

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL



Manejo fitosanitario de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum* E.F. Smith) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

POR:

María Auxiliadora López Nieto
Sofía Elizabeth Morán Rosales
Jesús Alejandro Segovia Molina

**REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:
INGENIERO (A) AGRONOMO**

Ciudad universitaria, 19 de enero de 2016

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR INTERINO

LIC. JOSÉ LUIS ARGUETA ANTILLÓN

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

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

SECRETARIO

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

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL

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

DOCENTES DIRECTORES

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

ING. AGR. MARIO ALFREDO PÉREZ ASCENCIO

ING. AGR. LEOPOLDO SERRANO CERVANTES

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. RICARDO ERNESTO GÓMEZ ORELLANA

RESUMEN.

La investigación se realizó de febrero a octubre de 2015, en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, a una altura de 700 msnm, entre los 13° 43' 6" N, 89° 12' 11" W, con precipitación anual de 1751 mm y temperatura anual media de 23.1°C.

La investigación se desarrolló en dos fases: una fase inicial que consistió en la recolección de tejido enfermo y el aislamiento e identificación de la bacteria patógena *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith. Posteriormente en la segunda fase se inició con la inoculación de la bacteria al sustrato; para ello se utilizó una concentración de 3×10^8 ufc/ml de *R. solanacearum*, en 22.5 lb de suelo. El diseño estadístico empleado fue completamente al azar con nueve tratamientos y diez repeticiones. Los tratamientos aplicados fueron hipoclorito de sodio al 0.25% (5 ml de lejía comercial por litro), bocashi (9 oz), microorganismos de montaña en fase líquida (250 ml de solución concentrada), solarización al suelo (6 semanas), ácido salicílico (0.5 g/L), ceniza (4 oz), y *Trichoderma harzianum* (1g/L), comparados con los testigos: relativo (1.25 g/L de Agri-Gent®) y absoluto (sin control). Las plantas de tomate se trasplantaron en el sustrato a los 15 días después de aplicados los tratamientos.

La toma de datos inició una semana después del trasplante, evaluando las variables de incidencia y severidad dos veces por semana. Estos datos se utilizaron para calcular el Área bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) asociada a cada tratamiento.

Las ABCPE para los tratamientos evaluados resultaron estadísticamente similares al tratamiento relativo (Agri-Gent), según la prueba de Dunnett (5%), excepto el tratamiento con microorganismos de montaña en fase líquida. Esto comprueba que existen muy buenas alternativas al uso de los antibióticos; siendo el tratamiento a base de ceniza con dosis de 4 onzas por planta, el más eficiente para el control de la incidencia de la enfermedad (90% de efectividad). La severidad se midió con una escala de grados, resultando menos afectadas las plantas con los tratamientos a base de antibióticos (testigo relativo) y ceniza.

Los resultados de esta investigación demuestran que existen tratamientos alternativos al uso de antibióticos para el control de la marchitez bacteriana del tomate, igual o mejor en términos económicos y ecológicos.

Palabras clave: Marchitez bacteriana del tomate, *Ralstonia solanacearum*, medidas fitosanitarias.

AGRADECIMIENTOS

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

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

Al Ing. Agr. Mario Alfredo Pérez Ascencio, por apoyo y conocimientos brindados durante la realización de esta investigación.

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

A la Lic. Rosmery Idalia Erroa Ramos y Lic. M.V.Z Rudy Anthony Ramos Sosa por el aporte brindado en la etapa de laboratorio de la investigación.

A todo el personal del Departamento de Protección Vegetal, por su colaboración y aporte en la investigación.

Al personal del Departamento de Química Agrícola, por su apoyo y disposición en el uso del Laboratorio de Suelos de Química Agrícola.

Al Departamento de Fitotecnia por proporcionarnos las instalaciones del vivero de la Facultad para la realización de esta investigación.

A nuestro amigo Sofonías Rivera Escobar, por su colaboración durante la realización de esta investigación.

A Don Francisco que labora en el vivero de la Facultad por su colaboración y por proporcionarnos las herramientas de trabajo que fueron de mucha utilidad.

DEDICATORIA

A DIOS: Por darme fortaleza y sabiduría, para alcanzar una de mis metas.

MI PADRE Y MADRE: Jubis Edilberto López Bernal y Blanca Estela Nieto Martínez, a quienes debo todo lo que soy, por su sacrificio, esfuerzo, consejos y todo su amor.

MI HERMANA Y SOBRINO: Brendali Yamileth López Nieto y Jubis Emiliano López, a quienes amo muchísimo.

MI GRAN AMIGO: José Luis González, quien es una luz en mi vida, por todo su apoyo, motivación y amor incondicional.

MIS AMIGOS: Mirella Aguilar Jiménez, Sofía Morán, Kateryn Vanessa Vásquez, Alejandro Segovia, Carlos Burgos y Sofonías Escobar por su amistad, cariño y apoyo durante todos estos años.

MARÍA AUXILIADORA LÓPEZ NIETO

DEDICATORIA

A DIOS: Sea la Honra, la Gloria y el Honor, por haber permitido esta victoria, ya que en los momentos difíciles siempre me fortaleció, cuando parecía imposible, me animó a seguir adelante.

A MIS PADRES: Mario Roberto Morán Rivera y Ana Elizabeth Rosales de Morán, por ser los pilares fundamentales en mi vida, por su apoyo, esfuerzo, y dedicación incondicional en cada momento, por animarme a seguir adelante durante todos estos años.

A MIS AMIGOS: Mirella Aguilar, María López, Alejandro Segovia, Sofonías Rivera, Moisés López, Raquel Silva, Miguel Méndez, Ing. Andrés Rivas y Lic. Lorena Torres por su amistad, cariño, apoyo incondicional.

SOFIA ELIZABETH MORÁN ROSALES

ÍNDICE GENERAL.

Contenido	Paginas
RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Generalidades del cultivo de tomate.....	2
2.1.1. Importancia económica y nutricional del tomate en El Salvador.	2
2.1.2. Origen del tomate.	2
2.1.3. Taxonomía del tomate y descripción botánica.	3
2.1.4. Requerimientos nutricionales del tomate.	3
2.1.5. Fertirrigación.....	4
2.1.6. Plagas y enfermedades del tomate.....	4
2.1.7. Importancia económica de la marchitez bacteriana del tomate.....	4
2.2. Descripción de la marchitez bacteriana del tomate.....	5
2.2.1. Generalidades de la bacteria.....	5
2.2.2. Características de la bacteria.	5
2.2.2.1. Morfología.....	5
2.2.2.2. Fisiología.....	6
2.2.3. Ciclo de la enfermedad.....	6
2.2.4. Sintomatología de la enfermedad.	7
2.2.5. Diagnóstico simple confirmativo de marchitez bacteriana.	7
2.2.6. Caracterización de <i>Ralstonia solanacearum</i> en laboratorio.	7
2.3. Medidas fitosanitarias para el control de la marchitez bacteriana del tomate...	8
2.3.1. Métodos de control químico.....	8
2.3.1.1. Bactericidas y fumigantes.....	8
2.3.1.2. Hipoclorito de sodio.....	9
2.3.2. Control Biológico.	10
2.3.2.1. <i>Trichoderma spp.</i>	10
2.3.2.2. Microorganismos de montaña.	11
2.3.3. Enmiendas al suelo.	12
2.3.3.1. Ceniza.....	12
2.3.3.2. Bocashi.	12
2.3.4. Inducción de resistencia.	13
2.3.4.1. Ácido salicílico.....	13
2.3.5. Control Físico.	15

2.3.5.1.	Solarización.	15
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.	17
3.1.	Descripción del área de la investigación.....	17
3.2.	Fase de laboratorio.....	17
3.2.1.	Preparación de los medios artificiales.....	17
3.2.2.	Recolección de muestras vegetativas sintomáticas.	17
3.2.3.	Aislamiento, caracterización y purificación de las colonias de la bacteria. 18	
3.2.4.	Caracterización e Identificación de <i>R. solanacearum</i> E. F. Smith	18
3.2.4.1.	Prueba de tinción de Gram.....	19
3.2.4.2.	Prueba de KOH 3%.....	19
3.2.4.3.	Pruebas bioquímicas.....	19
3.2.5.	Preparación del inóculo del suelo.	22
3.2.6.	Inoculación del suelo.	23
3.2.7.	Determinación de la dosis mínima de hipoclorito de sodio (NaClO) que inhiba el crecimiento de <i>Ralstonia solanacearum</i> E. F. Smith	23
3.2.8.	Análisis físico-químico del suelo y los tratamientos.....	24
3.2.9.	Identificación de hongos en los microorganismos de montaña en fase líquida. 24	
3.3.	Fase de campo.....	25
3.3.1.	Delimitación del terreno.	25
3.3.2.	Preparación de plantines.	25
3.3.3.	Recolección de muestras para análisis.....	25
3.3.4.	Llenado de bolsas.	25
3.3.5.	Descripción y aplicación de los tratamientos.	26
3.3.5.1.	Solarización.	26
3.3.5.2.	Microorganismos de montaña en fase líquida.	27
3.3.5.3.	<i>Trichoderma harzianum</i>	27
3.3.5.4.	Bocashi.	28
3.3.5.5.	Ceniza.....	28
3.3.5.6.	Ácido salicílico.....	28
3.3.5.7.	Hipoclorito de sodio al 0.25%	28
3.3.5.8.	Testigo relativo.....	28
3.3.5.9.	Testigo absoluto.....	28
3.3.6.	Trasplante.	28
3.3.7.	Manejo agronómico del cultivo.	28
3.3.7.1.	Tutorado.....	28

3.3.7.2. Nutrición de la planta.....	29
3.4. Toma de datos.....	30
3.5. Metodología estadística.....	30
3.5.1. Diseño experimental.....	30
3.5.2. Análisis Estadístico.....	31
3.6. Metodológica económica.....	31
3.6.1. Presupuesto Parcial.....	31
3.6.2. Índice Costo-Efectividad.....	32
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1. Aislamiento de <i>Ralstonia solanacearum</i> E. F. Smith.....	33
4.2. Características morfológicas y fisiológicas de <i>Ralstonia solanacearum</i> E. F. Smith.	33
4.3. Efecto de los tratamientos fitosanitarios aplicados al suelo y al follaje para la variable severidad de la marchitez bacteriana del tomate.	34
4.4. Efecto de los tratamientos fitosanitarios aplicados al suelo y al follaje para la variable incidencia de la marchitez bacteriana del tomate.	35
4.5. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) para la variable incidencia.	38
4.6. Análisis económico.....	40
4.6.1. Presupuestos parciales.	40
4.6.2. Índice de costo-efectividad.	41
5. CONCLUSIONES.	42
6. RECOMENDACIONES.	43
7. BIBLIOGRAFÍA.	44
8. ANEXOS.....	51

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Identificación de las colonias y géneros de hongos en los MML.....	25
Cuadro 2. Preparación de los fertilizantes.....	29
Cuadro 3. Componentes para el cálculo de presupuesto parcial.	32
Cuadro 4: Caracterización morfológica y fisiológica de <i>Ralstonia solanacearum</i> E. F. Smith.	33
Cuadro 5: Comparación de promedios por Tukey ($\alpha=0.05$), de los tratamientos para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.....	37
Cuadro 6: Prueba Dunnett comparación de las medias de las Unidades de Enfermedad para ABCPE de la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate.	40

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Signos internos de la marchitez bacteriana en tomate:	18
Figura 2. Tinción de Gram:	19
Figura 3. Prueba de oxidasa:.....	20
Figura 4: Resultado intermedio de las pruebas TSI (tres azúcares hierro).	20
Figura 5. Prueba de Voges Proskauer.	21
Figura 6. Prueba de catalasa.	21
Figura 7. Prueba API® 20 NE:	22
Figura 8. Preparación de la suspensión bacteriana:	22
Figura 9. Aplicación del inóculo en el suelo.	23
Figura 10. Prueba <i>in vitro</i> para determinar dosis mínima de NaClO que inhibe el crecimiento de <i>R. solanacearum</i> E. F. Smith:	24
Figura 11. Aplicación de los tratamientos.....	26
Figura 12. Registro de temperatura.	27
Figura 13. Preparación de los Microorganismos de montaña en fase líquida:.....	27
Figura 14: Colonias de <i>Ralstonia solanacearum</i> E. F. Smith en medio Cetrimide	33
Figura 15. Severidad de la marchitez bacteriana del tomate por tratamiento	34
Figura 16: Incidencia de la marchitez bacteriana del tomate en un período de nueve semanas.	36
Figura 17. Unidades de enfermedad acumuladas (UEA) en los tratamientos durante el ciclo del cultivo de tomate.	39
Figura 18: Costos Efectividad y Presupuesto Parcial de los tratamientos.	41

ÍNDICE DE ANEXOS.

