivo se llevó a cabo mediante fertirriego, utilizando fertilizantes hidrosolubles según la fenología del cultivo. Los fertilizantes que se utilizaron son las siguientes fórmulas:

Inicio	20+30+10+Mg+S (Solufeed Inicio) 0.75 lb.8 l ⁻¹ de agua
Desarrollo	22+11+22+Mg+S (Solufeed Desarrollo) 1 lb.8 l ⁻¹ de agua
Floración	12+20+30+Mg (Solufeed Floración) 1 lb.8 l ⁻¹ de agua
Maduración	10+10+40+S (Solufeed Maduración) 1 lb.8 l ⁻¹ de agua

La fertilización se realizó a partir de la primera semana después del trasplante, con una frecuencia de tres veces por semana, los productos se utilizaron dependiendo la etapa vegetativa de la planta (Fig. 9).



Fig. 9. Programa de fertilización del cultivo de tomate.

3.3.6. Labores culturales.

Manejo de plagas y enfermedades

Se realizó un monitoreo semanal de plagas y enfermedades para tomar una acción preventiva.

Cuadro 4. Control preventivo fitosanitario de plagas y enfermedades.

Nombre Comercial	Ingrediente activo	Clase	Modo de acción	Dosis	Momento de aplicación
BL® 51.2 SL	Ditiocarbamato Metam sodio.	Fumigante Biocida	Gas	1 l ⁻¹ 200 H ₂ O	Al sustrato o al suelo 21 dat
Confidor® 70 WG	Imidacloprid	Insecticida	Sistémico, Contacto, Ingestión	3 g.gal ⁻¹ H ₂ O	Trasplante
Agri-Gent® Plus 8 WP (Tratamiento)	Sulfato de Gentamicina, Clorhidrato de Oxitetraciclina.	Bactericida	Sistémico	7.5 g.gal ⁻¹ H ₂ O	3 ddt
Monarca® 11.25 SE	Beta- Cyfluthrin	Insecticida	Sistémico, Contacto, Ingestión	5 g.gal ⁻¹ H ₂ O	15 ddt con intervalo de 15 días (2-3 aplicaciones)
Derosal® 50 SC	Carbendazim	Fungicida	Sistémico	5 cc.gal ⁻¹ H ₂ O	15 ddt con intervalo de 15 días (2-3 aplicaciones)*

dat=Días antes del trasplante. ddt= Días después del trasplante.

Manejo de malezas

Para evitar que las malezas compitieran por agua, luz, nutrientes y espacio físico, y permitieran la presencia de plagas, se realizó una limpieza manual de malezas, que se hizo una vez por semana.

Riego

El riego se aportó al cultivo de tomate de forma manual, se realizaba tres veces por semana previo a la fertilización y se aplicó 2 litros por cubeta a mantener el suelo a capacidad de campo.

Aporco

Se realizó entre los 25 y 35 días después del trasplante; lográndose una mayor fijación de las plantas al suelo y ayudo a eliminar malezas. Durante el ciclo del cultivo posteriormente se hicieron dos aporcocos más.

3.3. Toma de Datos.

La toma de datos se realizó cada cuatro días durante todo el ciclo del cultivo, se realizaron observaciones con el objetivo de detectar síntomas de la enfermedad bacteriana en las plantas:

Severidad (o Intensidad)

Se refiere al *nivel promedio de enfermedad de una unidad*. Se lo expresa como el área o volumen de tejido vegetal que está enfermo, usualmente en referencia al área o volumen total (en % y en grados de severidad). Es una *medida cuantitativa*.

Para ello se hizo uso de la escala de severidad propuesta por Kempe y Sequeira (1983), donde los grados de severidad de la enfermedad se describen de la siguiente manera:

- 0: planta sin síntomas;
- 1: 0-25% en promedio de la planta con marchitez;
- 2: 25-50% de planta con marchitez;
- 3: 50-75% de planta con marchitez y
- 4: del 75 al 100% de la planta con marchitez.

Estos se ajustan a la escala propuesta por Rivas (2013), quien la fundamenta por su experiencia en la aparición de los síntomas del cultivo, cabe mencionar que las escalas de severidad son relativas de acuerdo al autor o investigador. Esta escala subjetiva de severidad describe cada grado de la siguiente manera (A.12).

- 0: Planta sin síntomas;
- 1: Marchitez leve;
- 2: Marchitez moderada;
- 3: Marchitez severa y
- 4: Planta muerta por marchitamiento.

Incidencia o Frecuencia de la enfermedad

Incidencia es la *proporción (o porcentaje) de unidades enfermas*. Las unidades pueden ser plantas completas u órganos (tallos, raíces, frutos, etc.). Es una *medida cualitativa*.

$$I (\%) = \frac{\text{Número de unidades enfermas}}{\text{Número total de unidad}} (x 100)$$

Área bajo la curva de progreso de la enfermedad

La curva de progreso de la enfermedad (CPE) es una representación gráfica de la intensidad de la enfermedad en función del tiempo.

A través de estas curvas se pueden caracterizar las interacciones entre el patógeno, el hospedante y el ambiente, evaluar estrategias de control, y estimar niveles que alcanzará 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. Mediante la fórmula:

$$ABCPE = [\sum [Y_{i+1} + Y_i] / 2 (t_2 - t_1)]$$

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.

Además se evaluaron las variables altura de la planta y número de hojas, para apreciar el efecto que tenían las diferentes enmiendas en el crecimiento de las plantas de tomate.

3.4 Análisis de pH final del sustrato con enmiendas utilizado en la investigación

Al finalizar la investigación se tomaron 100 gr. de sustrato por tratamiento para analizar el cambio de pH, de acuerdo a la aplicación de las enmiendas respectivas para cada tratamiento.

3.5. Metodología Estadística.

La investigación se desarrolló bajo un diseño completamente al azar, con un factor en estudio constituido por las enmiendas y los tratamientos compuestos por las diferentes dosis; se aplicaron siete tratamientos con ocho repeticiones y cada tratamiento estuvo constituido por ocho cubetas que formaron la unidad experimental, cada una contenía una planta de tomate que se consideraron como unidades de muestreo (Fig. 10).

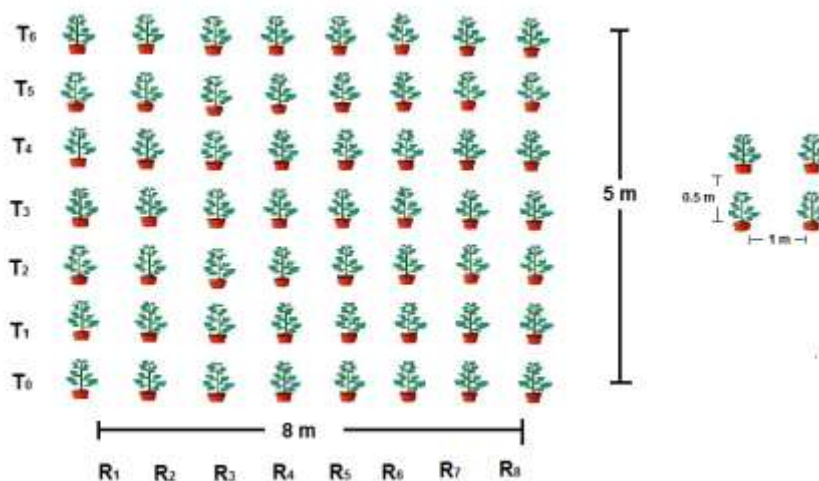


Fig. 10. Mapa de campo de la investigación.

Tratamientos en estudio.

T₀ = Testigo absoluto

T₁ = Sulfato de Calcio ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 9 gr. cubeta⁻¹

T₂ = Ceniza 4 onz. cubeta⁻¹

T₃ = Ceniza 6 onz. cubeta⁻¹

T₄ = Bocashi 6 onz. cubeta⁻¹

T₅ = Bocashi 9 onz. cubeta⁻¹

T₆ = Sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri-Gent®)

Los resultados obtenidos de los diferentes análisis de varianza, se sometieron al rigor de la prueba estadística Tukey y de esta forma se determinó el mejor tratamiento, apoyándose del programa SAS v. 9.1.

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = Característica bajo estudio observada en la parcela j donde se aplicó el tratamiento.

μ = Media general del experimento.

T = Efecto del tratamiento i

E_{ij} = Error Experimental o variable aleatoria en la celda (ij)

Cuadro 5. Tabla de análisis de varianza

Fuente de variación	G.L	S.C.	C.M.	Fcal
Tratamiento	a-1	$\sum Y_i^2 - FC$	S.C Trat/ a-1	C.M Trat/C. M. Error
Error Experimental	a (n-1)	S.C. Total- S. C Trat.	S.C E. Exp. / a (n-1)	
TOTAL	a (n-1)	$\sum \sum Y_{ij}^2 - FC$		

Fuente: Nuila 2009.

Niveles de Significancia

Para la investigación se utilizó un nivel de significancia del 1%, ya que hay aproximadamente una ocasión en 100 en que se rechazaría la hipótesis cuando debería ser aceptada, es decir, se está con un 95% de confianza.

3.6. Metodología Económica

Para el análisis económico se utilizó la metodología propuesta por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y la modificación de esta por Ramírez (1994) la cual se fundamenta, en elaborar un presupuesto parcial, determinando los costos que varían por tratamiento, realizar un presupuesto de beneficio neto en el que se comparó la tecnología propuesta contra la realizada por el productor.

El presupuesto parcial de beneficio neto se puede establecer de acuerdo a:

- 1) Los ingresos brutos extraordinarios o entradas incrementales que son consecuencia del cambio propuesto.
- 2) Los gastos o costos economizados como consecuencia de dicho cambio tecnológico.

Seguidamente se deben enumerar y cuantificar los costos diferenciales que se pueden clasificar en dos categorías:

- 1) Los gastos o costos extras que se producen por causa del cambio propuesto.
- 2) Ingresos o entradas de las que se prescinde como consecuencia de implementar la nueva tecnología.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Aislamiento de *Ralstonia solanacearum*.

En el aislamiento de *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, se encontraron las siguientes características macroscópicas: colonias fluidas con aspecto mucoso, debido a la producción de polisacárido extracelular (EPS); color blancuzco, de consistencia lisa y de forma redonda e irregular. Los resultados de este aislamiento confirman que es la bacteria en estudio, pues, coinciden con las descripciones, realizadas por Hernández y Bustamante (2001), (Fig. 11).



Fig. 11. a. Caldo bacteriano con presencia de turbidez b. crecimiento bacteriano en medio de Agar Cetrimide.

4.2. Pruebas de patogenicidad.

Las plantas que se tenían en el propagador, presentaron la sintomatología típica de la enfermedad: marchitez repentina, epinastia de hojas y tallos oscuros entre otros; mostrándolos a los tres días de haber sido inoculadas, y murieron totalmente por la enfermedad a los cinco días después de haber sido inoculadas. Los síntomas y las características anteriormente descritas, coincidieron con los trabajos publicados por Oberon (2009), quien después de realizar inoculaciones en plantas de la misma especie, bajo condiciones controladas, las plantas desarrollaron síntomas, al segundo día después de la inoculación. Luego comenzó con epinastia de las hojas más jóvenes, seguidas de marchitamiento repentino, y finalmente las plantas murieron al cuarto o quinto día posterior a la inyección (Fig. 12).



Fig. 12. Plantas de tomate inoculadas mostraron los síntomas de marchitez bacteriana.

4.3. Pruebas bioquímicas para la caracterización del patógeno

Las pruebas bioquímicas para caracterizar *Ralstonia solanacearum*, resultaron similares a las descritas por investigadores como (Goszczyńska *et al.* citado por Rodríguez 2007), quien menciona que esta bacteria es Gram negativa; reacciona a prueba de citrato Simmons positiva, reducción de nitratos positiva e hidrólisis de almidón negativa. Según Schaad (1988); Lelliott, y Stead (1987), esta bacteria no presenta pigmentos fotosintéticos lo que diferencia de las bacterias, no púrpura no sulfurosas, indol negativo, rojo de metilo negativo, Voges-Proskauer negativo. Según la fermentación de azúcares, cabe mencionar que se han clasificado cuatro biotipos de la bacteria (I, II, III, IV) y la raza 1, que ataca al tomate y solanáceas como la berenjena, el tabaco, chile y papa. Se relaciona a los biotipos (I, III y IV), lo que concuerda por reaccionar a las azúcares lactosa positiva y manitol positiva (Rodríguez 2007).

4.4. Conteo indirecto de la suspensión utilizada como inóculo

Transcurridas 24 horas de incubación, se tomaron las cajas Petri con la inoculación 10^8 , como se realizó por triplicado, se calculó un promedio. Obteniendo un número exponencial de 2.5×10^9 ufc/ml (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum* E. F Smith (Fig. 22). Lo anterior, concuerda con inoculaciones realizadas por Hernández y Bustamante (2001), quienes colocaron una suspensión con 10^8 ufc/ml (Fig. 13).



Fig. 13. Dilución 10^8 en el que se obtuvo un conteo promedio de 2.5×10^9 ufc/ml

4.5. Resultados de análisis físico-químico del sustrato utilizado en el ensayo.

El sustrato tenía una textura franco – arenoso, un pH en agua de 6.8, el fósforo se presentaba en valores muy altos (479 mg.Kg^{-1} o ppm), y una cantidad de potasio muy baja (40 mg.Kg^{-1} o ppm) (A 7).

4.6. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato, sobre las variables altura promedio de plantas (cm).

Estadísticamente, se observaron diferencias altamente significativas para la variable altura promedio (Cuadro 6), es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato, produjeron diferentes efectos en la altura promedio de las plantas de tomate. Presentando los mejores efectos el tratamiento T5 (Bocashi dosis 9 onz.), con una media igual a 1.620 y el T2 (Ceniza 4 onz.) con una media igual a 1.592; seguidos de los tratamientos T4 (Bocashi 6 onz.), T6 (Bactericida a base de sulfato de gentamicina), T3 (Ceniza 6 onz.), T1 (Sulfato de calcio) y T0 (Testigo), respectivamente (Cuadro 7) (Fig. 14) (A. 13).

Según Hernández y Bustamante (2001), quienes utilizaron sustratos enmendados con broza de café, cachaza, bocashi, compost en dos dosis, combinaciones entre broza+bocashi, broza+cachaza, cachaza+bocashi y broza+cachaza+bocashi; después de la inoculación con la bacteria *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, encontraron diferencias estadísticas para la variable altura de las plantas entre tratamientos que incluyeron bocashi.

Tábora citado por Gómez (2001) reporta que el Bocashi contiene gran cantidad de sustancias como vitaminas, enzimas, hormonas, entre otras, las cuales pueden ser utilizadas por las plantas como estimuladoras del crecimiento.

El bocashi es un abono orgánico, que mejora las características físicas, químicas y biológicas del suelo; lo que beneficia de gran manera la nutrición de la planta. El aporte no solo de macro y micronutrientes, enriquece de tal manera que suplen el desarrollo de la planta.

Cuadro 6. Análisis de varianza para la variable altura promedio en centímetros. de plantas de tomate.

C.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal.	Ftab.
Tratamiento	6	0.0289	0.00482	3.56	<0.0001
Error	9	2.6842	0.29824	220.26	0.0048
Total	15	2.7131			

Cuadro 7. Comparación de medias de los tratamientos para la variable altura promedio de plantas de tomate.

Tratamientos	T5	T2	T4	T6	T3	T1	T0
Medias	1.620	1.592	1.591	1.587	1.569	1.562	1.556
Calificaciones	a	a	a b	a b	b	b	b

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestran resultados estadísticamente diferentes.

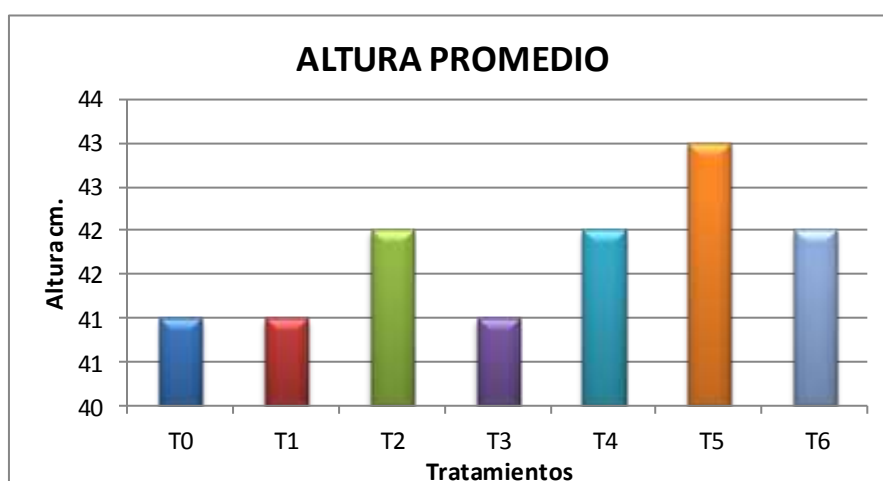


Fig. 14. Efecto de tratamientos para la variable altura promedio de plantas de tomate.

4.7. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre la variable número de hojas promedio en las plantas.

Estadísticamente, se observaron diferencias altamente significativas, para la variable número de hojas promedio (Cuadro 8); es decir que los tratamientos produjeron diferentes efectos sobre el número de hojas promedio, de las plantas de tomate. Presentando los mejores efectos el T5 (Bocashi 9 onz.) con una media igual a 12.4, seguido de los tratamientos T4 (Bocashi 6 onz.), T2 (Ceniza 4 onz.), T6 (Sulfato de gentamicina) T3 (Ceniza 6 onz.), T1 (Sulfato de calcio) y T0 (Testigo), respectivamente (Cuadro 9 y Fig. 15) (A.14).

Cuadro 8. Análisis de varianza para la variable número de hojas promedio de plantas.

C.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal.	Ftab.
Tratamiento	6	10	1.666	4.09	<0.0001
Error	9	1430.70	158.96	390.19	0.0019
Total	15	1440.70			

Cuadro 9. Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable número de hojas promedio de plantas.

Tratamientos	T5	T4	T2	T6	T3	T1	T0
Medias	12.4	12.0	11.7	11.7	11.6	11.3	11.2
Calificación	a	a b	a b	a b	a b	b	b

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestran resultados estadísticamente diferentes.

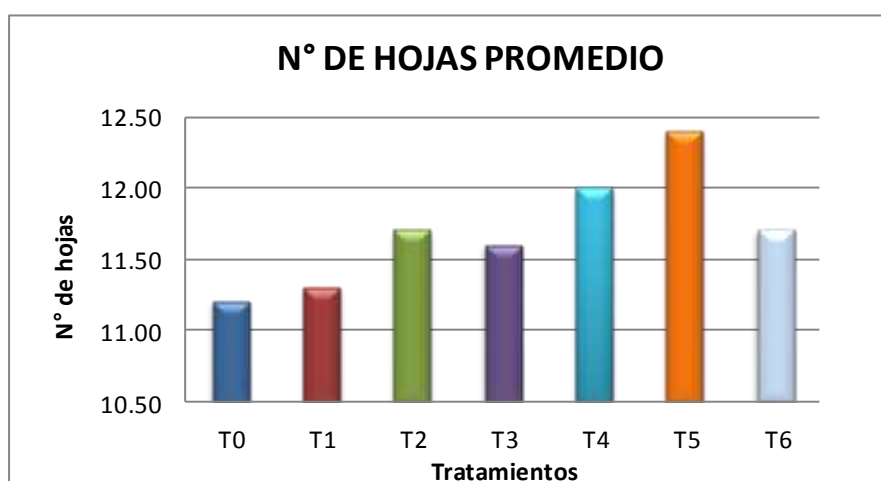


Fig. 15. Efecto de los tratamientos sobre la variable número de hojas promedio de plantas de tomate.

4.8. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre la severidad de la enfermedad.

Estadísticamente, se observaron diferencias altamente significativas para la variable grado de severidad de la enfermedad (Cuadro 10); es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato produjeron diferentes efectos, en la severidad de la enfermedad de las plantas del cultivo de tomate. Presentando los mejores efectos el tratamiento T5 (Bocashi 9 onz.) con una media igual a 1.0 grado de severidad, seguido de los tratamientos T6 (sulfato de gentamicina), T4 (Bocashi 6 onz.), T3 (ceniza 6 onz.) T2 (Ceniza, 4 onz.), T1 (sulfato de calcio) y T0 (Testigo), respectivamente (Cuadro 11) (Fig. 16) (A.15).

De acuerdo a la escala de severidad de Rivas (2013), la presencia de marchitez leve en la planta (grado 1), se comenzó a observar a partir de la primera semana del trasplante en el T0 (testigo) y T1 (Sulfato de calcio); a partir de la cuarta semana de trasplante T2 (Ceniza 4 onz.), a partir de la sexta semana después del trasplante T3 (Ceniza 6 onz.), T4 (Bocashi 6 onz.) y T6 (Bactericida) y a partir de la séptima semana después del trasplante T5 (Bocashi 9 onz.). Partiendo de este tiempo, los tratamientos presentaron diferentes grados de severidad cada semana, hasta llegar a la muerte por marchitez (grado 4) respectivamente (Fig. 16).

En la investigación pudo determinarse que el efecto del T5 (Bocashi 9 onz.); sobre el manejo de marchitez bacteriana, y la reducción de la severidad de la enfermedad en las plantas, se atribuye a que este aporta en una buena proporción, materia orgánica, y microorganismos que mantienen un equilibrio entre las poblaciones de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, además de liberar sustancias inhibitoras para la bacteria en el proceso de mineralización.

Los resultados obtenidos en esta investigación coincidieron con las descripciones de trabajos publicados por: Artega y Avendaño (2004), que encontraron que el 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, y estos contenidos pueden influir en la permanencia de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, 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; Hernández y Bustamante (2001), quienes mencionan que el abono bocashi, mantienen un efecto

supresivo sobre la marchitez bacterial, mediante una relación directa (presencia de antagonistas, de sustancias con efecto antibiótico, competencia de microorganismos por espacio y nutrientes, otros), o indirecta (mejorando condición nutricional de las plantas); actuando como fuente de bacterias antagonistas al patógeno, y confirmando ser una buena opción para reducir el inóculo del patógeno en ausencia del hospedante.

Para las variables severidad, incidencia y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), las medias se analizaron de manera inversa a las variables anteriores, considerando así los mejores tratamientos aquellos que presentaron menor valor de media.

Cuadro 10. Análisis de varianza para la variable grado de severidad de la enfermedad.

C.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal.	Ftab.
Tratamiento	6	60.34	10.05	16.70	< 0.0001
Error	9	117.08	13.00	21.61	< 0.0001
Total	15	177.42			

Cuadro 11. Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable grado de severidad de la enfermedad.

Tratamiento	T5	T6	T4	T3	T2	T1	T0
Medias	1.0	1.4	1.4	1.4	2.2	3.4	3.4
Calificación	a	a b	a b	a b	b	b	b

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestran resultados estadísticamente diferentes.