Figura A- 1. Zonas cultivadas con tomate en El Salvador	51
Figura A- 2. Decoloración del tejido vascular.	52
Figura A- 3. Exudado lechoso en tallo de tomate.....	52
Figura A- 4. Prueba de flujo bacteriano.....	52
Figura A- 5. Análisis de Calcio en la ceniza	53
Figura A- 6. Estructura de los hongos identificados.	54
Figura A- 7. Programa de fertilización durante la fenología del tomate	55
Figura A- 8. . Escala de severidad de la marchitez bacteriana del tomate.	56
Cuadro A- 1. Valor nutricional del tomate.....	57
Cuadro A- 2. Características de las razas y sus relaciones a biovars de <i>R. solanacearum</i>	57
Cuadro A- 3. Registro de pH al suelo y muestras	58
Cuadro A- 4. Registros diarios de las temperaturas durante las siete semanas de solarización al suelo.....	58
Cuadro A- 5. Porcentaje de incidencia la marchitez bacteriana del tomate, registrada en nueve semanas.	59

Cuadro A- 6. Índice de severidad promedio semanal de la marchitez bacteriana del tomate.	60
Cuadro A- 7. Datos de las cosechas.	60
Cuadro A- 8. Unidades de enfermedad para el Área Bajo la Curva de la Enfermedad (ABCPE)	60

1. INTRODUCCIÓN

El tomate, es una hortaliza de gran importancia a nivel nacional, por su consumo *per cápita* 19.07 Kg¹ y generación de empleos (IICA *et al.* 2012?). Según datos del Anuario de la Dirección General de Economía Agropecuaria (2014), en el 2013 la producción estuvo concentrada en 598.82 hectáreas (ha), sembradas a nivel nacional con un rendimiento promedio de 53,372.13 Kg/ha, obteniéndose una producción de 31,960,300 Kg, tal cantidad no logra satisfacer la demanda nacional, por lo que se importó de los países centroamericanos 89,569,884.19 kg de tomate, lo que implicó una fuga de divisas equivalente a USD\$ 10,273,306.56.

La marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum* E.F. Smith) es una de las enfermedades de gran importancia económica a nivel mundial. En el país uno de los principales problemas al que se enfrentan los productores en el cultivo del tomate es a la incidencia de la marchitez bacteriana, causada por la bacteria *R. solanacearum*. Según el Programa de Hortalizas CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal), las pérdidas en rendimiento y calidad del cultivo de tomate a nivel nacional, son causadas en un 80% por bacterias y entre ellas el 60% se debió a *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith².

El tratamiento de la marchitez bacteriana del tomate requiere de la aplicación de antibióticos al suelo, lo cual es una medida antieconómica y ecológicamente inaceptable (FHIA *et al.* 2012). Entre las medidas fitosanitarias utilizadas para el control de la enfermedad se ha utilizado tratamientos a base de enmiendas al suelo (Lino Rodríguez y Portal Miranda 2013), control biológico (Narasimha Murthy *et al.* 2013), control físico (López Tzoc 2004, Kongkiattikajorn 2007 *et al.* 2007, citado por Yuliar *et al.* 2015) e inducción de resistencia (Valbuena Calderón 2003, Mandal *et al.* 2013).

Los objetivos planteados en la investigación, fue comprobar la eficacia de tratamientos físicos (solarización), biológicos (*Trichoderma harzianum*, microorganismos de montaña líquido y bocashi), químico (antibióticos y lejía comercial), enmiendas (ceniza) e inducción de resistencia (ácido salicílico), que pudieran ser utilizados por los productores dentro de un programa de manejo integrado de la marchitez bacteriana del tomate.

¹ El consumo per cápita fue calculado con datos del anuario estadísticos del DGEA (2014) y de la población del El Salvador de la página en línea <http://countrymeters.info/>

² Larín, M. 2015. Situación actual de las pérdidas causadas por Marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*). (Entrevista). SV, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). E-mail: malarin58@gmail.com

2. REVISION BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Generalidades del cultivo de tomate.

2.1.1. Importancia económica y nutricional del tomate en El Salvador.

De la diversidad de hortalizas de follaje y frutos cultivados a nivel nacional, el tomate es el de mayor importancia, ya que ocupa el puesto uno, en cuanto a generación de empleo, para el 2009 por hectárea se necesitó alrededor de 274 jornales (IICA *et al.* 2012?).

Según datos del Anuario de la Dirección General de Economía Agropecuaria (2014), en el 2013 la producción estuvo concentrada en 598.82 hectáreas (ha), sembradas a nivel nacional (Figura A-1) con un rendimiento promedio de 53,372.13 Kg/ha, obteniéndose una producción de 31,960,300 Kg, tal cantidad no logra satisfacer la demanda nacional, por lo que se importó de los países centroamericanos 89,569,884.19 kg de tomate lo que implicó una fuga de divisas equivalente a USD\$ 10,273,306.56.

Desde el punto de vista alimenticio, el tomate es la hortaliza que por su versatilidad de consumo es una de las más importantes. El consumo per cápita anual en Estados Unidos es alrededor de 45 kg, en Europa es de 27.4 kg (ODEPA 2012), mientras que en El Salvador es de 19.07 Kg¹.

Según estudios realizados por Stevens 1974, citado por Cabrera-Salazar (2004) en el valor nutricional del tomate tiene una concentración relativa de un grupo de diez vitaminas y minerales (Cuadro A-1).

2.1.2. Origen del tomate.

El origen del género *Lycopersicon* es localizado en una pequeña área geográfica de Suramérica, limitada al sur por la latitud 30' (norte de Chile), al norte por el Ecuador y el sur de Colombia, al este por la cordillera de los Andes y al oeste por el Océano Pacífico, incluyendo el Archipiélago de las Islas Galápagos (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar 2004); y llevado desde allí a Centroamérica y México (región de Veracruz y Puebla) donde probablemente fue domesticado y posteriormente llevado por los conquistadores a Europa, siendo los españoles y portugueses los que lo difundieron a Oriente Medio y África, y de allí a otros países asiáticos, y de Europa también difundido a Estados Unidos y Canadá (Escalona *et al.* 2009).

El tomate cultivado actualmente, se deriva de su ancestro *L. esculentum var. Cerasiforme*, que comúnmente se conoce como tomatillo, que se encuentra en forma silvestre en los trópicos de Centro América (CATIE 1990).

¹ El consumo per cápita fue calculado con datos del anuario estadísticos del DGEA (2014) y de Countrymeters (2015).

2.1.3. Taxonomía del tomate y descripción botánica.

El tomate es una dicotiledónea, perteneciente a la familia Solanaceae y al género *Lycopersicon* y a la especie cultivada *L. esculentum* Mill; este género posee nueve especies silvestres relacionadas. El nombre genérico y específico del tomate fue dado por Miller en 1788 (Vallejo citado por Vallejo Cabrera y Estrada Salazar), como propuesta para reemplazar al *Solanum lycopersicon* (Salas Sanjuán y Urrestarazu Gavillán 2001).

El tomate agrónomicamente se distingue en dos tipos; determinados e indeterminados (Haeff 1992, citado por Arteaga y Avendaño 2004). Las plantas indeterminadas se caracterizan por tener un crecimiento extensivo, postrado, y sin límite, los tallos presentan segmentos uniformes con tres hojas y una inflorescencia, terminando siempre con un ápice vegetativo. A diferencia de esta, las plantas determinadas de tipo arbustiva con la formación de inflorescencia en el extremo del ápice, que resulta en un crecimiento limitado. Es una planta perenne, de porte arbustivo, con el tallo principal semi-leñoso, de grosor mediano entre 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando las hojas, tallos secundarios e inflorescencias. Las hojas son compuestas e imparipinnadas, con siete a nueve folíolos peciolados, lobulados y con borde dentado, dispuestas de forma alternada sobre el tallo. El sistema radicular alcanza una profundidad de hasta 2 m, con una raíz pivotante y muchas raíces secundarias (Escalona *et al.* 2009).

La inflorescencia es un dicasio compuesto generalmente por cuatro a doce flores; la flor es perfecta, regular e hipógina (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar 2004); y 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. Las flores se agrupan en inflorescencias, la primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal, desarrollándose cada 2-3 hojas en las axilas. El fruto es una baya de forma globular, ovoide o aplastada, cuyo peso oscila, según variedades, entre 5 y 500 g y está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas (Escalona *et al.* 2009).

La semilla posee forma plana y ovalada, mide entre 1 y 5 mm según la variedad y grado de desecado (Haeff 1992, citado por Arteaga y Avendaño 2004); y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal la cual está recubierta de tricomas (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar 2004).

2.1.4. Requerimientos nutricionales del tomate.

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: Nitrógeno (N) 150, Fósforo (P) 200, Potasio (K) 275, Calcio (Ca) 150, Magnesio (Mg) 22, y Azufre (S) 22. El orden de extracción de nutrientes por la planta de tomate en forma decreciente es K, N, Ca, S, Mg y P (CENTA y JICA s.f.).

2.1.5. Fertirrigación.

La fertirrigación es la aplicación de fertilizante a través de los sistemas de riego. Para ello se utilizan sales inorgánicas de alta solubilidad que contienen uno o más elementos nutritivos. En la fertirrigación los nutrientes van disueltos en el agua de riego, y por tanto, son absorbidos y aprovechados de inmediato por la planta, además, es una solución rápida para deficiencia específicos. Para optimizar la nutrición en los cultivos con la fertirrigación es necesario realizar diferentes actividades como: análisis de agua y suelo, y conocer la demanda nutricional del cultivo durante su ciclo vegetativo (AAIC 2004).

El análisis de la calidad del agua, es importante conocer la cantidad de sales disueltas ya que sirven como un punto de partida, para preparación de la solución nutritiva (fertilizantes disueltos que la planta necesita) del cultivo. Para determinar la calidad del agua para la solución nutritiva se toma en cuenta los parámetros físico-químicos, midiéndolos a través del pH (indica la acidez o basicidad de una solución) y conductividad eléctrica (cantidad de sales en el agua) (AAIC 2004; SIAR Castilla-La Mancha 2005).

Para elaborar la solución nutritiva, existen numerosos fertilizantes en el mercado que pueden ser utilizados. La elección depende de las características del producto y de la interacción suelo, agua, planta y sistema de riego (AAIC 2004).

2.1.6. Plagas y enfermedades del tomate.

Una de las fuentes de riesgo de más importancia para el productor son las plagas y enfermedades, según percepciones del Programa de Hortalizas CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal), las pérdidas en rendimiento y calidad del cultivo de tomate en El Salvador, es causada en un 80% por bacterias y entre ellas el 60% es causado por *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith¹.

Según los datos de los registros de análisis en muestras de suelo, agua y tejidos vegetales, realizados en el Laboratorio de Parasitología Vegetal del CENTA, entre los años 2011- 2015, se ha determinado la presencia de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, en diferentes zonas del país; siendo el municipio de Ciudad Arce, departamento de La Libertad con mayor número de registros por marchitez bacteriana².

2.1.7. Importancia económica de la marchitez bacteriana del tomate.

La marchitez bacteriana del tomate es causada por *Ralstonia solanacearum*, raza 1 y 3. Esta enfermedad es de gran importancia económica ya que constituye un obstáculo en la producción de tomate, en el área tropical y sub tropical, (CATIE 1990, CIP 1996, FHIA *et al.* 2012).

¹Larín, M. 2015. Situación actual de las pérdidas causadas por Marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*). (Entrevista). SV, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). E-mail: malarin58@gmail.com

²Laboratorio de Parasitología. 2015. Registros de los análisis del Laboratorio de Parasitología (Consulta), CENTA, El Salvador.

En El Salvador en las últimas décadas se han registrado por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE1990), pérdidas de un 40% en el rendimiento de la producción.

2.2. Descripción de la marchitez bacteriana del tomate.

2.2.1. Generalidades de la bacteria.

Ralstonia solanacearum, fue descrita en 1896 por Smith E. F, como *Bacillus solanacearum* y desde entonces ha tenido diferentes sinónimos como *Pseudomonas solanacearum* por Smith en 1914, *Burkholderia solanacearum* Muthonium por Yabuuchi y Col en 1993 y fue hasta 1995 según investigaciones de Yabuuchi, que fue transferida al género actual como *Ralstonia solanacearum* (Muthoni *et al.* 2012; *Ralstonia solanacearum...* 2009).

Los primeros reportes de esta enfermedad fueron en Italia en 1882, de aquí su diseminación a los continentes del mundo. En América Latina fue descrita en 1965, en áreas amazónicas de América del Sur y en las grandes latitudes de Perú, Costa Rica y en Guatemala en el municipio de Palencia (Walker 1975; Hooker 1980, citados por Loarca Marroquín 1987).

La clasificación taxonómica actual de *Ralstonia* es: Dominio: Bacteria; Phylum: Proteobacteria; Clase: Betaproteobacteria; Orden: Burkholderiales; Familia: Ralstoniaceae; Género: *Ralstonia*; Especie: *solanacearum* (Dirección General de Sanidad Vegetal Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria 2013).

Ralstonia solanacearum tiene un amplio rango de hospederos, se conoce que afecta a más de 200 especies de plantas tanto cultivadas como silvestres (hospederos alternos), que están representadas en 50 familias (*Ralstonia solanacearum...* 2009). Además difiere en la distribución geográfica, patogenicidad, relaciones epidemiológicas y propiedades fisiológicas. Por esta razón, durante las últimas tres décadas han sido clasificadas de manera informal en cinco razas (Cuadro A-2), de acuerdo a su gama de hospederos y en seis biovars por su capacidad de fermentar algunos azúcares, pero este viejo sistema de clasificación es insatisfactorio porque no es predictivo y algunos grupos (por ejemplo raza 1) contienen mucha variación (Champoiseau 2009, Naranjo Feliciano y Martínez Zubiaur 2013).

2.2.2. Características de la bacteria.

2.2.2.1. Morfología.

Ralstonia solanacearum, es una bacteria Gram negativa, en forma de bacilos (0,5-0,7 µm de diámetro por 1,5-2,0 µm de largo), aeróbica, móvil, no forma esporas ni capsulas (Watanebe 2006, citado por Rodríguez Martínez 2007).

Champoiseau (2009), menciona que al aislar la bacteria en medios de cultivos sólidos, se puede observar dos clases de colonias; las colonias de tipo normal o virulento que son blancas o color crema, irregularmente redondas, fluidas, y opacas; y las colonias de tipo

mutante o no virulentas que son uniformemente redondas, más pequeñas y secas. Según Kelman 1954 citado por Gómez Calvo (2005), la diferencia entre las clases de colonias y niveles de virulencia es debido a la presencia y cantidad de polisacárido extracelular producido por la bacteria.

El medio de cloruro de tetrazolio (TZC) permite diferenciar las dos clases de colonias, en el cuál colonias virulentas aparecen color blanco con centros rosa y colonias no virulentas aparecen de color rojo oscuro (Champoiseau 2009).

El medio semi-selectivo modificado de aislamiento de suelo (SMSA por sus siglas en ingles), se utiliza para el descubrimiento de *R. solanacearum* en muestras de agua, tierra y en tejidos de planta. En este medio, las colonias bacterianas son fluidas, de forma irregular, y blancas con centros color rosa después de 2 a 5 días de incubación a 28°C (Champoiseau 2009).

En medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar), las colonias aisladas de *R. solanacearum* son de color crema o blanquecinas (Loarca Marroquin 1987).

2.2.2.2. Fisiología.

R. solanacearum E.F. Smith es muy sensible a la desecación y es inhibida en cultivo de bacterias con concentraciones bajas (2%) de cloruro de sodio (NaCl). Para la mayoría de las cepas, la temperatura óptima de crecimiento es entre 28 y 32°C; sin embargo algunas cepas tienen una temperatura óptima de crecimiento más baja de 27°C (Champoiseau 2009).

Análisis bioquímicos realizados por Sasidharan Sreedevi *et al.* (2013), demostraron que *R. solanacearum* reacciona positivo a las pruebas de oxidasa, catalasa, movilidad arginina y negativo a las prueba Voges Proskauer; pero a la prueba de TSI (Tres Azucares Hierro) resulta intermedia (inclinación positiva y fondo negativo).

A través de las pruebas de tinción de Gram y KOH al 3% se determina y confirma que *R. solanacearum* es un bacteria Gram negativa (CIP 1996, Schaad 1988, citado por García *et al.* 1999).

2.2.3. Ciclo de la enfermedad.

Ralstonia solanacearum puede sobrevivir en el suelo independientemente como un organismo de vida libre, en la rizósfera de las plantas cosechadas o malezas, localizándose en muchos casos hasta una profundidad de 70 cm y en ambientes acuáticos. Se ha determinado que la raza 1 puede sobre vivir por seis años en condiciones de barbecho y por más de 10 años en suelos cultivados con plantas no susceptibles. La bacteria penetra por heridas de las raíces causadas por insectos, nematodos o prácticas agrícolas. En condiciones muy favorables puede penetrar a nivel de hendiduras donde emergen las raíces secundarias. También puede penetrar en plantas por heridas de tallo causadas por insectos. Una vez que la infección ha ocurrido

en las raíces, las bacterias colonizarán la planta por el xilema en los haces vasculares, este proceso es acelerado por temperaturas altas (CATIE 1990, Champoiseau 2009).

2.2.4. Sintomatología de la enfermedad.

Síntomas externos.

La marchitez bacteriana es una enfermedad que se propaga invadiendo internamente el tejido vascular, principalmente los vasos de las raíces y el tallo, una vez invadidos los haces vasculares del tomate, se presenta una tendencia a formar raíces adventicias (síntomas externos) que se desarrollan en el tejido, precisamente en la parte exterior del haz invadido (Messiaen 1995, citado por Hernández *et al.* 2005).

Sin embargo el síntoma característico se presenta en la parte superior de las plantas infectadas (etapa final de la enfermedad) (Rodríguez Martínez 2007), observándose una flacidez en las hojas del ápice de la planta, enrolladas hacia dentro del haz, sin brillo y con plasmólisis; sin embargo, característicamente conservan su color natural de la planta aunque temporalmente adheridas ya que tienden eventualmente a desprenderse (FHIA *et al.* 2012). Otro síntoma común que puede ser asociado con marchitez bacteriana en campo es el enanismo de las plantas (Champoiseau 2009).

Síntoma interno.

Cuando la infección de la enfermedad es bien avanzada, ocurre una decoloración vascular color marrón (Figura A-2), esto se aprecia realizando un corte longitudinal en la periferia basal del tallo de tomate (FHIA *et al.* 2012).

2.2.5. Diagnóstico simple confirmativo de marchitez bacteriana.

Luego de observar los diferentes síntomas, se puede determinar la presencia de la bacteria en el tejido vascular de la planta de tomate a través de dos pruebas en campo.

Un signo común de marchitez bacteriana es observar un exudado pegajoso y lechoso, que indica la presencia de masas densas de células bacterianas, esto se realiza generando presión con los dedos a un trozo de tallo basal (Figura A-3) (FHIA *et al.* 2012).

Otro diagnóstico es la “prueba del flujo bacteriano” o “hilo de exudado bacteriano”, consiste en sumergir ligeramente un trozo de tallo basal de tomate recién cortado en un recipiente con agua limpia (sin turbidez) dentro de un vaso u otro recipiente transparente, luego de pocos minutos se aprecia un flujo o hilo lechoso saliendo de tallo (Figura A-4), tornando el agua turbia (Champoiseau 2009, FHIA *et al.* 2012).

2.2.6. Caracterización de *Ralstonia solanacearum* en laboratorio.

Luego del diagnóstico en campo de síntomas sospechosos de bacteriosis en plantas de tomate, es posible identificar sin ambigüedad el género, la especie y biovar de la bacteria, a través de métodos microbiológicos que consisten en aislar y purificar el patógeno, para

observar las características morfológicas, fisiológicas y patológicas, analizadas mediante diferentes pruebas (Denny y Hayward 2001, citado por Rodríguez Martínez 2007, Champoiseau 2009).

2.3. Medidas fitosanitarias para el control de la marchitez bacteriana del tomate.

El concepto de medida fitosanitaria representa el conjunto de actividades utilizadas para eliminar o controlar las plagas (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos) en los cultivos¹.

Se debe comprender que la marchitez bacteriana del tomate es difícil de controlar ya que no se conocen actualmente productos químicos que, aplicados en las plantas antes o después de ocurrida la infección por la bacteria, eviten el desarrollo de la marchitez bacteriana. Los únicos productos disponibles son antibiótico y fumigantes que, aplicados al suelo antes de sembrar el cultivo, reducen la incidencia de la enfermedad. Pero es necesario estar consiente que el uso aislado de pocas medidas de control no rendirá el efecto deseado para desarrollar un cultivo exitoso. En consecuencia, es necesaria la aplicación integrada de estrategias de combate que sea práctico y razonable utilizarlas porque la contribución de cada una de ellas mejorará los niveles esperados de control (FHIA *et al.* 2012).

2.3.1. Métodos de control químico.

El control químico de enfermedades en plantas hace referencia al uso de sustancias tóxicas, de síntesis química, con acción biocida, con el objetivo de matar o controlar los patógenos que afectan los cultivos, se basa en la mayoría de los casos en la aplicación de fungicidas y en menor grado de bactericidas y nematocidas (Rivas Flores 2012).

2.3.1.1. Bactericidas y fumigantes.

Los bactericidas o antibióticos como triazolothiadiazine, sulfato de estreptomina, sulfato de gentamicina y oxitetraciclina, en el control de la marchitez bacteriana en tomate han mostrado ser poco efectivos, en comparación a los fumigantes tales como metam sodio, 1,3-dicloropropeno y cloropicrina, que en combinación de bromuro de metilo o metam sodio con cloropicrina han mostrado reducir significativamente la marchitez bacteriana en el campo entre un 72% al 100% (FHIA *et al.* 2012, Gómez *et al.* 2003; Santos *et al.* 2006, citado por Yuliar *et al.* 2015).

Según Edwards-Jones citado por Yuliar *et al.* (2015), menciona que el uso de plaguicidas ofrece mayores beneficios netos que otros métodos de control, pero esto no ha sido siempre el caso. Por el contrario estos productos son tóxicos y pueden permanecer en el ambiente por años (FHIA *et al.* 2012, Gadeva *et al.* 2008, citado por Yuliar *et al.* 2015).

¹Rivas Flores, AW. 2014. Concepto de Medidas Fitosanitarias. (Entrevista). San Salvador, SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: awrivas@yahoo.com.

2.3.1.2. Hipoclorito de sodio.

El hipoclorito de sodio (NaClO) es un producto químico inorgánico básico y alcalino (pH de alrededor de 11), con una amplia variedad de usos. Típicamente se encuentran a concentración de 12-16% de cloro activo para uso industrial, y es más común para uso doméstico interno en 3-5% de cloro activo (Torres 2008; Arkema 2013).

La lejía (hipoclorito de sodio) comúnmente conocida, es usada para eliminar microorganismos en diferentes tipos de superficie; esa actividad del hipoclorito de sodio se reduce en presencia de iones metálicos, materiales orgánicos y bajo pH o luz UV (Torres 2008).

En la agricultura, este producto es utilizado como una medida fitosanitaria para desinfectar estructuras (invernaderos), herramientas (tijeras de podar, navajas, bandejas de siembra, recipientes etc.) y material vegetativo (semillas, tubérculos, cormos). También se utiliza para eliminar microorganismos fitopatógenos presentes en el agua de riego. Dependiendo del tipo de superficie a desinfectar se menciona utilizar soluciones de NaClO al 1% (semillas), 2% (estructuras y herramientas) y para desinfectar cormos de musáceas se debe sumergir en una solución clorada (5 ml por litro de agua) por tres minutos (Sandoval Briones 2004, Asociación El Bálsamo 2013).

Investigaciones demostraron que 2,4 mg/L de cloro libre con un tiempo de contacto de 5 minutos en el agua de riego eliminaron a todos los hongos y oomicetos (Cayanan *et al.* 2008).