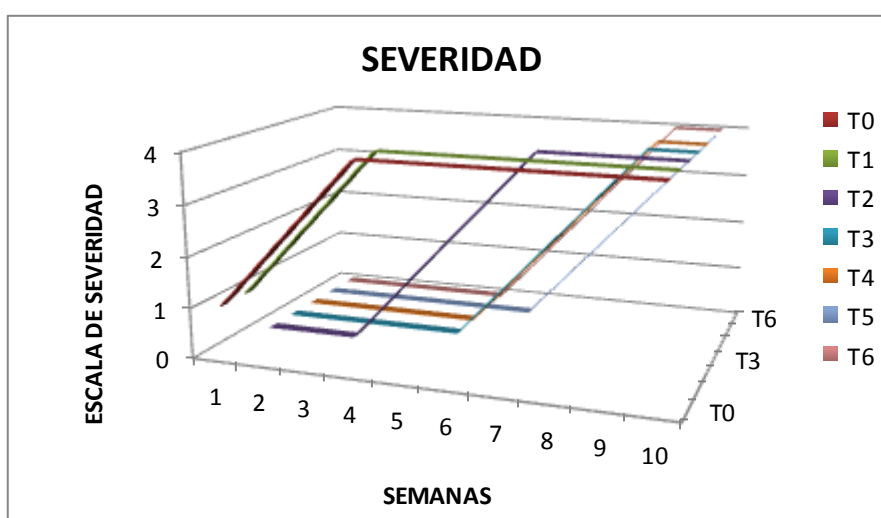


Fig.16. Efecto de los tratamientos sobre la variable severidad de la enfermedad.

4.9. Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre las variables incidencia y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).

Incidencia.

Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas, para la variable porcentaje de incidencia (Cuadro 12), es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato produjeron diferentes efectos en el porcentaje de incidencia de la enfermedad. Presentando los mejores resultados el tratamiento T2 (Ceniza, 4 onz.), con una media igual a 12.5%; seguido de los tratamientos T5 (bocashi 9 onz.), T6 (Sulfato de gentamicina), T4 (Bocashi 6 onz.) T3 (ceniza 6 onz.), T1 (sulfato de calcio) y T0 (Testigo) (Cuadro 13 y Fig. 17) (A. 15).

Según la Figura 20, se observa que el tratamiento T0 (Testigo), inicia la incidencia de la marchitez bacteriana, a partir de la primera semana con un 25% incrementándose hasta la tercera semana, en donde la incidencia logra su punto de estabilidad; seguido del T1 (Sulfato de Calcio), en el que inicio el aparecimiento de la incidencia de la enfermedad, a partir de la primera semana con un 25% incrementándose hasta la tercera semana, en donde logra su punto de estabilidad, seguido del T2 (Ceniza 4 onz.), que inicio el aparecimiento de la marchitez bacteriana, a partir de la cuarta semana, con un 12.5% manteniéndose su estabilidad, seguido del T3 (Ceniza 6 onz.) cuya incidencia de la marchitez bacteriana, inició a partir de la sexta semana con un 37.5%; donde la enfermedad logra su punto de estabilidad, seguido del T4 (Bocashi 6 onz.) y T6 (Sulfato de gentamicina) en los cuales el aparecimiento de la marchitez bacteriana, inició a partir de la sexta semana con un 25%, hasta lograr su punto de estabilidad; y finalmente el T5 (Bocashi 9 onz.) que inició el aparecimiento de la marchitez bacteriana a partir de la séptima semana con un 25%, donde la enfermedad logra su punto de estabilidad. Sin embargo el tratamiento con el menor porcentaje de incidencia fue el tratamiento T2 (Ceniza 4 onz.), con un 12.5%, siendo este el nivel más bajo en la proporción de unidades afectadas por la enfermedad (Cuadro 13).

Cuadro 12: Análisis de varianza para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.

C.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal.	Ftab.
Tratamiento	6	11.50	1.918	12.40	< 0.0001
Error	9	14.79	1.643	10.62	< 0.0001
Total	15	26.29			

Cuadro 13: Comparación de medias de los tratamientos para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.

Tratamientos	T2	T5	T6	T4	T3	T1	T0
Medias	12.5%	25%	25%	25%	37.5%	37.5%	45%
Calificación	a	a b	a b	a b	b	b	b

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestran resultados estadísticamente diferentes.

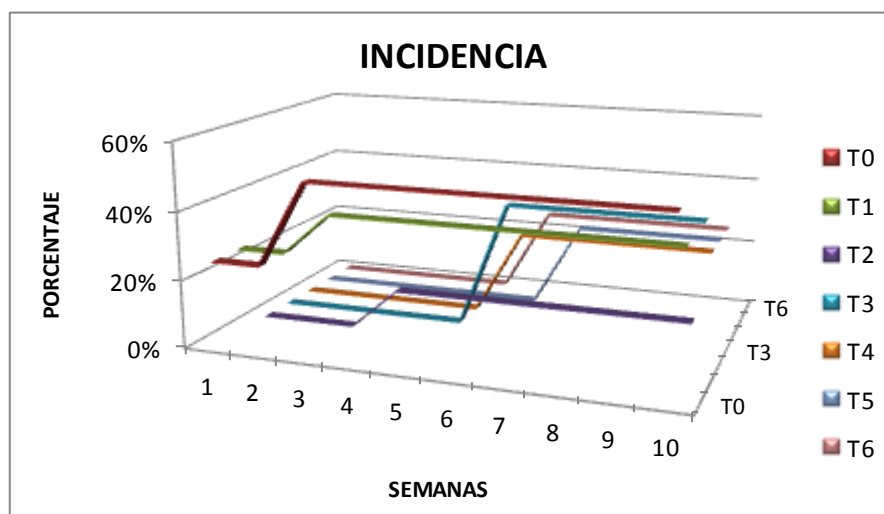


Fig. 17. Efecto de los tratamientos sobre la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.

Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE).

En la figura 18, se observa que en el tratamiento T0 (Testigo), el apareamiento de la marchitez bacteriana, es a partir de la primera semana con 0.25 UE; incrementándose hasta la tercera semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad; seguido del T1 (Sulfato de Calcio), que inició el apareamiento de la marchitez bacteriana, a partir de la primera semana con 0.25 UE; incrementándose hasta la tercera semana, en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad; seguido del T2 (Ceniza 4 onz.), que inició el apareamiento de la marchitez bacteriana, a partir de la tercera semana con 0.125 UE; incrementándose hasta la cuarta semana, en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad; seguido del T3 (Ceniza 6 onz.), que inició el apareamiento de la marchitez bacteriana, a partir de la cuarta semana con 0.375 UE; incrementándose hasta la quinta semana, en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad; seguido del T4 (Bocashi 6 onz.) y T6 (Sulfato de gentamicina) quienes iniciaron el apareamiento de la marchitez bacteriana, a partir de la cuarta semana con 0.25 UE incrementándose hasta la quinta semana, en donde la enfermedad logran su punto de estabilidad y finalmente el T5 (Bocashi 9 onz.), que inició el apareamiento de la marchitez bacteriana a partir de la quinta semana con 0.375 UE; incrementándose hasta la sexta semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad. Sin embargo el tratamiento con el menor

promedio de Área Bajo la Curva del Progreso de enfermedad fue el T2 (Ceniza 4 onz.), con un 0.75 de unidades de enfermedad siendo este, el nivel más bajo en la tasa de desarrollo de la enfermedad (Cuadro 14) (A.15).

Cuadro 14. Comparaciones de unidades de enfermedad calculadas por tratamiento para observar el ABCPE.

Tratamientos	T2	T5	T6	T4	T3	T1	T0
Unidades de enfermedad	0.75	1.0	1.25	1.25	1.875	3.187	4.125
Calificación	a	a	a b	a b	b	b	b

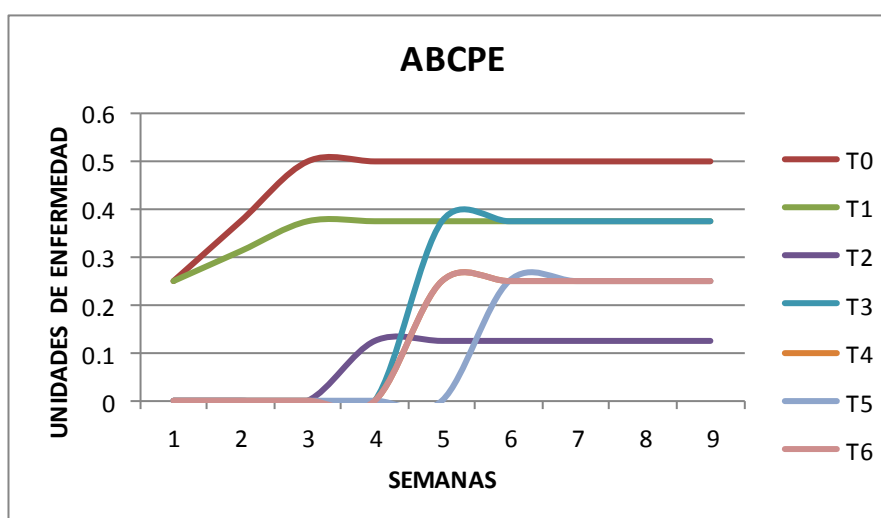


Fig. 18. Efecto de los tratamientos sobre la variable ABCPE.

Para las variables % de incidencia de la enfermedad, y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), el tratamiento que presentó los mejores resultados fue el T2 (Ceniza 4 onz.); en la actualidad no existen otras investigaciones en las que se utilice ceniza para prevenir la marchitez bacteriana, *R. solanacearum* en tomate. Sin embargo ésta, ha sido utilizada por muchos años por los productores de forma práctica obteniendo muy buenos resultados.

Los beneficios de la ceniza en la prevención de enfermedades, es debido a que ésta al entrar en contacto con la solución del suelo; libera óxidos, hidróxidos y carbonatos, por lo que el material presenta un fuerte carácter alcalino; estas sales minerales inhiben la acción de bacterias.

El MIP (Manejo Integrado de Plagas), está proponiendo nuevas alternativas en conjunto, que incluyen el uso de ceniza y cal agrícola, para la prevención de enfermedades fúngicas y bacterianas (Castro 2007).

Según Castro (2007), éstos productos se encuentran disponibles en las comunidades, y deben aprovecharse al máximo, para controlar algunas enfermedades que afectan a la mayoría de cultivos; lo que convierte a estos materiales, en opciones para disminuir el daño causado, reducir costos de producción y daños al medio ambiente por el uso excesivo de productos peligrosos.

4.10. Análisis de pH del sustrato para cada tratamiento

Hernández y Bustamante (2001), utilizando bocashi como enmendante, para prevenir la marchitez bacteriana en tomate, obtuvieron un cambio de pH de un suelo estéril utilizado como testigo de 5.8, y el tratamiento suelo estéril más bocashi de 7.5; es decir que se modificó 1.7 unidades a lo que se le atribuye como mejor tratamiento.

Solla Gullón *et. al.* (2001), quienes utilizaron ceniza como enmendante de un suelo ácido, encontraron diferencias entre el tratamiento control de 4.7 y el tratamiento que contenía $10 \text{ Tm}^{-1}\text{Ha}$ de ceniza de 5.6, y el que se le aplicó $30 \text{ Tm}^{-1} \text{ Ha}$ de ceniza de 6.4, es decir que aumentaron el valor de pH del suelo en 0,9 y 1,7 unidades.

Todos los tratamientos donde se aplicaron enmiendas, aumentaron el pH del sustrato, con la excepción del sustrato enmendado con sulfato de calcio, cuyo valor de pH fue similar que el tratamiento testigo. Si bien es cierto no puede asumirse una relación directa, entre el pH y la severidad, incidencia y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), en esta investigación. Descripciones de la bacteria en estudio revelan que el pH del suelo, juega un papel muy importante con las condiciones de supervivencia del patógeno, definiendo como suelos adecuados para *R. solanacearum*, aquellos con pH 6,0 y menos favorables para el patógeno los suelos con pH iguales o mayores a 7,0.

Cuadro 15: Resultados del análisis de pH del sustrato de cada tratamiento.

Tratamientos	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Enmienda	Testigo	Sulfato de calcio	Ceniza 4 onz.	Ceniza 6 onz.	Bocashi 6 onz.	Bocashi 9 onz.	Sulfato de gentamicina
pH	6.2	6.2	7.3	7.1	7.0	7.2	7.0

4.11. Resultados Económicos

En toda investigación, es importante acompañar al análisis estadístico, de un análisis económico, para permitir al productor, la opción de adoptar una tecnología propuesta por el investigador, a través de la demostración de los beneficios netos que pueda generar.