Según investigación observativa realizada por Menjívar Rosa¹ en parcelas demostrativas para el Manejo Integrado de Plagas, en la Estación Experimental y Prácticas, de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, observó que las aplicaciones empíricas de dosis de lejía comercial (80 ml lejía por litro de agua) al suelo redujo la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate causada por *R. solanacearum* E.F. Smith, en comparación a reportes de años anteriores. Además menciona las ventajas del uso de lejía comercial (hipoclorito de sodio) para el control de patógenos del suelo; tiene un costo menor y mayor disponibilidad de adquirir hipoclorito de sodio en comparación con los plaguicidas. La desventaja que considera en el uso de éste agente químico (producto biocida), es que no se conoce la persistencia o duración del hipoclorito de sodio en el suelo y sobre la fauna benéfica del suelo.

¹ Menjívar Rosa, RA. 2014. Investigación observativa en el uso de lejía comercial (hipoclorito de [sodio] para el control de la Marchitez bacteriana en tomate. (Entrevista). SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: rafaelmenjivarrosa@yahoo.com.

2.3.2. Control Biológico.

Es el uso de microorganismos vivos para el control de patógenos, a través de diferentes tipos de antibiosis¹.

El uso de microorganismos benéficos ha incrementado su interés y demanda como alternativa en el manejo integrado de patógenos de importancia económica, debido a las muchas restricciones en el uso de productos químicos (Bustamante *et al.* 2000, citados por Arteaga 2004).

2.3.2.1. *Trichoderma spp.*

La utilización de microorganismos antagónicos competitivos para la protección de los cultivos de los patógenos del suelo, ha tenido especial atención en especies del género *Trichoderma* como agente de biocontrol. (Nalimova s.f.).

Los hongos del género *Trichoderma* empezaron a utilizarse a partir de 1970. En experimentos de control biológico y como antagonistas de fitopatógenos en suelo y semillas, con efecto inhibitor según especie empleada del género *Trichoderma* (Alexopoulos y Mims 1979, citados por Ceballos *et al.* 2014).

Este hongo hiperparásito actúa por medio de una combinación de competencia por nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas, y micoparasitismo; produce sustancias promotoras de crecimiento y activación radicular de las plantas, y la aplicación directa al suelo ofrece incluso una mayor protección a los cultivos (Nalimova s.f.).

Según estudios realizados por Ceballos *et al.* (2014), la utilización de *Trichoderma sp.*, ha tenido un efecto positivo que permite recuperar el equilibrio biológico en el suelo, ya que logra reducir notoriamente las poblaciones de organismos patógenos como *Ralstonia solanacearum* raza 2.

En investigaciones *in vitro* y en condiciones de invernadero se demostró el efecto antagonista de cepas de *T. asperellum* sobre cepas de *Ralstonia solanacearum*, además redujo la incidencia de la marchitez bacteriana por más del 50% en el invernadero (Narasimha Murthy *et al.* 2013).

Otro estudio *in vitro*, demostró que a través de las proteínas en los metabolitos líquidos de las cepas de *T. hamatum*, se determinó mayor actividad antimicrobiana contra el patógeno de la marchitez bacteriana causado por *R. solanacearum* (Cheng *et al.* s.f.).

¹Paniagua Cienfuegos, MR. 2015. Manejo pre-cosecha y post-cosecha de enfermedades en productos de consumo fresco. (Capacitación). SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: mrpaniagua@gmail.com.

2.3.2.2. Microorganismos de montaña.

Los microorganismos de montaña (MM) están constituidos por colonias de hongos, bacterias, micorrizas, levaduras y otros organismos benéficos que se encuentran de manera natural en diferentes ecosistemas, en los cuales se genera una descomposición de materia orgánica, que se convierte en los nutrientes para el desarrollo de su flora. Dichos microorganismos son un cultivo mixto líquido de microorganismos benéficos entre ellos *Lactobacillus spp*, *Saccharomyces spp*, *actinomicetos* y hongos fermentadores, que se relacionan de forma simbiótica coexistiendo entre sí, lo cual ha generado efectos positivos para un ambiente en equilibrio (Campo Martínez *et al.* 2014).

El uso de la tecnología de microorganismos para la agricultura fue desarrollada en los años 80 por un japonés, el Dr. Teruo Higa y fue ganando popularidad a través de los productos comerciales elaborados en laboratorios y conocidos como Microorganismos Eficaces (EM), que son cultivos mixtos que contienen especies seleccionadas de microorganismos de origen natural que pueden aplicarse como inoculantes para incrementar la diversidad microbiana en plantas y suelos. La reproducción de los microorganismos que viven naturalmente en los bosques y que comúnmente son llamados “Microorganismos de Montaña” cumplen roles benéficos en los procesos biológicos del suelo, y pueden ser encontrados en la capa superficial y orgánica (hojarasca) en suelo donde no haya habido intervención depredadora del hombre (Calampa *et al.* s.f).

Investigaciones han demostrado que los microorganismos benéficos pueden incrementar el valor nutricional, aumentar la supervivencia y disminuir enfermedades mediante la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas; en contraste, existen estudios que han reportado efectos nulos o negativos con el uso de microorganismos, debido a que dependen de diversos factores como son; las especies de cultivo, los sistemas de producción, la escala de cultivo (laboratorio y granjas), la densidad de siembra, utilización de microorganismos provenientes de otros ambientes y la dosis de los microorganismos (Campo *et al.* 2014).

En El Salvador, el uso de dichos microorganismos extraídos a partir de fuentes naturales para su reproducción artesanal y luego aplicación al suelo es una técnica que se está implementando en la zona alta de Las Pilas en el departamento de Chalatenango y en otras áreas del país en donde se producen cultivos orgánicamente (Pérez Mancía *et al.* s.f.); dicha práctica para recolectar y reproducir los microorganismos de montaña en forma sólida y líquida para aplicarlos a los suelos esta descrita por CENTA y JICA (s.f.), en la “Guía técnica 4: microorganismos”.

Investigación realizada en CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, El Salvador) en el aislamiento e identificación de hongos de MM, procedentes de muestras de la zona alta de Chalatenango, se identificaron los géneros de hongos: *Penicillium spp*, *Beauveria spp.*, *Verticillium spp.*, *Mortierella spp.*, *Gelasinospora spp.* y *Streptomyces spp.* (Pérez Mancía *et al.* s.f.).

En ensayos *in vitro*, se determinó el efecto inhibitor de los microorganismos eficaces (EM) sobre hongos y bacterias (*Xanthomonas* y *Pseudomonas solanacearum*), en concentración de 5% de EM (Castro *et al.* s.f.).

2.3.3. Enmiendas al suelo.

Las enmiendas al suelo, son la incorporación de materiales que mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo; además, pueden tener efectos positivos sobre el crecimiento de las plantas. La aplicación de enmiendas orgánicas, puede reducir las enfermedades transmitidas por el suelo mediante la liberación de aleloquímicos generados durante el almacenamiento del producto, o por la posterior descomposición microbiana (Bailey y Lazarovits 2003).

2.3.3.1. Ceniza.

La ceniza es el producto de la combustión de la biomasa forestal, la cual contiene nutrientes como K, P, Mg y Ca en forma relativamente solubles. Algunos elementos se encuentran como óxido, hidróxido y carbonatos, lo cual hace al material alcalino (Ohno y Erich 1990; Etiégni y Campbell 1991 citado por Solla Gullón *et al.* 2001, Gonzales Barragán *et al.* 2008; Demeyer *et al.* 2001, citado por Gartzia Bengoetxea y González Arias 2013).

Este material tiene muchos usos en la agricultura como abono, debido a análisis realizados en la ceniza que destacan las importantes concentraciones de Ca, Mg y K, elementos que se encuentran en formas solubles (Solla Gullón 2001). Además la ceniza es usado como insecticida para repeler gusanos del suelo (Asociación El Bálsamo 2013), también controla organismos que son favorecidos por la acidez del suelo como *R. solanacearum*, debido a las propiedades de la ceniza de corregir la acidez (Lemaga *et al.* 2001; Lemaga *et al.* 2005; Messiha 2006, citados por Muthoni *et al.* 2012, Lino Rodríguez y Portal Miranda 2013).

Estudios han demostrado que la aplicación de ceniza aporta concentraciones de Ca (Calcio) en la dilución (Solla Gullón 2001); la aplicación de Ca al follaje o al suelo antes de la siembra ayuda a reducir la incidencia de la marchitez bacteriana (Bolaños Herrera 2001); también reduce la población de *R. solanacearum* en los tallos de tomate (Yamazaki y Hoshina 1995; Yamazaki *et al.* 2006, citado por Yuliar *et al.* 2015).

Otras investigaciones aplicando diferentes enmiendas al suelo; han demostrado que previó a la siembra la dosis de cuatro onzas de ceniza por postura, reduce la incidencia (media del T= 12.5%) y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (unidades de enfermedad 0.75) (Lino Rodríguez y Portal Miranda 2013).

2.3.3.2. Bocashi.

La palabra bocashi deriva del idioma japonés que significa cocer al vapor los materiales del abono. A través del proceso de fermentación aeróbica se obtienen los nutrientes

necesarios para el desarrollo de los cultivos. Su utilización es principalmente en hortalizas y granos básicos, para suministrar los nutrientes necesarios y adecuados al suelo, donde son absorbidos por las raíces de los cultivos para su normal desarrollo (MAG 2011).

Es una excelente alternativa para la fertilización orgánica por su fácil elaboración y aporte de microorganismos al suelo, que contribuyen a disminuir las poblaciones de microorganismos patógenos y a recuperar la microfauna benéfica para el aprovechamiento de la materia orgánica, además aporta nutrientes mayores (N, P, K) y menores (Ca, Mg, Mn, Co, etc.) en cantidades balanceadas y disponibles para las plantas (Cáritas de El Salvador Diócesis de Zacatecoluca Pastoral de la Tierra 2009).

En ensayos de tesis se evaluó dosis de bocashi para el control de marchitez bacteriana en tomate dando como resultado que la dosis de nueve onzas de bocashi proporcionó los mejores efectos en altura, número de hojas y retardo de la aparición de los síntomas; debido al aporte de nutrientes y microorganismos, presentando una incidencia de la marchitez bacteriana del tomate del 25% (Lino Rodríguez y Portal Miranda 2013).

Milagrosa y Balaki (1999) también reportaron que la incidencia de la marchitez causada por *Pseudomonas solanacearum* en papa fue menor con la aplicación de Bocashi y EM (Microorganismos Efectivos).

Otras investigaciones demostraron, que después de 30 días de haber aplicado bocashi elaborado a base de hojas de canela, clavo de olor y hojas de betel, suprimió el desarrollo de las poblaciones bacterianas de *R. solanacearum* en la rizosfera del tomate con un porcentaje de inhibición de 71 a 90.08% (Fikri 2013).

2.3.4. Inducción de resistencia.

La resistencia en plantas es la combinación de defensas físicas y químicas. Estas defensas incluyen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), la biosíntesis de fitoalexinas, acumulación de proteínas relacionadas con la resistencia a la patogénesis (PR por sus siglas en inglés) y la pared celular de refuerzo (Hammerschmidt 1999, citado por Walters y Fountanie 2009).

2.3.4.1. Ácido salicílico.

El ácido salicílico (AS) es un compuesto que se encuentra en todos los tejidos de las plantas, específicamente en hojas jóvenes, meristemos florales, vegetativos y es transportado vía floema, sus concentraciones son elevadas cuando las células u órganos de las plantas, son sometidas a alguna clase de estrés, sea este biótico o abióticos. (Benavides Mendoza s.f.)

El ácido salicílico forma parte de un amplio grupo de compuestos sintetizados en plantas denominados fenólicos, los cuales poseen en su estructura química un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático. Los compuestos fenólicos participan en muchas funciones metabólicas en plantas, como son la síntesis de lignina, actividad alelopática, y en

algunos casos en la biosíntesis de compuestos relacionados a la defensa como las fitoalexinas (Sanchez *et al.* 2010).

El ácido salicílico comenzó a sobresalir como indicadora en plantas, se encuentra en los tejidos en forma libre o conjugada; a excepción de unas pocas plantas como el arroz y la papa. También se demostró su importancia en las reacciones de defensa contra patógenos (Raskin *et al.* 1992, Malamy *et al.* 1990, citados por Benavides Mendoza s.f.).

Aplicaciones exógenas de AS aumentaron los niveles endógenos de AS en los tejidos afectados por el virus del mosaico en plantas tabaco, incrementando en esta manera la resistencia sistemática adquirida y reduciendo el área de la lesión (Hennig *et al.* 1993, citado por Benavides Mendoza s.f.).

El AS no tiene ningún efecto directo sobre las enfermedades y plagas. También hay que tener en mente que el aplicar AS no significa que inmediatamente obtienen resistencia. A la planta le toma de 4 a 7 días para levantar sus defensas. El uso de este programa es preventivo, no curativo. El AS no va a tener el control deseado por sí solo. En todos los estudios realizados se ha encontrado que aumenta el control que ejercen los fungicidas, bactericidas, nematocidas o insecticidas; esto significa que se debe de realizar la aplicación de los plaguicidas que sean necesarios, pero se requiere menos de ellos con el uso del AS, y se puede lograr cultivos más sanos con mejores rendimientos. (Cuenta del Desafío del Milenio Honduras 2008). También es recomendable tener un manejo integrado de cultivo, esto se debe a que si la planta no está saludable y fuerte, al aplicar ácido salicílico la planta ocupara parte de la energía en resistencia, incidiendo en un producción baja, de igual manera una dosificación del AS puede estresar la planta causando bajos rendimientos.

El AS al aplicarlo de forma exógena en concentraciones de 10^{-2} a 10^{-8} M, aumenta la biomasa de soya (Gutiérrez-Coronado *et al.* Citado por Ramírez 2012), el rendimiento de trigo al igual que el rendimiento y la calidad de diversas hortalizas (López *et al.* 1998, citado por Ramírez 2012).

Aplicaciones de inductores de resistencia (ácido salicílico, Microorganismos Eficaces “EM” y cepas atenuadas de *Ralstonia solanacearum*) en raíces, previo al trasplante bajo condiciones controladas (vivero), demostraron reducir en un 80% la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate, contrario en condiciones de campo que no mostraron una clara efectividad significativa entre los inductores de resistencia y tratamiento sin control (Valbuena Calderón 2003).

En otra investigación con el uso de inductores de resistencia (ácido salicílico, chitosan y ácido jasmónico) en plantas de tomate hidropónico, redujo la infección y el desarrollo del marchitamiento por *Ralstonia solanacearum* (Mandal *et al.* 2013).

2.3.5. Control Físico.

El control físico consiste en la utilización de algún agente físico como la temperatura humedad, insolación, fotoperiodismo y radiaciones electromagnéticas, en intensidades que resulten letales para las plagas. El fundamento del método es que las plagas sólo pueden desarrollarse y sobrevivir dentro de ciertos límites de intensidad de los factores físicos ambientales; más allá de los límites mínimos y máximos, las condiciones resultan letales (Control físico s.f.).

2.3.5.1. Solarización.

Antes de que hubiera una disponibilidad general de plaguicidas a finales de la década de 1940, la desinfestación del suelo por medio del calor, vapor o agua caliente era una práctica usada desde muy antiguamente y bien conocida para controlar las plagas del suelo (Newhall 1955; Baker 1962, citados por FAO 2004).

La solarización del suelo es un término que se refiere a la desinfección del suelo, a través de un proceso hidrotérmico que tiene lugar en el suelo húmedo el cual es cubierto por una película plástica y expuesta a la luz solar durante los meses más cálidos (Grooshevoy 1939, citado por FAO 2004). Este proceso abarca un complejo de cambios físicos, químicos y biológicos del mismo asociados con el calentamiento solar y tiene valor como una alternativa al uso de productos químicos (Lai 1974; Waggoner *et al.* 1960; Burrows y Larson 1962, citados por FAO 2004).

Experimentos de solarización del suelo en el Cáucaso (Territorio situado en el sudeste del continente europeo) en 1938; obtuvo un control efectivo de organismos patogénicos del suelo capturando energía solar bajo parcelas frías sujetas a la luz solar directa antes de la siembra, por períodos suficientes para elevar hasta 40-60°C la temperatura de la capa superior del suelo (hasta una profundidad de 10 cm); así obtuvo el control de la pudrición negra de las raíces de las plántulas de tabaco causada por *Thielaviopsis brassicola* (Grooshevoy 1939, citado por FAO 2004).

Estudios realizados por Ambar y Soos (2002) citados por Narayanasam (2013), solarizaron el suelo, cubierto con láminas de polietileno y expuesto a la intemperie durante 8 y 10 semanas en verano, redujeron eficazmente la enfermedad de marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum*.

Los tratamientos de solarización y agua caliente aplicados al suelo, han demostrado ser eficaces contra *R. solanacearum* (Vinh *et al.* 2005, citado por Yuliar *et al.* 2015).

Tratamientos térmicos al suelo de 45°C por dos días antes de siembra, reducen la población bacteriana en un 60-97% y la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate en un 50-75% (Kongkiattikajorn *et al.* 2007, citado por Yuliar *et al.* 2015).

Durante la solarización del suelo poblaciones de *Pseudomonas* fluorescentes y bacterias gram positivas incluyendo especies de *Bacillus*, pueden ser reducidas del 78 a 86%

comparados con suelos no solarizados, asimismo poblaciones de *Actinomycetos* son reducidos de 58 a 45 %. *Agrobacterium spp*, es altamente sensible a la solarización y sus poblaciones son reducidas arriba del 72 %, lo mismo ocurre con especies de *Rhizobium*. (De vey *et al.* 1974, citado por López Tzoc 2004)

Períodos de solarización al suelo (6, 7 y 8 semanas) con reporte de presencia de *R. solanacearum*; redujeron la aparición de la enfermedad en plantas de tomate, mostrando una incidencia entre 6.75% a 11.25% (López Tzoc 2004).

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Descripción del área de la investigación

La investigación se realizó en dos fases, una de laboratorio y otra de campo, ambos procesos se desarrollaron en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador. La primera se realizó en el laboratorio de Investigación y Diagnóstico del Departamento de Protección Vegetal y la segunda se llevó a cabo en el vivero de dicha Facultad, ubicado en la ciudad universitaria del departamento de San Salvador a una altura de 700 msnm, entre los 13° 43' 6" N, 89° 12' 11" W, con una precipitación anual de 1751 mm y temperatura anual media 23.1°C, máxima 31.0°C y mínima de 18.1°C (García *et al.* s.f.).

3.2. Fase de laboratorio.

En esta fase de laboratorio se realizó el aislamiento y la identificación de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith; se terminó con la preparación del inóculo e inoculación del patógeno al suelo. Paralelo a las actividades se desarrolló un ensayo *in vitro* para determinar la dosis mínima de hipoclorito de sodio (lejía comercial al 5%) que inhiba la bacteria, para luego evaluar en campo el efecto de la dosis en el control de *R. solanacearum*. Además se determinó el pH del suelo y los tratamientos a evaluar.

3.2.1. Preparación de los medios artificiales.

Para las actividades de aislar, purificar, identificar y preparar el inóculo al suelo con *R. solanacearum* E.F. Smith; se preparó con 24 horas de anticipación diferentes medios artificiales sólidos (Cetrimide, MacConkey y agar nutritivo con bisel) y líquidos (agua peptonada al 1%); además para la determinación de la dosis mínima de lejía que inhibió al patógeno, se utilizó medio solido Papa-Dextrosa-Agar (PDA).

Según indicaciones de la etiqueta de cada medio artificial, se pesó, diluyo con agua destilada y colocó a cocción cada medio, excepto el agua peptonada que solo necesitó diluirse. Cada medio fue esterilizado en autoclave a una temperatura de 120°C y 15 Lb de presión por pulgada cuadrada durante 15 minutos. Posteriormente se procedió al llenado respectivo de la cristalería estéril (placas Petri, tubos de ensayo y botes de vidrio con capacidad de un litro). Luego de la solidificación o enfriamiento del medio, se refrigeró hasta su utilización, excepto el agua peptonada usada para preparar el inóculo de la bacteria.

3.2.2. Recolección de muestras vegetativas sintomáticas.

Las muestras de plantas de tomate con síntomas de marchitez bacteriana fueron recolectadas en el área del distrito cinco del valle de Zapotitán, Ciudad Arce, departamento de La Libertad.

Para determinar la marchitez bacteriana se realizó un muestreo en campo, observando los síntomas externos de marchitamiento repentino de la parte apical y presencia de

raíces adventicias, así también se verificó los signos internos, observando exudado lechoso al presionar un corte de tallo basal (Fig. 1a). Luego se confirmó realizando la prueba de flujo bacteriano, que consistió en colocar una sección de tallo basal en un tubo de ensayo con agua destilada, pocos segundos después se observó un flujo lechoso color blanco confirmando la presencia de masas bacterianas (Fig. 1b). Para el traslado del material vegetativo al laboratorio, se envolvió en papel periódico húmedo y se depositó en una bolsa plástica, para evitar la deshidratación.

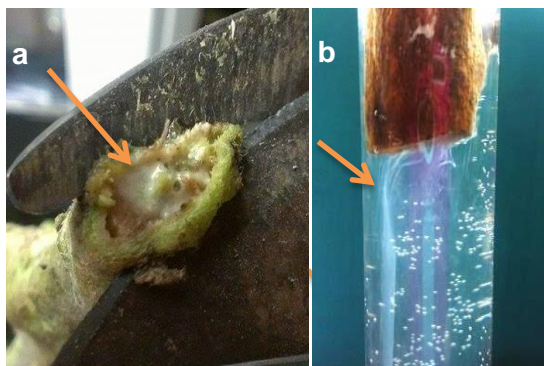


Figura 1. Signos internos de la marchitez bacteriana en tomate:

a) Exudado bacteriano de la sección recién cortada; b) Hilos de exudado bacteriano saliendo de una sección transversal del tallo

3.2.3. Aislamiento, caracterización y purificación de las colonias de la bacteria.

Las muestras vegetativas recolectadas, fueron desinfectadas por un minuto en alcohol etílico al 70% y luego flameadas (García *et al.* 1999). Para facilitar la salida de la bacteria, se cortó los tallos en pequeños trozos (2 pulgadas) y se depositó durante 15 minutos en un tubo de ensayo con agua destilada estéril (Cartín y Wang 1996); seguidamente con el asa bacteriológica se tomó un inóculo estriándolo por agotamiento en una placa con medio Cetrimide, la placa en forma invertida se incubó por 24 horas a temperatura ambiente (Lino Rodríguez y Portal Miranda 2013).

Para el proceso de purificación de la bacteria, se seleccionó la colonia con las características morfológicas (colonias color blanco, forma irregulares redondas y fluidas) de *R. solanacearum* E. F. Smith (Fig. 2). La colonia obtenida fue transferida sucesivamente tres veces realizando estriados por agotamiento en los dos primeros repiques; primero se repicó a medio MacConkey con el objetivo de obtener colonias puras de bacilos Gram negativos, luego al medio Cetrimide y finalmente se repicó a tubos de agar nutritivo con bisel. En cada repique las placas en forma invertida se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente.

3.2.4. Caracterización e Identificación de *R. solanacearum* E. F. Smith

Purificada la bacteria y metabólicamente activa, de 24 horas de crecimiento, se realizó una serie de pruebas para identificar el género y especie; a través de las características morfológicas y fisiológicas de *R. solanacearum* E. F. Smith.

3.2.4.1. Prueba de tinción de Gram.

Consistió en preparar un frotis en una lámina portaobjeto; con el asa bacteriológica previamente estéril, se colocó una gota de solución salina al 0.85% y se mezcló con un inóculo de bacterias, extendiéndolo sobre el portaobjeto, se dejó secar a temperatura ambiente. Posteriormente el frotis se fijó flameándolo por tres veces en un mechero de Bunsen (Schaad citado por Garcia *et al.* 1999).

Después se cubrió el frotis con cristal violeta durante un minuto, se lavó y escurrió aplicando agua destilada; seguidamente se cubrió el frotis con Lugol durante un minuto, se lavó y escurrió con agua destilada; luego se decoloró aplicando alcohol acetona, hasta que no escurriera colorante, inmediatamente se lavó y escurrió con agua destilada; por último se cubrió el frotis con safranina durante 30 segundos, nuevamente se lavó con agua destilada, se dejó secar a temperatura ambiente. Luego en el microscopio se observó en el objetivo de inmersión (Fig. 2) (Schaad citado por Garcia *et al.* 1999).



Figura 2. Tinción de Gram:

a) kit de Gram (cristal violeta, Lugol, alcohol acetona y Safranina); b) lavado del colorante; c) bacteria Gram negativa (*R. solanacearum* E. F. Smith).

3.2.4.2. Prueba de KOH 3%.

El Hidróxido de Potasio (KOH) al 3% es una prueba rápida y sencilla, que se realizó con el objetivo de ratificar los resultados de la tinción de Gram.