Razón por la cual se presentan a continuación, el análisis económico de la investigación, aplicando propuesto por el CYMMIT (Centro de Mejoramiento de Maíz y Trigo), y su modificación por Ramírez (1994), el cual se fundamenta en el análisis de presupuesto parcial y un análisis de presupuesto parcial de beneficio neto.

Estos datos y sus resultados, tienen como objetivo evaluar los tratamientos con base en los beneficios netos, asociados a cada uno de ellos.

El rendimiento medio fue de 25 lb.planta⁻¹, este valor se redujo en un 15% debido a pérdidas por plagas y enfermedades y daños mecánicos en la planta, quedando un rendimiento de 21 lb.planta⁻¹.

Rendimiento ajustado es de 10%: 5% por ser la parcela más pequeña que la del productor, 5% la cosecha se realizó con más cuidado.

El precio de cosecha que se maneja actualmente es de USD \$ 7.00 la cajilla de tomate de 50 lb.

El beneficio bruto o ingreso bruto, se calcula multiplicando el precio de campo, por el rendimiento ajustado.

Los costos que varían por tratamiento, para tal caso únicamente resulto variante la enmienda.

Para el análisis económico, y la determinación del tratamiento con la mejor relación beneficio-costos, se compararon las tecnologías propuestas, con las tecnologías que

actualmente utiliza el productor (Testigo); resultando el mejor beneficio y el menor costo, la alternativa propuesta T₂ (Ceniza 112 gr.), con un beneficio neto de **\$12.67**; un beneficio bruto de **\$18.52** y un costo de **\$6.90**; mientras que el testigo tuvo un beneficio bruto de **\$15.87**, y un costo de **\$16.92**, respectivamente; siendo así la mejor alternativa para la prevención, de la enfermedad obteniendo el menor porcentaje de incidencia 12.5%, es decir que de ocho plantas una resulto afectada, lo que redujo su rendimiento únicamente en un 11.8%, en comparación con el testigo que tuvo una incidencia del 25%, reduciendo su rendimiento en un 24.66%, en comparación con la tecnología utilizada por el productor, Agri-Gent® con la que se incurre en más costos (Cuadro 16, 18 y Fig. 20).

Cuadro 16: Presupuesto parcial de los tratamientos.

CONCEPTO	TRATAMIENTOS						
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
Rendimiento medio (lb/tra)	84	105	145	105	126	126	126
Rendimiento ajustado (lb/tra)	75.6	94.5	132.3	94.5	113.4	113.4	113.4
Beneficios brutos campo (\$/tra)	10.5	13.23	18.52	13.23	15.87	15.87	15.87
Costo de enmiendas + sustrato		1.91	1.90	1.95	1.92	1.97	1.92
Costo de aplicación		5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	15.00
Total de costos que varían (\$/tra)		6.91	6.90	6.95	6.92	6.97	16.92

Cuadro 17: Presupuesto parcial de beneficio neto para el T₁ (sulfato de calcio) comparado con el T₆ (Testigo relativo: Bactericida).

Ganancias o ingresos adicionales	USD \$
Ingresos adicionales	13.23
Disminución de costos	16.92
(A) Total de ingresos adicionales	30.15
Costos adicionales	
Costos adicionales	6.91
Disminución de ingresos	15.87
(B) Total de costos adicionales	22.78
Cambio en el Ingreso Neto (A - B)	(30.15 - 22.78) = 7.37

Por lo tanto, el cambio propuesto para el T₁ (Sulfato de calcio) es rentable y produce un aumento en el **ingreso neto**, que al utilizar la alternativa T₆ (Testigo relativo: Bactericida) de USD \$ 7.37.

Cuadro 18: Presupuesto parcial de beneficio neto para el T2 (Ceniza 4 onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).

Ganancias o ingresos adicionales	USD \$
Ingresos adicionales	18.52
Disminución de costos	16.92
(C) Total de ingresos adicionales	35.44
Costos adicionales	
Costos adicionales	6.90
Disminución de ingresos	15.87
(D) Total de costos adicionales	22.77
Cambio en el Ingreso Neto (C - D)	(35.44 – 22.77) = 12.67

Por lo tanto, el cambio propuesto si se aplica T2 (Ceniza 4 onz.), es rentable y produce un aumento en el **ingreso neto**, que al utilizar la alternativa T6 (Testigo relativo: Bactericida) de USD \$ 12.67.

Cuadro 19: Presupuesto parcial de beneficio neto para el T3 (Ceniza 6onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).

Ganancias o ingresos adicionales	USD \$
Ingresos adicionales	13.23
Disminución de costos	16.92
(E) Total de ingresos adicionales	30.15
Costos adicionales	
Costos adicionales	6.95
Disminución de ingresos	15.87
(F) Total de costos adicionales	22.82
Cambio en el Ingreso Neto (E - F)	(30.15 – 22.82) = 7.33

Por lo tanto, el cambio propuesto al utilizar el T3 (Ceniza 6onz.), es rentable y produce un aumento en el **ingreso neto**, que al utilizar la alternativa T6 (Testigo relativo: Bactericida) de USD \$ 7.33.

Cuadro 20: Presupuesto parcial de beneficio neto para el T4 (Bocashi 6 onz.) comparado con el T0 (Testigo).

Ganancias o ingresos adicionales	USD \$
1. Ingresos adicionales	15.87
2. Disminución de costos	16.92
(G) Total de ingresos adicionales	32.95
Costos adicionales	
1. Costos adicionales	6.92
2. Disminución de ingresos	15.87
(H) Total de costos adicionales	22.75
Cambio en el Ingreso Neto (G - H)	(32.95 – 22.75) = 10.20

Por lo tanto, el cambio propuesto al aplicar el T4 (Bocashi 6 onz.), es rentable y produce un aumento en el **ingreso neto**, que al utilizar la alternativa T6 (Testigo relativo: Bactericida) de USD \$ 10.20.

Cuadro 21: Presupuesto parcial de beneficio neto para el T5 (Bocashi 9 onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).

Ganancias o ingresos adicionales	USD \$
3. Ingresos adicionales	15.87
4. Disminución de costos	16.92
(I) Total de ingresos adicionales	32.95
Costos adicionales	
3. Costos adicionales	6.97
4. Disminución de ingresos	15.87
(J) Total de costos adicionales	22.84
Cambio en el Ingreso Neto (I - J)	(32.95 – 22.84) = 10.11

Por lo tanto, el cambio propuesto si se aplica T5 (Bocashi 9 onz.), es rentable y produce un aumento en el **ingreso neto**, que al utilizar la alternativa T6 (Testigo relativo: Bactericida) de USD \$ 10.11.

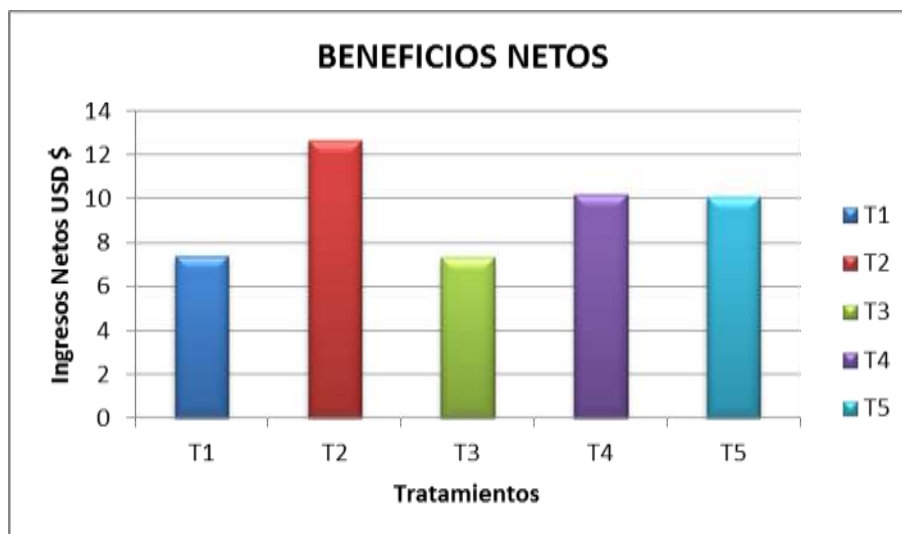


Fig. 20. Benéficos netos por tratamiento T₀ (Testigo), T₁ (Sulfato de calcio), T₂ (Ceniza 4 onz.), T₃ (Ceniza 6 onz.), T₄ (Bocashi 6 onz.), T₅ (Bocashi 9 onz.).

La figura 20, muestra que el tratamiento que presenta los mejores beneficios netos, es el T₂ (Ceniza 4 onz.), seguido del T₅ (Bocashi 9 onz.); lo que se les atribuye, por ser los tratamientos que presentaron las más bajas pérdidas de plantas por la enfermedad y por lo tanto un mejor rendimiento.

5. CONCLUSIONES.

Esta investigación determinó, que el mejor efecto en la prevención de la enfermedad, lo produjo la alternativa tecnológica: ceniza en dosis de 4 onz, la cual mostró tendencia a reducir el porcentaje de incidencia a un 12.5%, siendo este el nivel más bajo en la proporción de unidades afectadas; asimismo, provocó una disminución en el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) con 0.75 UE, es decir que la intensidad a través del tiempo fue menor; indicando así, que puede utilizarse como medio supresivo de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate.

Los resultados obtenidos en la investigación, determinaron que el tratamiento T₅ (Bocashi 9 onz), presento los mejores efectos, para las variables altura, número de hojas y retardo de la aparición de los síntomas en las plantas (severidad de la enfermedad), lo que podría atribuírsele al aporte de nutrimentos y a la riqueza de microorganismos que este proporciona al suelo.

Este estudio revela que, entre los tratamientos que no produjeron efectos en cuanto a la prevención de la enfermedad, se destaca el sulfato de calcio, quien no redujo significativamente la incidencia, la severidad y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad; pues este acidifica el suelo, aspecto que presenta influencia, sobre la aparición de la enfermedad, proporcionando así el medio idóneo, para el desarrollo del patógeno, comportándose de la misma forma que el tratamiento testigo, sin aplicación.

Los resultados económicos, obtenidos en la investigación, indican que el tratamiento sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri-Gent®); produce un mayor costo, y un menor beneficio, pues este no resulto ser efectivo en la prevención de la enfermedad, incrementando la incidencia y severidad, a tal manera que mayor cantidad de unidades se vean afectadas, a diferencia del tratamiento T₂ (ceniza 4 onz); que produce mejores beneficios netos, con el cual se obtuvieron las menores pérdidas de plantas por la enfermedad, mejorando así su rendimiento; esto comparado con el uso del tratamiento alternativo, con el que el productor incurre en más costos.

6. RECOMENDACIONES.

Esta investigación revela el potencial de las enmiendas, especialmente de la ceniza en dosis de 4 onz.cubeta⁻¹, como una alternativa que puede ser utilizada dentro del contexto del manejo integrado de *Ralstonia solanacearum*; aunado con el uso de variedades tolerantes. Esto debido a que forma un complejo de carbonatos que alcalinizan el medio una de las propiedades del suelo que retarda el desarrollo de la enfermedad.

A través de los resultados obtenidos en esta investigación, es recomendable para la prevención de la marchitez bacteriana el uso de abonos orgánicos fermentados como el de tipo bocashi; propiciando así el aumento de las poblaciones de microorganismos benéficos que compitan con el patógeno y mejorando las características fisiológicas de la planta.

Incluir en investigaciones posteriores, diferentes tipos de enmiendas químicas y orgánicas, así como sus combinaciones, como los evaluados en este estudio; con la finalidad de obtener nuevas alternativas para prevenir la enfermedad. Así también evaluar diferentes localidades y épocas del año.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agrios GN. 1998. Fitopatología. Trad. M Guzmán Ortiz. 2 ed. México D.F., MX. Limusa. 571-572 p.