La prueba consistió en mezclar durante 30 segundos con el asa bacteriológica una gota de KOH al 3% y un inóculo sobre una laminilla portaobjeto, luego se levanta con el asa para observar si hay formación de hilo viscoso (Schaad citado por Garcia *et al.* 1999).

3.2.4.3. Pruebas bioquímicas.

Prueba de oxidasa.

Para la prueba se preparó una suspensión bacteriana de 1.5×10^9 ufc/ml (escala 0.5 McFarland) (Fig. 3a). Luego con una pinza (desinfectada y flameada) se le agregó a la suspensión un disco de oxalato de dimetil-para-fenilendiamina, para determinar la presencia o ausencia de la enzima citocromo oxidasa (Fig.3b) (Sasidrahan Sreedevi *et al.* 2013).

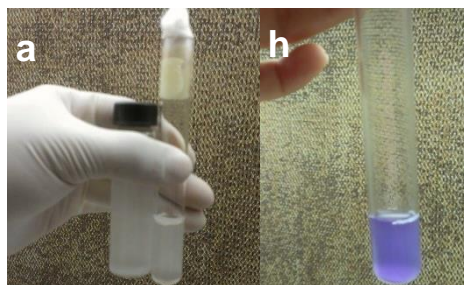


Figura 3. Prueba de oxidasa:
 a) Preparación de la suspensión bacteria con la escala 0.5 McFarland; b) Reacción de prueba positiva de oxidasa.

Prueba de TSI (Tres azúcares y hierro).

La prueba consistió en inocular con la aguja bacteriológica los medios TSI, estriando el bisel y picando el fondo a media profundidad, se dejó incubar por 24 horas a una temperatura de 37°C. Se realizó para determinar la capacidad o no, de fermentar la azúcar (Fig. 4) (Sasidahrn Sreedevi *et al.* 2013).



Figura 4: Resultado intermedio de las pruebas TSI (tres azúcares hierro).

Prueba Voges Proskauer.

Para determinar la capacidad o no, de metabolizar la glucosa por otras vías metabólicas, se realizó la prueba Voges Proskauer.

En un tubo con la prueba, se inoculó la bacteria y se dejó incubando por 24 horas a temperatura ambiente; posteriormente se le agregó 12 gotas de alfa naftol al 5%, cuatro gotas de hidróxido de potasio al 40% (Fig. 5a) y se agitó, luego de reposar por 10 minutos (Fig. 5b) (Sasidahrn Sreedevi *et al.* 2013).

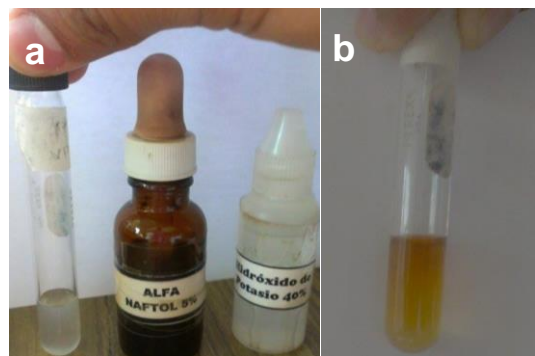


Figura 5. Prueba de Voges Proskauer.

a) Previo a la aplicación de los reactivos, después de 24 horas de incubación de la bacteria; b) reacción de la prueba Voges Proskauer luego de la aplicación de los reactivos.

Prueba catalasa.

En el tubo con bacterias, se agregó una gota de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Fig. 6), Esto se realizó para determina la presencia o ausencia de la enzima catalasa (Sasidahrn Sreedevi *et al.* 2013).



Figura 6. Prueba de catalasa.

Reacción de las bacterias al contacto con el peróxido de hidrogeno.

Prueba de movilidad.

Para confirma la presencia o ausencia de flagelos en la bacteria en estudio, se realizó la prueba de la movilidad. Consistió en colocar en una lámina portaobjeto una gota de la suspensión bacteriana de 3×10^8 ufc/ml (0.1 de McFarland), cubriéndose con una lámina cubre objeto y observándolo en al microscopio en el objetivo 100x (Sasidahrn Sreedevi *et al.* 2013).

Prueba API[®] 20 NE.

Es una prueba comercial API 20 NE, que contiene un kit con una tira de 20 pruebas (microtubos con sustrato deshidratado) utilizada para bacilos Gram-negativos; para la identificación de *R. solanacearum* E. F. Smith se utilizó una prueba de la tira.

Esta prueba consistió en llenar la base de la galería hasta los alveolos con agua destilada estéril, luego se colocó la tira API 20 NE en la galería; posteriormente con una pipeta

Pasteur se llenó el microtubo (prueba de interés ADH) hasta el menisco (Fig. 7b), con la suspensión bacteriana de 1.5×10^9 ufc/ml (0.5 escala McFarland) (Fig. 7a), luego se tapó la galería y se dejó incubando por 48 horas a temperatura ambiente. Se realizó para determinar la capacidad o no, de hidrolizar la arginina (Fig. 7c) (Sasidrahan Sreedevi *et al.* 2013).

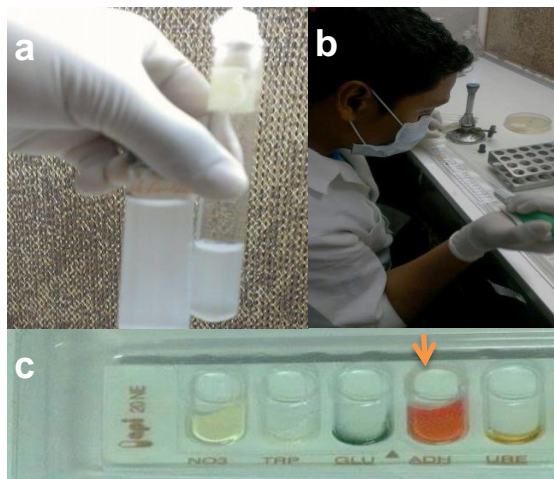


Figura 7. Prueba API® 20 NE:

a) Preparación de la suspensión bacteriana; b) Inoculación de los microtubos con la suspensión; c) Reacción de las pruebas después de 48 horas

3.2.5. Preparación del inóculo del suelo.

Se inoculó con *R. solanacearum* E. F. Smith, 18 tubos de ensayo que contenían 15 ml de agua peptonada al 1% estéril, se dejó incubando por 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se inocularon 18 litros de agua peptonada al 1%, diluyendo un tubo por litro de agua peptonada. Después de 48 horas de incubación a temperatura ambiente, se obtuvo una suspensión bacteriana de 3×10^8 ufc/ml (0.1 escala de McFarland) de *R. solanacearum* E. F. Smith (Fig. 8).

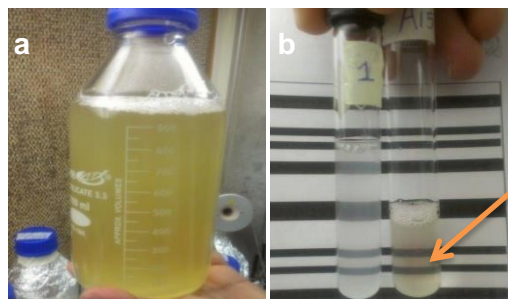


Figura 8. Preparación de la suspensión bacteriana:

a) Suspensión bacteriana, después de 48 horas de inoculación; b) Comparación de la turbidez bacteriana con la escala McFarland 0.1

3.2.6. Inoculación del suelo.

Se realizaron dos inoculaciones de la suspensión bacteriana de 3×10^8 ufc /ml de *R. solanacearum* E. F. Smith, aplicando 200 ml a cada bolsa (Fig. 9). La primera inoculación se realizó al tratamiento de solarización debido al tiempo que este requiere, coincidiendo con los demás tratamientos al momento del trasplante. La segunda inoculación se aplicó 20 días después a los demás tratamientos.



Figura 9. Aplicación del inóculo en el suelo.

a) Medición del volumen de la suspensión bacteriana; b) Aplicación del inóculo de *R. solanacearum* al suelo.

3.2.7. Determinación de la dosis mínima de hipoclorito de sodio (NaClO) que inhiba el crecimiento de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith

El ensayo se realizó, *in vitro* en medio PDA, evaluando nueve tratamientos (ocho dosis usando lejía comercial al 5% de NaClO y un testigo sin lejía), con cuatro repeticiones cada uno.

Las dosis se prepararon diluyendo el volumen de lejía (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 10 ml) en 100 ml de PDA líquido a temperatura ambiente, luego se llenaron cuatro placas Petri (Fig. 10a) y se identificó según su tratamiento (Fig. 10b). Posteriormente que solidificó el medio se inóculo la bacteria, las placas en forma invertida se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente. Después se observaron crecimientos bacterianos en los tratamientos (testigo, 0.5, 1, 2, 3 y 4 ml) (Fig. 10c), determinando que la dosis mínima que inhibió el crecimiento de *R. solanacearum*, fue el tratamiento de 5 ml de lejía concentración del 0.25% de hipoclorito de sodio en la dilución (Fig. 10d).

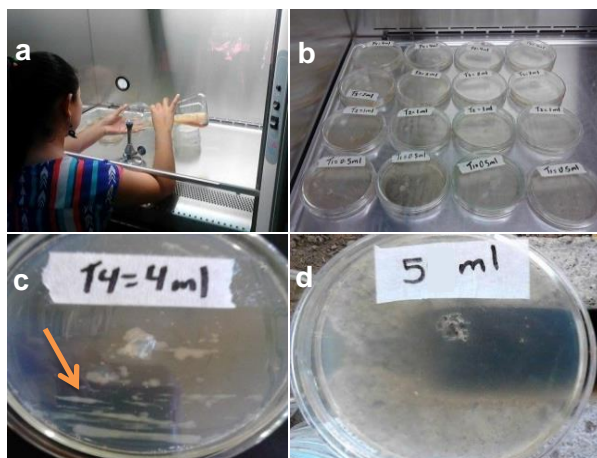


Figura 10. Prueba *in vitro* para determinar dosis mínima de NaClO que inhibe el crecimiento de *R. solanacearum* E. F. Smith:

a) Llenado de las placas Petri; b) Identificación de los tratamientos; c) Crecimiento bacteriano en dosis de 4 ml; d) Inhibición de *R. solanacearum* en dosis mínima de 5 ml concentración del 0.25% de NaClO.

3.2.8. Análisis físico-químico del suelo y los tratamientos.

Para determinar el pH de las muestras sólidas (suelo y ceniza), se pesaron 10 g por muestra y se diluyeron en 100 ml de agua destilada, luego se agitaron por 10 minutos; posteriormente con el pHmetro (modelo: PHcand 10, marca: BANTE) se determinó el pH de las soluciones y de las muestras de la dosis de lejía y microorganismo de montaña en fase líquida (Cuadro A-3).

La muestra de ceniza se llevó al laboratorio de suelos del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, donde se determinó el contenido de Calcio (Figura A-5).

3.2.9. Identificación de hongos en los microorganismos de montaña en fase líquida.

Para analizar el efecto antagónico del tratamiento de microorganismo de montaña en fase líquida (MML) aplicado al suelo antes de la siembra y luego en la etapa de prefloración, se tomaron muestras para identificar el género de los hongos predominantes en los inóculos.

Las muestras de MML recolectadas, se inocularon en placas Petri que contenían arroz cocido estéril, se dejaron incubando a temperatura ambiente por cinco días (120 horas). Después se observó las características macroscópicas del crecimiento de las colonias de hongos; posteriormente en láminas portaobjeto se colocó una gota del colorante Lactofenol azul algodón y un fragmento de las colonias de hongo, luego en el microscopio se observaron las estructuras (Figura A-6) para la identificación de los géneros de hongos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Identificación de las colonias y géneros de hongos en los MML.

MUESTRA	CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS DE HONGOS AISLADOS EN ARROZ.	GÉNEROS.
MML previo al trasplante	Colonia color blanco, con micelios algodonoso	<i>Monilia sp.</i>
	Colonia color rojo, con micelios	<i>Geotrichum spp.</i>
	Colonia color gris, con micelio algodonoso	
MML etapa de prefloración	Colonia color café de aspecto polvoso	<i>Gliocephalium</i>
	Colonia color blanco de aspecto algodonoso.	<i>Cristulariella</i>

3.3. Fase de campo.

3.3.1. Delimitación del terreno.

Se realizó una limpieza manual, se delimito el área del terreno con dimensiones de 5 m de ancho por 9 m de largo. Se construyó transversalmente al área, nueve zanjas con dimensiones de 0.25 m de ancho, 5 m de largo y 0.15 m de profundidad, posteriormente se colocó en cada zanja una tira de plástico negro de polietileno (0.55 m de ancho por 5.50 m de largo), para evitar el lixiviado y la contaminación del suelo con la bacteria.