Alfaro G. 2011. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (en línea). San Salvador, SV. Consultado 13 mar. 2012. Disponible en http://www.mag.gob.sv/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=8:frutas&Itemid=214

Arteaga Chávez, NA; Avendaño Sevillano, DC. 2004. Manejo de marchitez bacteriana del tomate (*Burkholderia solanacearum*), con ocho tratamientos a nivel de invernadero. Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV. UES. 72 p.

Blanco Sandoval, JO. 2006. Acondicionadores y mejoradores del suelo (en línea). Cúcuta, CO. Consultado 13 mar. 2013. Disponible en http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/2006718153746_Acondicionadores%20y%20mejoradores%20de%20suelo.pdf

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del tomate. Turrialba, CR. p.78-79. (Serie Técnica N° 151)

CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, SV.). 2003. Programa de hortalizas: El cultivo de tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill). La Libertad, SV. 6p.

_____. 2002. Guía Técnica del cultivo del tomate. La Libertad, SV. 48p.

CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, MX). 1988. La formulación de recomendaciones de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económico. México D.F. MX. p. 9-10.

CIP (Centro Internacional de la Papa, PE), 1984. Marchitez bacteriana de la papa (*Pseudomonas solanacearum*) en América Latina. Lima, PE. CIP. 120 p.

Casaca, AD. 2005. El cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Costa Rica. Consultado el 23 mar. 2012. Disponible en www.agrifoodgateway.com/articles/el-cultivo-del-tomate

Castro Blandón, A. 2007. Prácticas Alternativas para el Manejo de Plagas y Enfermedades. Honduras. Zamorano; PROMIPAC; COSUDE. p. 12-14.

Corpeño, B. 2004. Manual del Cultivo de Tomate (en línea). San Salvador, SV. Consultado el 19 mar. 2012. Disponible en http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf

Díaz Blandón *et al.* JU 2003. Enmiendas y microorganismos antagonistas para el manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F Smith en el cultivo de tomate. Turrialba, CR. CATIE. 7 p.

_____, 1999. Manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F Smith con enmiendas y microorganismos antagonistas en tomate. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 124 p.

Escalona, V *et. al.* 2009. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Chile. Consultado el 23 mar. 2012. Disponible en http://www.cepoc.uchile.cl/pdf/manua_cultivo_tomate.pdf

FERMAGRI (Fertilizantes de calidad, EC). s.f. Sulfato de calcio (en línea). Ecuador. Consultado 29 de sep. 2012. Disponible en <http://www.fermagri.com/Fichas/Edaficos/Calcio/Sulfatodecalcio.pdf>

French ER; Hebert, TT. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. San José, CR. IICA. p. 38-39 p. 155-157

Gómez Orellana, RE. 2012. Microbiología: Practica N° 8 Fisiología Bacteriana Enzimas Bacterianas. s.n.t (6 p.)

Gómez, F. 2001. Evaluación del Bokashi como sustrato para semilleros en la región Atlántica de Costa Rica (en línea), Guácimo, CR. Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda. Consultado 12 mar. 2012. Disponible en <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/pdf/98034.pdf>

Hernández Garboza L; Bustamante Rojas E. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas (en línea). Costa Rica. Consultado 15 sep. 2012. Disponible en <http://www.orton.catie.ac.cr/reprodoc/A2111E/A2111E.PDF>

Jones, JB; Stall, RE; Zitter, TA. 2001. Plagas y Enfermedades de Tomate. Trad. M, Jiménez Gasco. Madrid, ES. Mundi-Prensa. p. 28-29.

Lelliott, RA; Stead, DE. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of plants. Blackwell Scientific Publications Ltd. Great Britain. p. 114- 117, 188-189.

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, SV). 2012. Anuario de Estadísticas Agropecuarias 2011-2012. (en línea). Consultado el 29 feb. 2012. Disponible en http://www.mag.gob.sv/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=14&Itemid=224

_____ ; DGEA (Dirección General de Estadísticas Agropecuarias, SV). 2012. Costos de producción 2011-2012. La Libertad, SV. v. 21. p.28.

Martin, C; French, ER. 1985. La marchitez bacteriana de la papa *Pseudomonas solanacearum*. Lima, PE. CIP. p. 13. (Serie técnica N° 13).

Nuez, F. 2001. El cultivo de tomate. Bilbao, ES. Multi-Prensa. p. 15-166.

Nuila de Mejía, JA. 1990. Manual de diseños experimentales con aplicación a la agricultura y ganadería. San Salvador, SV. 258 p.

Núñez, G; Guevara, V; Monterroso, D. 2002. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología: Efecto de la cal y la urea en el manejo del Moko de las musáceas, Costa Rica. 66: 96 – 100.

Oberon, V. 2009. Caracterización de la variabilidad poblacional de *Ralstonia solanacearum* en cultivos de solanáceas del noreste argentino (en línea). Consultado el 29 feb. 2013. Disponible en <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/tesis/bitstream/1/285/1/tesis.pdf>

Omil Ignacio, B. 2007. Gestión de cenizas como fertilizante y enmendante de plantaciones jóvenes de *pinus radiata* (en línea). Lugo, ES. Consultado 25 mar. 2013. Disponible en http://dspace.usc.es/bitstream/10347/2374/1/9788497509640_content.pdf

Priou, S. *et al.* 2004. Capacitación e Investigación participativa para el manejo integrado de la marchitez bacteriana de la papa: Experiencias en Perú y Bolivia. CIP- PROINPA-DFID. Lima, PE. 80 p.

Restrepo Rivera, J; Hensel, J. 2009. Manual Práctico de Agricultura orgánica y panes de piedra. Cali, CO. Imprenta Feriva. 22-34 p.

Ramírez, O. 1994. El uso de presupuestos parciales en el manejo integrado de plagas (Hoja Técnica). Manejo integrado de plagas. 11: i - iv

Rodríguez Martínez, DJ. 2007. Determinación de biovares y razas de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith asociados a la marchitez bacteriana, en los cultivos de tomate *Solanum lycopersicon L.* y chile pimiento *Capsicum annuum L.* en el oriente de Guatemala. Tesis. Licda. Sistemas de Producción Agrícola. USAC. p. 5-25

Schaad, NW. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 2ª ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota, US. p. 60-81.

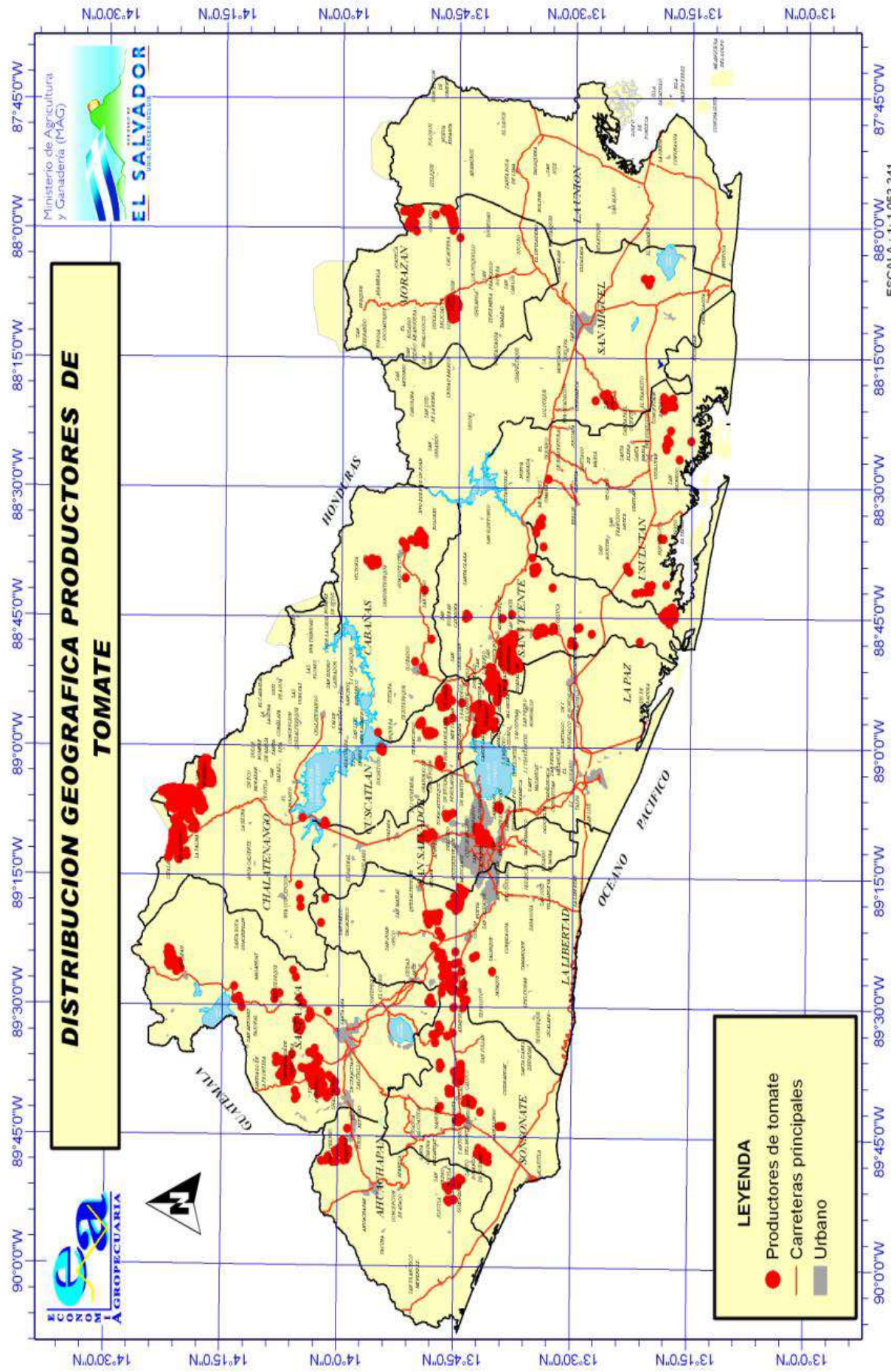
Sequeira, L; Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant Disease **67**:1357-1361.

Solla Gullón, F; Rodríguez Soalleiro, R; Merino, A. 2001. Evaluación del aporte de cenizas de madera como fertilizante de un suelo ácido mediante un ensayo en laboratorio (en línea). Lugo, ES. Consultado 22 feb. 2012. Disponible en http://www.inia.es/gootrec/pub/solla_11611566/3093pdf

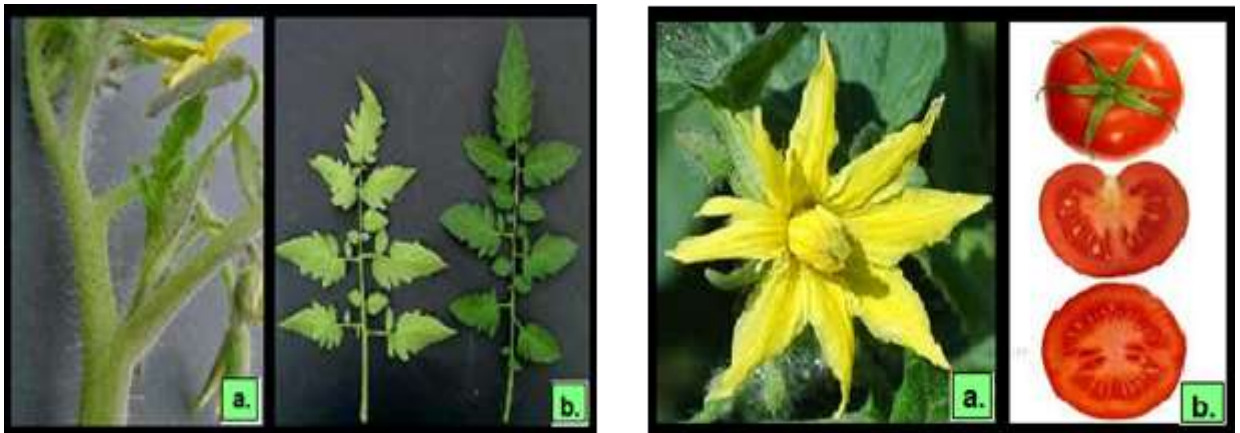
Valbuena Calderón, OE. 2003. Resistencia inducida para el control de marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) en tomate (en línea). Tesis Ing. Agr. Guácimo, CR. Universidad Earth. Consultado el 23 de mar.2013. Disponible en <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/dpg/2000097.pdf>

8. ANEXOS

Anexo 1: Distribución de productores de tomate en El Salvador (2011).

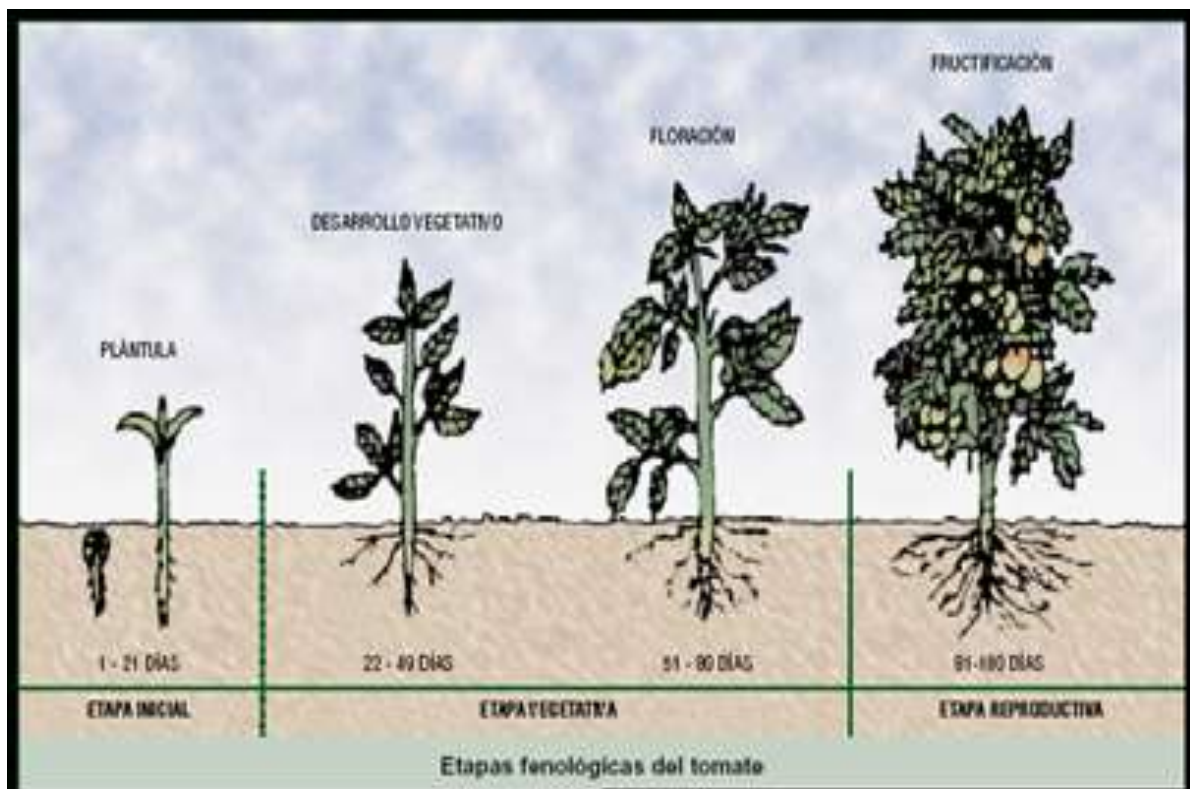


Anexo 2: Características morfológicas de tallo, hojas, flores y frutos de tomate.



Fuente: Escalona 2009.

Anexo 3: Etapas fenológicas del cultivo de tomate.



Fuente: CATIE 1990.

Anexo. 4 *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith extraída del sistema vascular de una planta



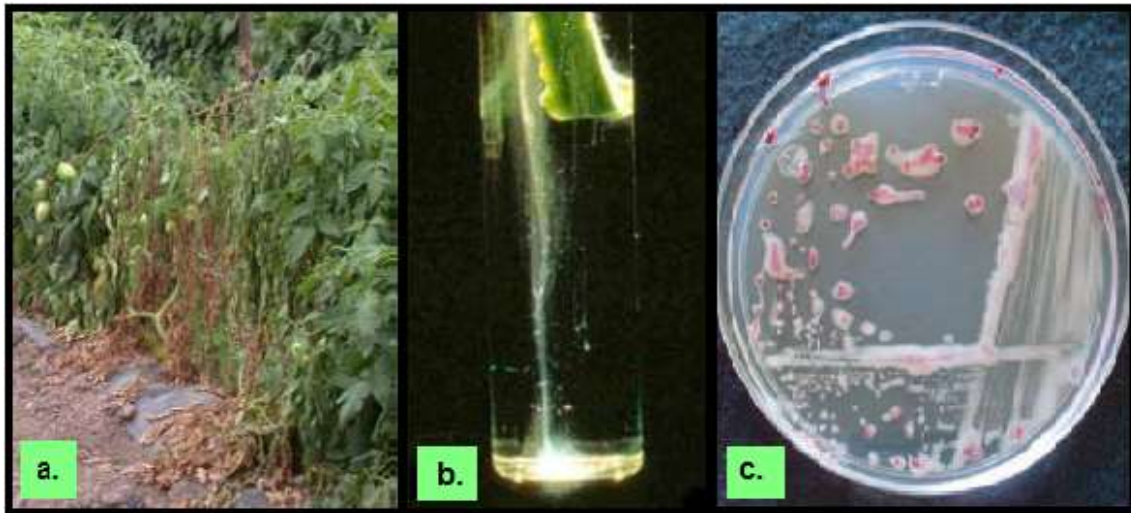
Fuente: Rodríguez 2007.

Anexo 5. Ciclo de la marchitez bacteriana, ocasionada por *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith.



Fuente: Rodríguez 2007.

Anexo. 6 a. Síntomas de la marchitez en plantas de tomate, **b.** flujo bacteriano de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith **c.** Aspectos de la bacteria en medio Tetrazolium



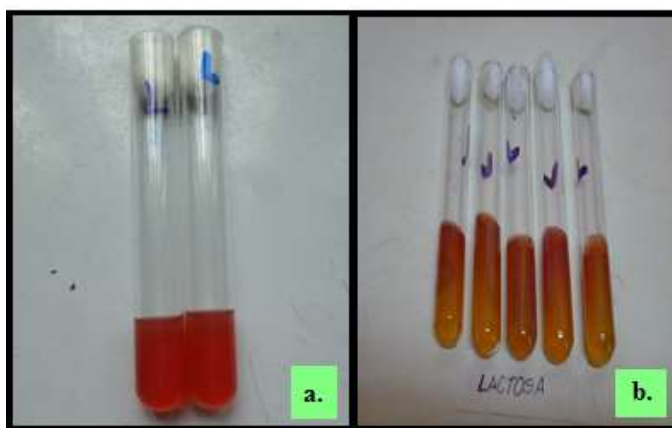
Fuente: Rodríguez 2007.

Anexo. 7 Resumen de las pruebas bioquímicas en la identificación de *R. solanacearum*

Fermentación de azúcares:

Para esta prueba se hace uso de cuatro diferentes medios: Dextrosa, Sucrosa, Manitol y Lactosa, los que llevan incorporado el indicador rojo de fenol, los medios originales poseen un color rosado, si el medio no cambia de color es una prueba: Negativa y si cambia de rosado a color amarillo es: Positiva (Gómez 2012).

- Lactosa:



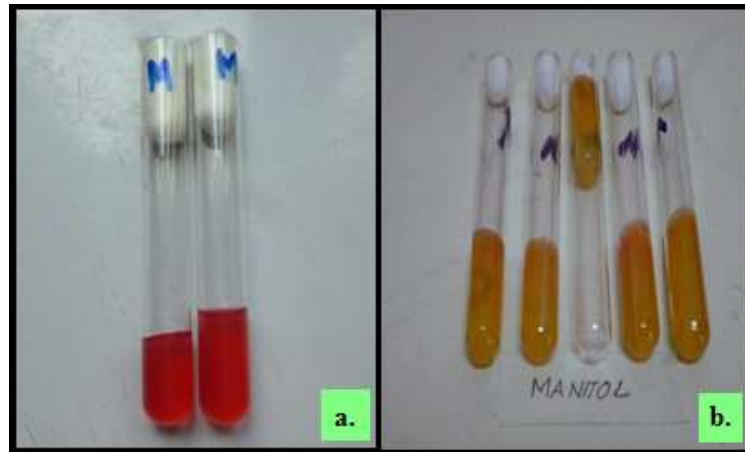
a. Lactosa en su color original rosado. b. Resultado positivo cambio de color a amarillo.

- Sucrosa:



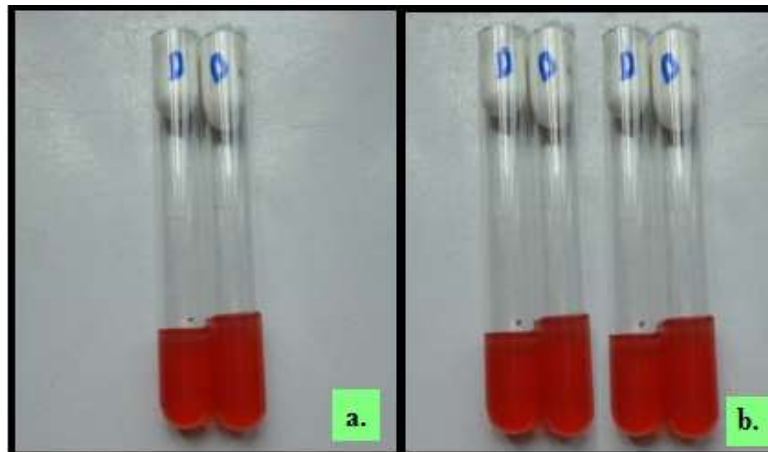
a. Sucrosa de color rosado. b. Resultado positivo cambio de color a amarillo y fermento la sucrosa con formación de gas.

- Manitol:



a. Manitol color rosado. **b.** Resultado positivo cambio de color a amarillo y fermento el manitol con formación de gas.

- Dextrosa:



a. Dextrosa color rosado. **b.** Resultado negativo.

Hidrólisis de Proteínas:

Indol:

Para esta prueba se usa como sustrato, el caldo de tripticasa, soya.

Se agregó 1 ml de éter al cultivo, se dejó reposar unos minutos hasta que el solvente suba a la superficie, luego se añadió 0.5 ml de reactivo de Erlich. Si se forma un anillo rojo: prueba Positiva (Gómez 2012).



a. Caldo inoculado. **b.** Resultado negativo (no hubo formación de anillo rojo)

Gelatina:

Para ello se utilizó tubo con gelatina pura al 10%, se inoculó y se colocó durante 30 minutos en el refrigerador. Si el medio se mantiene licuado, la prueba es positiva. Si solidifica, la prueba es negativa (Gómez 2012).



Prueba negativa ya que el medio se mantuvo sólido.

Otros:

Rojo de metilo:

Para esta prueba se usó un medio de cultivo que es básicamente una glucosa peptonada.

Se agregaron 5 gotas de indicador Rojo de metilo, la reacción positiva, consiste en el apareamiento de un color rojo definido (Gómez 2012).



Resultado negativo (se mantuvo de color amarillo).

VogesProskauer:

Se utiliza el mismo medio que para la prueba Rojo de metilo.