3.3.2. Preparación de plantines.

Los plantines de tomate variedad Cubano fueron preparados en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador y trasladados al lugar de investigación a los 19 días de emergencia.

La fertilización de los plantines una semana (19 a 29 días de emergencia) antes del trasplante consistió en la aplicación del fertilizante 12-12-17-2 (5 g por litro preparado 24 horas antes) por la mañana y durante la tarde el fertilizante hidrosoluble inicio 20-30-10+Mg+S (0.5 g por litro), aplicado durante tres días. Además se aplicó un té de lombriabono (45 gr lombriabono por litro de agua preparado 24 horas antes) una vez al día durante una semana.

3.3.3. Recolección de muestras para análisis.

Antes de inocular el suelo y también al finalizar la investigación, por tratamiento se tomó una muestra de suelo a 10 cm de profundidad, también se recolecto muestras de ceniza, dosis de hipoclorito de sodio al 0.25% y microorganismos de montaña en fase líquido (MML). Las muestras se recolectaron para medir el pH, determinar el Calcio en ceniza e identifica los hongos en los MML (ver apartado en la fase de laboratorio).

3.3.4. Llenado de bolsas.

El suelo utilizado para el llenado de bolsas fue extraído del lote La Bomba (Estación Experimental y Práctica de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El

Salvador), que presenta reportes de marchitez bacteriana causado por *R. solanacearum* desde hace años.

Se utilizaron bolsa de polietileno negras (14x16 pulgadas), con un volumen de suelo de 0.03 m³ cada una.

3.3.5. Descripción y aplicación de los tratamientos.

Los tratamientos se aplicaron 30 días después de la inoculación de la bacteria al suelo, a excepción del tratamiento ácido salicílico que se aplicó al follaje un día después del trasplante y luego una vez por semana durante el ciclo del cultivo.

Los tratamientos; *Trichoderma harzianum*, hipoclorito de sodio al 0.25%, MML, y el bactericida sulfato de gentamicina y oxitetraciclina, se aplicaron a un volumen de 250 ml por bolsa (Fig. 11), los tratamientos de bocashi y ceniza se incorporaron al suelo. También se realizó una segunda aplicación de los tratamientos MML en la etapa de prefloración al cultivo.



Figura 11. Aplicación de los tratamientos.
a) Aplicación de los MML; b) aplicación de ceniza.

3.3.5.1. Solarización.

El volumen de suelo de 0.33 m³ a capacidad de campo se extendió y se cubrió con plástico de polietileno color negro para evitar la salida de calor y se dejó a la intemperie durante 6 semanas antes del trasplante.

Durante todo el periodo se midió temperatura del suelo a una profundidad de 10 cm (Fig. 12 y Cuadro A-4), en el horario de la 1:30 pm, esto como parte del análisis para determinar el efecto de la solarización sobre el patógeno.



Figura 12. Registro de temperatura.

3.3.5.2. Microorganismos de montaña en fase líquida.

Para activar los microorganismos del tratamiento; se preparó en un recipiente de 5 galones, una mezcla de 10 litros de agua libre de cloro y 100 ml de melaza (Fig. 13a). En una manta se colocó una libra de microorganismos de montaña sólidos (la captura y reproducción de microorganismos de montaña sólidos se realizó de acuerdo a la guía técnica del CENTA¹), se amarró (Fig. 13b) y se sumergió en el recipiente (Fig. 13c). Luego se cubrió con otra manta el recipiente, asegurándolo alrededor con una pita.

La solución se dejó oxigenando por dos días (48 horas) con una bomba para pecera, en cinco días se observó crecimiento y a los siete días de activación se aplicó al suelo los microorganismos de montaña en fase líquida previo al trasplante y luego en la etapa de floración del cultivo.



Figura 13. Preparación de los Microorganismos de montaña en fase líquida: a) Dilución de melaza en agua; b) Microorganismos de montaña en fase sólidos (MMS); c) Inmersión de los MMS

3.3.5.3. *Trichoderma harzianum*.

En un litro de agua se disolvió un gramo de la formulación comercial de *Trichoderma harzianum* (EXCALIBUR GOLD 5 FS), compuesto por un 5% de 1×10^{12} ufc de *T. harzianum* y 95% de materia inerte.

¹ Los MMS fue preparado según la guía del CENTA titulada: "Microorganismos: Guía Técnica 4"

3.3.5.4. Bocashi.

El bocashi fue elaborado con materiales: tierra, granza, gallinaza, melaza, carbón molido, cal y levadura; en la Estación Experimental y Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, con seis semanas de elaboración, se aplicaron nueve onzas de bocashi por bolsa previo al trasplante y etapa fenológica de la floración del cultivo.

3.3.5.5. Ceniza.

La ceniza provenía de la combustión de madera de café y árboles de leguminosas, aplicando cuatro onzas de ceniza por bolsa.

3.3.5.6. Ácido salicílico.

En un litro de agua se disolvió 0.5 gramos de ácido salicílico.

3.3.5.7. Hipoclorito de sodio al 0.25%

En un litro de agua se diluyó 50 ml de lejía comercial que contenía 5% de NaClO.

3.3.5.8. Testigo relativo.

En un litro de agua se disolvió 1.25 gramos del bactericida sulfato de gentamicina y oxitetraciclina.

3.3.5.9. Testigo absoluto.

Sin control.

3.3.6. Trasplante.

El trasplante se realizó dos semanas después de la aplicación de los tratamientos de bocashi, ceniza, *Trichoderma harzianum*, MML, hipoclorito de sodio al 0.25%, y sulfato de gentamicina y oxitetraciclina con el objetivo de permitirles una descomposición completa, potenciar su efecto supresor y evitar riesgos posibles de efectos fitotóxicos.

Lo plantines de tomates tenían 29 días de emergencia, con dos a tres hojas verdaderas desarrolladas y una altura promedio de 10.35 cm.

3.3.7. Manejo agronómico del cultivo.

3.3.7.1. Tutorado

El sistema de soporte instalado fue espaldar vertical. Por tratamientos se coloraron, tres varas de bambú a una distancia de 2.50 m, y a una profundidad de 0.50 m, instalándose una semana después del trasplante. Luego se colocó una cuerda de nylon a una altura de 1.50 m (CENTA y JICA s.f.).

3.3.7.2. Nutrición de la planta.

La fertilización utilizada fue realizada bajo la técnica de fertirriego, en la que se utilizaron fertilizantes hidrosolubles, formulados según la fenología del cultivo, considerando los factores físicos-químicos de la solución nutritiva; siendo ellos el pH y la conductividad eléctrica (CE) del agua antes de mezclar los fertilizantes Inicio, Desarrollo, Floración y Maduración respectivos, para su preparación se hizo lo siguiente:

Preparación de la solución molar (SM).

Para preparar las soluciones molares de cada fertilizante, se partió de la indicación del proveedor de pesar 5.28 onzas del fertilizante hidrosoluble por litro de agua.

Preparación de la solución milimolar o nutritiva (SN).

Para preparar las soluciones nutritiva, se midió con el conductímetro (modelo MW802, marca Milwaukee) los parámetros físico-químicos del agua, en cada etapa fenológica del cultivo; posteriormente se diluyó el volumen de SM y ácido fosfórico, para obtener la solución nutritiva de acuerdo a los parámetros físico-químicos estándares requeridos en las etapas fenológicas del cultivo de tomate (Cuadro 2).

Cuadro 2. Preparación de los fertilizantes

Etapa fenológica del cultivo de tomate	Formula del fertilizante hidrosoluble	Parámetros físico-químico del agua antes de la mezcla		dilución por litro para la preparación de la SN (calibración)		Parámetros estándares para la SN		Dosis por planta de SN
		pH	conductividad eléctrica (µs/m)	ácido fosfórico	solución molar (ml)	pH	conductividad eléctrica (µs/m)	
inicio	19-28-9+0.45Mg+3.86S	8.6	0.68	1 ml (al 25 %)	5	6	1	50 ml
Desarrollo	20-10-20+0.61Mg+3.91S	8.6	0.68	1 ml (al 25 %)	6	6	1.30	75 ml
Floración	12-19-28+0.63Mg+0.51S	7.6	0.70	11 gotas (solución concentrada)	8	6	1.70	150 ml
maduración	9-9-38+3.69S	7.6	0.71	11 gotas (solución concentrada)	7	6	1.70	200 ml

Los datos de dilución por litro para preparar la SN pueden variar según la calidad de agua, las dosis por planta de SN se aplicó al suelo a capacidad de campo.

La fertilización se realizó un día después del trasplante, fertilizando dos veces al día y tres veces por semana (Figura A-7). Además, semanalmente se aplicó fertilizante foliar (2g por litro de agua) e insecticida sistémico (1g de Confidor® por litro de agua) cada semana.

3.4. Toma de datos.

Para evaluar el efecto de las medidas fitosanitarias para el manejo de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum* E.F. Smith) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), se tomó los parámetros de incidencia y severidad, además se midió el rendimiento de cada tratamiento para determinar la rentabilidad de los tratamientos.

La toma de datos de incidencia y severidad se inició una semana después del trasplante, realizando dos observaciones por semana durante todo el ciclo del cultivo. El rendimiento se determinó con la cosecha de los frutos.

Para determinar la incidencia por tratamiento, se contó el total de plantas y el número de plantas con marchitez bacteriana, luego se calculó el porcentaje de incidencia (MB) de marchitez bacteriana (IMB) con la siguiente fórmula (Prio *et al.* 2004) (Cuadro A-5).

$$IMB = \frac{\text{n}^\circ \text{ de plantas con MB}}{\text{n}^\circ \text{ de plantas del tratamiento}} \times 100$$

Para determinar la severidad por tratamiento, se observó el porcentaje de tejido enfermo de cada planta, utilizando la escala de Kempe y Sequeira modificada por Rivas Flores¹, quien la fundamenta por su experiencia en la aparición de los síntomas del cultivo, mencionando que las escalas de severidad son relativas según autores. Esta escala subjetiva describe cada grado de la siguiente manera (Cuadro A-6 y Figura A-8).

- 0: planta sin síntomas.
- 1: marchitez leve.
- 2: marchitez moderada.
- 3: marchitez severa.
- 4: planta muerta por marchitez.

El rendimiento se determinó con el peso y número de frutos cosechados por tratamiento (Cuadro A-7).

3.5. Metodología estadística.

3.5.1. Diseño experimental.

La investigación se desarrolló bajo un diseño completamente al azar, con un factor en estudio constituido por las medidas fitosanitarias y los testigos, con un total de nueve tratamientos y diez repeticiones, como unidad experimental la bolsa con la planta de tomate.

Al momento de establecer el diseño de los tratamientos ya codificados, se distribuyó al azar.

¹Rivas Flores, AW. 2014. Escala de severidad. (Entrevista). San Salvador, SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: awrivas@yahoo.com.

- T₀= Testigo absoluto (sin control);
 T₁= Testigo relativo, aplicación del antibiótico Agri-Gent® (1.25 gramo de sulfato de gentamicina y oxitetraciclina por litro de agua);
 T₂= Suelo solarizado durante 6 semanas a condiciones ambientales locales;
 T₃ = *Trichoderma harzianum* (1 gramo por litro de agua);
 T₄ = Bocashi (9 oz/planta);
 T₅ = Microorganismos de montaña líquido, sustancia concentrada (250 ml/ planta);
 T₆ = Ácido salicílico (0.5 gramos por litro de agua);
 T₇ = Hipoclorito de sodio al 0.25% (5 ml de lejía por un litro de agua);
 T₈ = ceniza (4 oz);

3.5.2. Análisis Estadístico.

Los datos de incidencia registrados durante 9 semanas, se sometieron a un análisis matemático de epidemias, utilizando el modelo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), calculado mediante la fórmula: $ABCPE = ((y_i + y_{i+1})/2) (t_{i+1} - t_i)$. Donde, y = incidencia de la enfermedad y t = tiempo de evaluación (Sermeño *et al.* 2001) (Cuadro A-8).