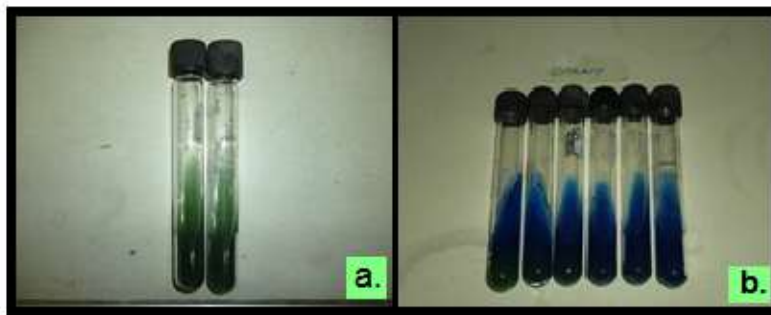
Se agregaron 10-12 gotas de alfa naftol al 5%, y 4 gotas de KOH al 40% se deja en reposo de 5-10 minutos, el aparecimiento de un color anaranjado rojizo indica una prueba positiva (Gómez 2012).



Prueba negativa (no hubo cambio de color)

Citrato:

El medio contiene Citrato de sodio y otras sales. Como indicador se utilizó el azul de bromotimol. Originalmente el medio es verde, después de 24 horas continuas cambia de verde a azul: prueba positiva (Gómez 2012).



a. Medio de color verde. b. Prueba positiva ya que hubo cambio de color.

Nitritos:

El sustrato es nitrato de sodio contenido en caldo nutritivo.

Se agrega al cultivo, 5 gotas de Ácido sulfanílico y 5 gotas de Alfa naftilamina. Se mezcla, al apareamiento de un color rojo alrededor de 1-2, minutos, la prueba es positiva (Gómez 2012).



Prueba positiva ya que hubo viraje de color.

Almidón:

El sustrato es almidón soluble, contenido en caldo nutritivo.

Se agregaron 3 gotas de Lugol. No cambio de color: prueba positiva, si adquiere color azul la prueba es negativa (Gómez 2012).



Prueba positiva.

Movilidad:

Es un medio semisólido que lleva incorporado sales TTZ (2, 3, 5 cloruro Trifeniltetrazolium) para visualizar el desplazamiento de la bacteria (Gómez 2012).



Movilidad positiva.

TSI:

Es un medio a base de tres azúcares (glucosa, lactosa y sacarosa), citrato de amonio y hierro. Como indicador Rojo de fenol.

El medio original tiene un color naranja a rojo (alcalino), si los azúcares son fermentados, el medio se acidifica cambiando a un color amarillo. Este resultado se reporta como un quebrado en donde el numerador representa la lectura del bisel, y el denominador, la lectura del fondo (Gómez 2012).



El resultado que se obtuvo fue de n/a (rojo/amarillo), esto debido a que se fermentó la glucosa.

PRUEBA BIOQUIMICA	REACCIÓN
Manitol	+
Lactosa	+
Sucrosa	+
Dextrosa	-
Indol	-
Gelatina	-
Rojo de metilo	-
VogesProskauer	-
Citrato	+
Hidrólisis de Almidón	+
Nitratos	+
Movilidad	+
TSI	n/a

Anexo 8. Análisis físico – químico de sustrato antes de inoculación.



Ministerio de Agricultura
y Ganadería (MAG)



**CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGIA
AGROPECUARIA Y FORESTAL
ING. ENRIQUE ALVAREZ CORDOVA
LABORATORIO DE SUELOS
e-mail centalabsuelos2010@hotmail.com
Tel. 23020200 Ext.248**

San Andrés, 3 de diciembre de 2012.

CARTA No. 20424

NOMBRE DEL AGRICULTOR: LIDICE PORTAL Y CLAUDIA LINO
CANTON: TECUALUYA
MUNICIPIO: SAN LUIS TALPA
DEPARTAMENTO: LA PAZ

No. Laboratorio	Muestra No.20922
Identificación de la muestra	1
Profundidad muestra	Sustrato.
Utilizara Riego Si o No	Si
Área representada por la muestra (mz)	Maceta
Cultivo que desea fertilizar	TOMATE
Mes en que sembrara	
Topografía del terreno	

RESULTADO DEL ANÁLISIS

Textura	FRANCO ARENOSO
pH en agua (1:2.5)	6.8 NEUTRO
Fósforo (mgKg ⁻¹)	479 MUY ALTO
Potasio (mgKg ⁻¹)	40 BAJO

Detalle: (mgKg⁻¹)=ppm

NOMBRE DEL AGRICULTOR: LIDICE PORTAL Y CLAUDIA LINO
CANTON: TECUALUYA
MUNICIPIO: SAN LUIS TALPA
DEPARTAMENTO: LA PAZ

CULTIVO: TOMATE

- 1.ª Fertilización. 8 Días después del trasplante
330 lb/mz de Sulfato de Amonio +
540 lb/mz de Fórmula 0-0-60
- 2.ª Fertilización. A la floración
385 lb/mz de Sulfato de Amonio.
- 3.ª Fertilización. Durante el desarrollo del fruto
176 lb/mz de urea

ING. QUIRINO ARGUETA
ESPECIALISTA EN FERTILIDAD DE SUELOS



Anexo 9. Análisis físico – químico de sustrato después de inoculación.



CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGIA
AGROPECUARIA Y FORESTAL
ING. ENRIQUE ALVAREZ CORDOVA
LABORATORIO DE SUELOS
e-mail: centalabsuelos2010@hotmail.com
Tel. 23020200 Ext.248

San Andrés, 30 de enero 2013.



CARTA No. 10027

NOMBRE DEL AGRICULTOR: LIDICE PORTAL
NOMBRE DE LA FINCA: UES
CANTON: TECUALUYA
MUNICIPIO: SAN LUIS TALPA
DEPARTAMENTO: LA PAZ

No. Laboratorio	Muestra No. 10067
Identificación de la muestra	1
Cultivo que desea fertilizar	TOMATE


RESULTADO DEL ANALISIS

Textura		FRANCO ARENOSO
pH en agua 1:2.5		6.2 LIGERAMENTE ACIDO
Fósforo	(mg kg ⁻¹)	84 MUY ALTO
Potasio	(mg kg ⁻¹)	285.9 MUY ALTO
Zinc	(mg kg ⁻¹)	3.13 ALTO
Manganeso	(mg kg ⁻¹)	16.11 MUY ALTO
Hierro	(mg kg ⁻¹)	7.76 BAJO
Cobre	(mg kg ⁻¹)	0.59 BAJO
Materia Orgánica	(%)	2.31 MEDIO
Calcio Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	7.10 ALTO
Magnesio Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	1.53 BAJO
Potasio Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	0.73
Sodio Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	0.28 NO SODICO
Suma de Bases Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	9.65 MEDIO
Acidez Intercambiable	(cmol kg ⁻¹)	0.00 BAJO
CICE	(cmol kg ⁻¹)	9.65 MEDIO
Saturación de Bases	(%)	100.00
Relación Ca / Mg		4.63 MEDIO
Relación Mg/K		2.09 BAJO
Relación Ca+Mg/k		11.78 MEDIO
Relación Ca/K		9.68 MEDIO

Detalle: (mg kg⁻¹) = ppm

(cmol kg⁻¹) = meq/100 g suelo

Anexo. 10. Resultados de análisis físico- químico de las enmiendas a aplicar Ceniza


Laboratorio de Química Agrícola
Km. 33 1/2 carretera a Santa Ana
Tel.: 2302-0200 ext. 269

San Andrés, 14 de mayo de 2013

Srita.: Claudia Lino
Universidad Nacional de El Salvador

Por este medio tenemos el agrado de comunicarle el resultado obtenido en el análisis de una muestra de: **CENIZAS**

Fecha de recibido: 07/05/2013

No Análisis: 229

RESULTADO			
ANALISIS	BASE HUMEDA %P/P	UNIDADES	Metodología
NITROGENO (N)	0.15	g/100 g de muestra	Métodos oficiales de la A.O.A.C 15ª edición 1990
FOSFORO (P)	1.51	g/100 g de muestra	
POTASIO (K)	3.84	g/100 g de muestra	
CALCIO (Ca)	22.53	g/100 g de muestra	
pH	10.54		

Nota: Este informe de análisis se basa en una muestra de producto recibido por el laboratorio, el proceso del muestreo ha sido responsabilidad del interesado.

Químicos Analistas: Lic. Liza Yanira Estrada
Lic. Amanda de Arévalo
Lic. Luis Reyes Valiente
Lic. Mirian Álvarez de Amaya
Lic. Héctor Shunico



Mirian Álvarez de Amaya
LIC. MIRIAN ÁLVAREZ DE AMAYA
JEFA DEL LABORATORIO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

Anexo 11. Resultados de análisis físico- químico de las enmiendas a aplicar Bocashi





Laboratorio de Química Agrícola
Km. 33 1/2 carretera a Santa Ana
Tel.: 2302-0200 ext. 269

San Andrés, 09 de mayo de 2013

Srita.: Lidice Hortencia Portal Miranda
Universidad Nacional de El Salvador

Por este medio tenemos el agrado de comunicarle el resultado obtenido en el análisis de una muestra de: **ABONO ORGANICO BOCASHI**

Procedencia: Tecualuya San Luis Talpa
Fecha de recolección de muestra: 03 /05/2013
Fecha de recibido: 06/05/2013

No Análisis: **226**

RESULTADO

ANALISIS	BASE HUMEDA %P/P	UNIDADES	Metodología
NITROGENO (n)	1.21	g/100 g de muestra	Métodos oficiales de la A.O.A.C 15ª edición 1990
FOSFORO (P)	1.38	g/100 g de muestra	
POTASIO (K)	0.74	g/100 g de muestra	
CALCIO (Ca)	3.87	g/100 g de muestra	
pH	7.96	g/100 g de muestra	
CENIZAS	55.80	g/100 g de muestra	

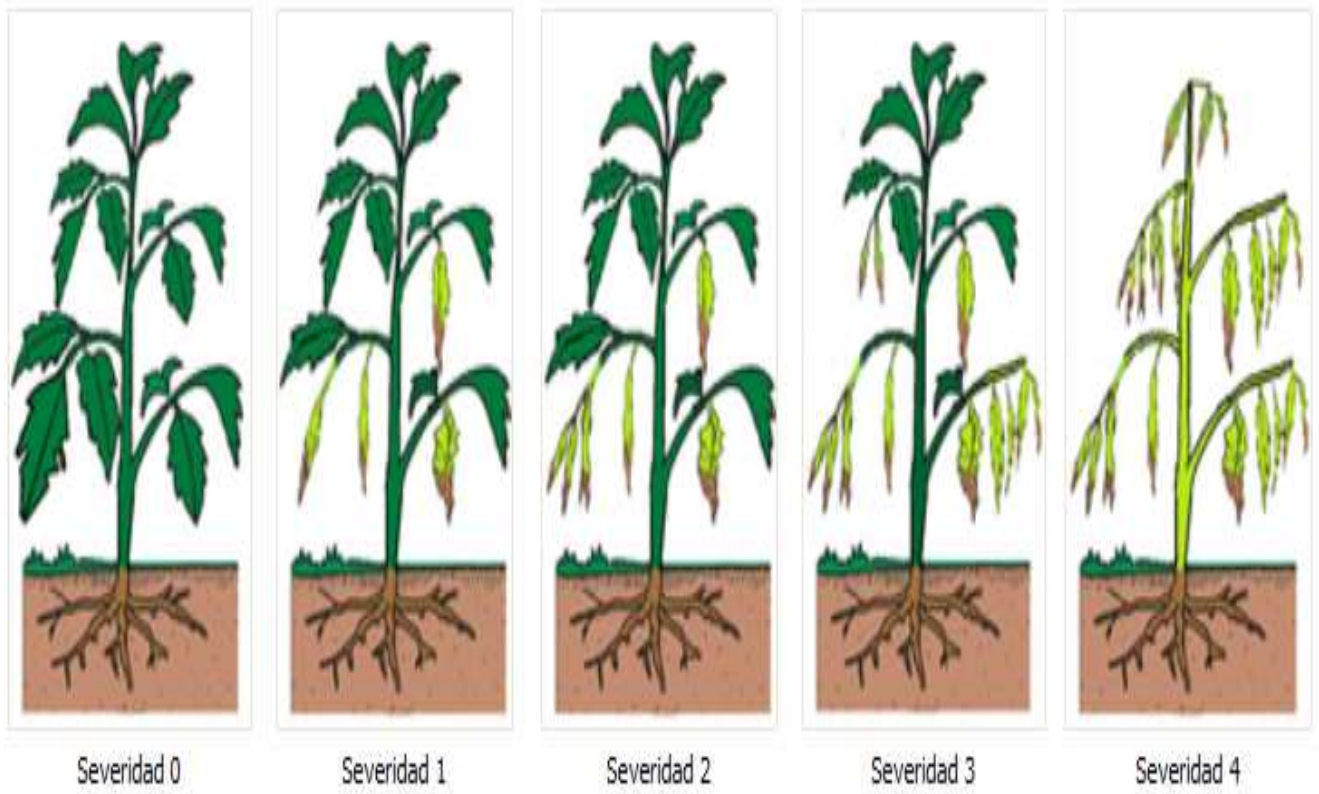
Nota: Este informe de análisis se basa en una muestra de producto recibido por el laboratorio, el proceso del muestreo ha sido responsabilidad del interesado.

Químicos Analistas: Lic. Liza Yanira Estrada
Lic. Amanda de Arévalo
Lic. Luis Reyes Valiente
Lic. Mirian Álvarez de Amaya
Lic. Héctor Shunico



LIC. MIRIAN ALVAREZ DE AMAYA
JEFA DEL LABORATORIO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

Anexo 12. Escala de severidad utilizada en la investigación propuesta por Rivas, (2013).



Anexo 13. Toma de datos de la altura en centímetros de plantas de tomate desde el trasplante hasta la maduración.

SEMANA	TRATAMIENTO	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	MEDIAS
1	T0	13	14	17	13	16	15	14	13	14
1	T1	14	15	13	16	17	15	13	17	15
1	T2	16	14	18	16	17	16	17	15	16
1	T3	18	15	19	15	13	13	15	13	15
1	T4	18	16	17	16	15	20	17	19	17
1	T5	20	18	18	21	21	17	20	15	19
1	T6	19	19	16	18	15	16	15	20	17
2	T0	18	19	22	18	21	20	19	18	19
2	T1	19	20	18	21	22	20	18	22	20
2	T2	21	19	23	21	22	2	22	20	19
2	T3	23	20	24	20	18	18	20	18	20
2	T4	23	21	22	21	20	25	22	24	22
2	T5	25	23	23	26	26	22	25	20	24
2	T6	24	24	22	23	20	21	20	25	22
3	T0	24	25	28	24	27	26	25	24	25
3	T1	25	26	24	27	28	26	24	28	26
3	T2	27	25	29	27	28	27	28	26	27
3	T3	29	26	30	26	24	24	26	24	26
3	T4	29	27	28	28	26	31	28	30	28
3	T5	31	29	29	32	32	28	28	26	29
3	T6	30	30	28	29	26	27	26	31	28
4	T0	0	30	0	29	32	31	30	29	30
4	T1	30	31	29	32	33	0	0	33	31
4	T2	32	30	34	32	33	34	33	31	32
4	T3	34	30	35	31	30	30	31	29	31
4	T4	34	32	33	35	31	36	33	35	34
4	T5	36	35	35	37	38	34	35	31	35
4	T6	35	34	33	35	31	33	31	36	34
5	T0	0	37	0	36	39	38	37	36	37
5	T1	36	37	35	38	39	0	0	38	37
5	T2	38	37	40	38	39	38	38	39	38
5	T3	40	37	41	37	36	37	38	35	38
5	T4	39	37	38	40	37	41	39	40	39
5	T5	42	40	41	43	44	45	40	39	42
5	T6	40	39	39	38	39	38	37	40	39
6	T0	0	45	0	44	45	44	0	0	45
6	T1	44	0	43	43	47	0	0	46	45
6	T2	48	47	48	48	46	43	47	0	47
6	T3	46	47	45	47	46	44	46	45	46
6	T4	47	45	48	49	42	46	45	46	46
6	T5	48	49	48	49	48	50	49	45	48
6	T6	46	45	45	44	46	44	45	46	45
7	T0	0	51	0	50	51	50	0	0	51
7	T1	51	0	48	49	53	0	0	52	51
7	T2	54	53	54	54	52	49	53	0	53
7	T3	52	53	51	53	51	50	51	51	52
7	T4	53	51	53	54	48	51	52	54	52
7	T5	55	5	53	57	54	56	54	51	48
7	T6	51	52	53	50	50	50	51	52	51
8	T0	0	57	0	56	58	56	0	0	57
8	T1	58	0	54	55	59	0	0	58	57
8	T2	60	59	60	61	58	55	59	0	59
8	T3	58	59	57	59	57	56	58	59	58
8	T4	59	56	59	60	54	57	58	60	58
8	T5	61	62	59	63	60	62	63	58	61
8	T6	56	58	59	56	55	54	56	59	57
9	T0	0	63	0	62	64	61	0	0	63
9	T1	64	0	60	61	64	0	0	64	63
9	T2	66	65	67	66	64	61	65	0	65
9	T3	64	65	63	0	0	0	64	65	64
9	T4	65	0	0	67	60	63	62	65	64
9	T5	67	6	65	69	66	68	68	64	59
9	T6	62	0	65	0	61	61	60	65	62
10	T0	0	63	0	62	64	61	0	0	63
10	T1	64	0	60	61	64	0	0	64	63
10	T2	66	65	67	66	64	61	65	0	65
10	T3	64	65	63	0	0	0	64	65	64
10	T4	65	0	0	67	60	63	0	65	64
10	T5	0	0	65	69	66	68	68	64	67
10	T6	62	0	65	0	61	61	60	65	62

Anexo 14. Toma de datos del número de hojas de plantas de tomate desde el trasplante hasta la maduración.

SEMANAS	TRATAMIENTO	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	MEDIAS
1	T0	4	5	5	4	5	5	4	4	5
1	T1	4	4	4	5	5	5	4	5	5
1	T2	5	5	6	5	5	5	5	4	5
1	T3	6	5	6	5	4	4	4	4	5
1	T4	5	5	5	4	4	6	5	5	5
1	T5	6	6	6	7	7	5	6	4	6
1	T6	5	6	5	6	5	6	5	6	6
2	T0	6	6	7	6	7	6	6	6	6
2	T1	6	7	6	7	7	6	6	7	7
2	T2	6	6	7	7	7	7	7	6	7
2	T3	7	6	7	6	5	5	6	6	6
2	T4	7	7	7	7	6	8	7	8	7
2	T5	9	9	8	9	9	7	8	6	8
2	T6	7	7	6	7	6	6	6	7	7
3	T0	7	7	8	7	8	7	7	7	7
3	T1	7	7	7	8	8	7	7	8	7
3	T2	8	7	9	8	9	8	8	7	8
3	T3	8	7	8	7	7	7	7	7	7
3	T4	8	7	8	8	7	9	8	9	8
3	T5	9	9	9	10	10	8	8	7	9
3	T6	9	9	8	8	7	7	7	8	8
4	T0	0	8	0	8	9	8	8	7	8
4	T1	8	9	8	9	9	0	0	9	9
4	T2	9	8	9	9	10	10	9	9	9
4	T3	10	9	9	8	8	8	8	7	8
4	T4	9	9	9	10	8	9	9	10	9
4	T5	10	9	10	10	11	10	10	8	10
4	T6	10	9	8	9	8	8	8	9	9
5	T0	0	10	0	9	10	10	9	9	10
5	T1	9	10	9	9	9	0	0	9	9
5	T2	9	9	10	9	9	9	8	9	9
5	T3	10	10	11	9	8	9	9	8	9
5	T4	10	9	9	11	9	10	9	10	10
5	T5	11	10	12	12	11	12	10	9	11
5	T6	10	9	9	8	9	9	8	10	9
6	T0	0	11	0	12	12	10	0	0	11
6	T1	10	0	12	12	13	0	0	12	12
6	T2	13	14	14	13	12	11	12	0	13
6	T3	11	11	11	12	11	11	11	10	11
6	T4	12	11	13	13	11	11	11	11	12
6	T5	12	12	12	12	11	12	12	11	12
6	T6	11	11	11	10	12	10	10	10	11
7	T0	0	15	0	15	16	15	0	0	15
7	T1	15	0	14	14	15	0	0	15	15
7	T2	15	15	14	14	13	13	14	0	14
7	T3	14	14	15	15	15	14	15	15	15
7	T4	15	15	16	16	14	15	15	15	15
7	T5	15	15	14	16	15	15	15	15	15
7	T6	15	15	15	14	14	15	15	15	15
8	T0	0	16	0	15	15	15	0	0	15
8	T1	16	0	15	15	16	0	0	16	14
8	T2	16	16	16	16	15	15	16	0	16
8	T3	16	16	17	17	17	16	16	17	17
8	T4	16	17	17	17	16	16	16	17	17
8	T5	16	16	17	17	16	16	17	16	16
8	T6	16	16	16	16	15	15	15	16	16
9	T0	0	17	0	17	17	17	0	0	17
9	T1	17	0	16	16	16	0	0	17	16
9	T2	17	17	18	18	18	17	18	0	18
9	T3	18	18	18	0	0	0	17	18	18
9	T4	17	0	0	18	18	18	17	18	18
9	T5	18	18	18	19	18	18	18	17	18
9	T6	17	0	17	0	17	17	16	17	17
10	T0	0	18	0	18	18	18	0	0	18
10	T1	18	0	18	19	20	0	0	20	19
10	T2	20	19	19	20	20	19	19	0	18
10	T3	19	19	20	0	0	0	20	20	20
10	T4	19	0	0	20	19	20	0	19	19
10	T5	0	0	19	20	19	20	20	20	19
10	T6	18	0	20	0	19	19	18	18	19

Anexo 15. Toma de datos para las variables incidencia, Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), y grado de severidad de la enfermedad, tomadas a partir de apareamiento de sintomatología de la enfermedad en plantas de tomate hasta la finalización de su ciclo.

Porcentaje de incidencia de la enfermedad.

N° semanas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	25%	25%	0%	0%	0%	0%	0%
2	25%	25%	0%	0%	0%	0%	0%
3	50%	37.50%	0%	0%	0%	0%	0%
4	50%	37.50%	12.50%	0%	0%	0%	0%
5	50%	37.50%	12.50%	0%	0%	0%	0%
6	50%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	0%	25%
7	50%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	25%	25%
8	50%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	25%	25%
9	50%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	25%	25%
10	50%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	25%	25%
MEDIAS	45%	37.50%	12.50%	37.50%	25%	25%	25%

Área bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE), en unidades de enfermedad.

N° SEMANAS	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	0.25	0.25	0	0	0	0	0
2	0.375	0.3125	0	0	0	0	0
3	0.5	0.375	0	0	0	0	0
4	0.5	0.375	0.125	0	0	0	0
5	0.5	0.375	0.125	0.375	0.25	0	0.25
6	0.5	0.375	0.125	0.375	0.25	0.25	0.25
7	0.5	0.375	0.125	0.375	0.25	0.25	0.25
8	0.5	0.375	0.125	0.375	0.25	0.25	0.25
9	0.5	0.375	0.125	0.375	0.25	0.25	0.25

Grados de severidad de la enfermedad.

SEMANAS	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	1	1	0	0	0	0	0
2	2	2	0	0	0	0	0
3	3	3	0	0	0	0	0
4	4	4	1	0	0	0	0
5	4	4	2	0	0	0	0
6	4	4	3	1	1	0	1
7	4	4	4	2	2	1	2
8	4	4	4	3	3	2	3
9	4	4	4	4	4	3	4
10	4	4	4	4	4	4	4
MEDIAS	3.4	3.4	2.2	1.4	1.4	1	1.4