Los resultados estadísticos de los análisis de varianza (ANVA) de incidencia y área bajo la curva del progreso de la enfermedad, se sometieron a la prueba Tukey (5%) y Dunnett (5%) respectivamente. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Minitab 15. La variable severidad de los tratamientos se analizó, a través del promedio del grado de severidad.

3.6. Metodológica económica.

Para poder justificar económicamente los tratamientos fitosanitarios para el manejo de la marchitez bacteriana del tomate y recomendar cuál de los tratamientos es más rentable; se utilizaron las metodologías de presupuestos parciales (PP) y el índice de costo efectividad (C/E).

3.6.1. Presupuesto Parcial.

El análisis de presupuesto parcial se empleó para evaluar el efecto de la implementación de cambio de tecnología en el manejo.

Para el cálculo primeramente se cuantificaron las ganancias o ingresos adicionales, en dos categorías, los ingresos brutos adicionales y los costos economizados al hacer el cambio tecnológico. Luego se calcularon los costos diferenciales, los cuales a su vez se dividen en dos categorías, los gastos o costos extras realizados por el cambio y los ingresos o entradas que se dejan de percibir con la nueva tecnología (Cuadro 3). Para el análisis del presupuesto parcial, si los ingresos adicionales son superiores a los costos adicionales, el cambio propuesto se justifica como rentable (Ramírez 1994).

Cuadro 3. Componentes para el cálculo de presupuesto parcial.

GANANCIAS O INGRESOS ADICIONALES	Costos monetarios (USD)
1) Ingresos adicionales	
2) Disminución de costos	
(A) TOTAL DE INGRESOS ADICIONALES:	
Ingresos adicionales + Disminución de costos	
COSTOS ADICIONALES:	
1) Costos adicionales	
2) Disminución de Ingresos	
(B) TOTAL DE COSTOS ADICIONALES:	
Costos adicionales + Disminución de ingresos	
CAMBIO EN EL INGRESO NETO = (A-B)	

Fuente: Ramírez 1994

3.6.2. Índice Costo-Efectividad.

La metodología del índice de costo-efectividad se utiliza cuando los datos de rendimientos obtenidos no son confiables o no se han podido cuantificar totalmente.

Para los cálculos, se tomaron en cuenta la efectividad de los tratamientos y el costo del tratamiento, para el análisis se escoge el índice de costo-efectividad de menor valor (Sermeño *et al.*2001).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

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

La bacteria se aisló de plantas de tomate mostrando la sintomatología típica de la marchitez bacteriana. El aislamiento se hizo en medio Cetrimide, las colonias obtenidas presentaron las siguientes características macroscópicas: bordes redondos o irregulares, de colores blancos y fluidos (Fig. 14). Estos caracteres microbiológicos corresponden a los descritos por Loarca Marroquin (1987) y Champoiseau (2009).



Figura 14: Colonias de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith en medio Cetrimide

4.2. Características morfológicas y fisiológicas de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith.

Para identificar el género y especie de la bacteria aislada en medio artificial, se realizaron ocho pruebas morfológicas y fisiológicas, tales resultados se describen en el cuadro 4. Estos análisis coinciden a los realizados por Schaad citado por García *et al.* (1999) y Sasidharan Sreedevi *et al.* (2013), confirmando de esta manera que la bacteria aislada e inoculada al suelo fue *R. solanacearum* E. F. Smith

Cuadro 4: Caracterización morfológica y fisiológica de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith.

Pruebas	Resultados
Tinción de Gram	-
KOH 3%	+
Movilidad	+
Voges Proskauer	-
TSI	(+/-) (n/a)
Catalasa	+
Oxidasa	+
Arginina	+

4.3. Efecto de los tratamientos fitosanitarios aplicados al suelo y al follaje para la variable severidad de la marchitez bacteriana del tomate.

La marchitez bacteriana es una enfermedad de ciclo simple que generalmente se cuantifica por medio de la incidencia de la enfermedad, ya que depende de la cantidad de inóculo inicial, para afectar a las plantas de forma más o menos severa. La severidad en este sentido juega un papel secundario, ya que, lo que interesa en la enfermedad es presencia o ausencia, sin embargo, la severidad da una idea clara del efecto de los tratamientos en el desarrollo de la enfermedad en las plantas.

Los tratamientos fitosanitarios aplicados al suelo y al follaje, indicaron que si hubieron efectos positivos sobre la severidad de la marchitez bacteriana. Las aplicaciones con ceniza (T8) y Agri-Gent® “antibiótico” (T1) mostraron los valores más bajos de 0.8, en ambos casos, del índice de severidad durante el ciclo del cultivo, seguido de los tratamientos solarización (T2) y NaClO 0.25% (T7) con 1.2 de índice de severidad para ambos casos; y de 1.6 para los tratamientos *Trichoderma harzianum* (T3), bocashi (T4) y ácido salicílico (T6); y los tratamientos microorganismos de montaña liquido “MML” (T5) con 2 y testigo (T0) con 4, mostrando los índices de severidad más altos (Fig. 15).

En los resultados la menor severidad se presentó en el tratamiento con ceniza, el análisis químico realizado a la ceniza determinó que el Calcio (Ca), se encuentra en un 23.25% (A-8), la función de este elemento es fortalecer las defensas de la planta, lo cual reduce la severidad de la marchitez bacteriana, esto coincide con el estudio de Huber (1990), citado por ABEAS (1997) el cual afirma que la aplicación de Ca en plantas de tabaco y tomate reduce la severidad.

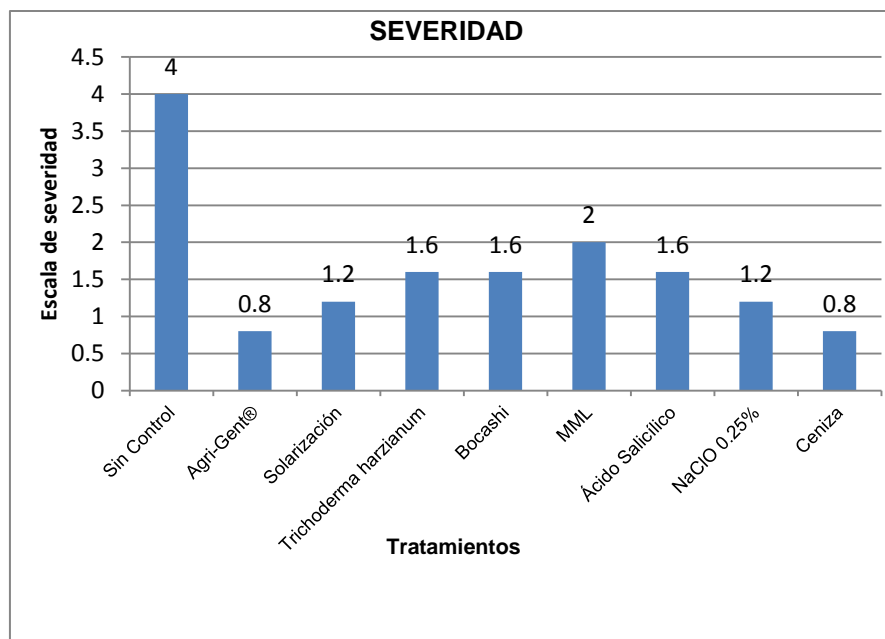


Figura 15. Severidad de la marchitez bacteriana del tomate por tratamiento

4.4. Efecto de los tratamientos fitosanitarios aplicados al suelo y al follaje para la variable incidencia de la marchitez bacteriana del tomate.

Para el manejo de la marchitez bacteriana del tomate se evaluaron ocho tratamientos, en los cuales los efectos se evaluaron a través de la incidencia. Para evaluar el efecto de la enfermedad en las plantas se inoculó el suelo, con la bacteria *R. solanacearum* E. F. Smith, en una concentración de 3×10^8 ufc/ml. a los 30 días después de la inoculación se aplicaron los tratamientos, exceptuando el tratamiento con ácido salicílico. Después de 14 días de aplicados los tratamientos se realizó el trasplante de las plantas de tomate. Las lecturas de incidencia se iniciaron a partir de la primera semana del trasplante hasta la novena semana.

En la figura 16, se presentan los datos de incidencia de la marchitez bacteriana durante las diferentes etapas fenológicas del cultivo. Los primeros síntomas de la enfermedad se observaron una semana después del trasplante en los tratamientos T5 (microorganismos de montaña líquido), T6 (ácido salicílico) y T7 (NaClO 0.25%) con un 10% de control de la incidencia de la enfermedad en cada uno de ellos, continuando la segunda manifestación de síntomas en la quinta semana en los tratamientos T0 (testigo absoluto), T1 (testigo relativo con Agri-Gent®), T2 (solarización) y T8 (ceniza) con porcentaje de control de la incidencia del 60%, 20%, 10% y 10% respectivamente. Los tratamientos T3 (*Trichoderma harzianum*) y T4 (bocashi) mostraron una incidencia retardada de la enfermedad con valores del 20% de incidencia en ambos casos, a la sexta semana.

La incidencia temprana en algunos tratamientos, se debió al estrés generado al momento del trasplante de las plantas de tomate y la cantidad de inóculo en el suelo, facilitando el ingreso de la bacteria al sistema radicular de las plantas. Otro factor importante que contribuyó a incrementar los niveles de incidencia de marchitez bacteriana, fue que las plantas estuvieron sometidas a intensas lluvias y a condiciones de anegamiento durante la etapa de floración y formación de frutos, lo cual concuerda con lo mencionado por FHIA *et al.* 2012. Las lluvias favorecieron el apareamiento de otros patógenos como el tizón tardío el cual impactó sobre el rendimiento del cultivo en algunos tratamientos.

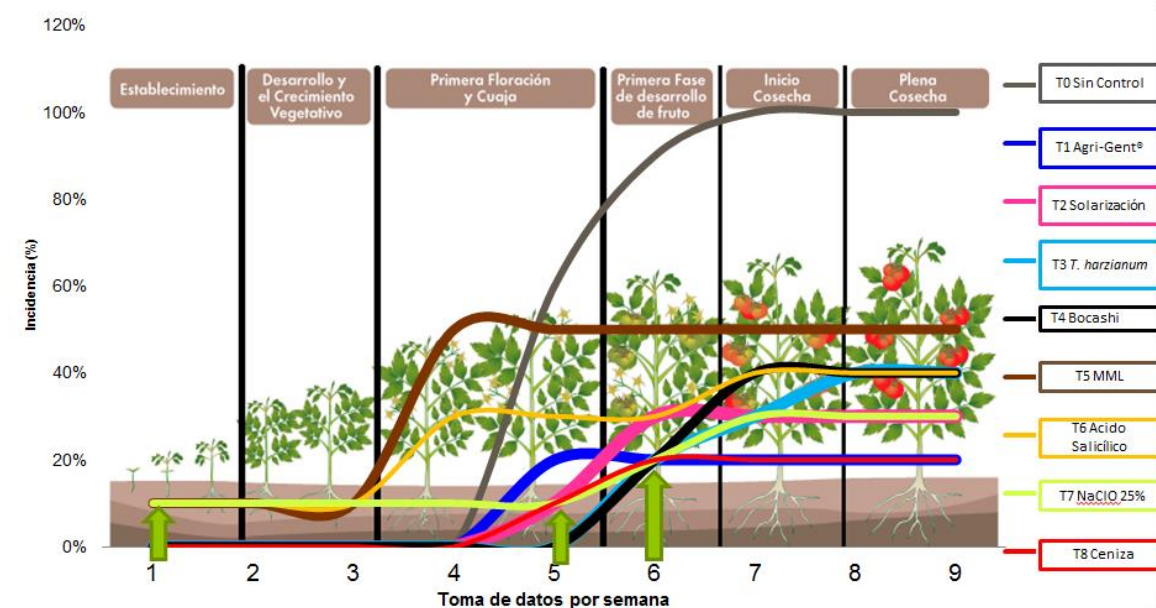


Figura 16: Incidencia de la marchitez bacteriana del tomate en un período de nueve semanas.

Los resultados del análisis de ANVA para la variable incidencia (% de plantas enfermas) indicaron que todos los tratamientos que se aplicaron al suelo y al follaje tuvieron un efecto diferente sobre el desarrollo de la enfermedad a un nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$).

De acuerdo a las diferencias obtenidas en el ANVA se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 5), las cuales se presentaron en dos grupos estadísticamente diferentes. Los tratamientos testigo (T0), Microorganismos de montaña líquido (T5) y ácido salicílico (T6) son estadísticamente similares; pero estadísticamente diferentes a los tratamientos Agri-Gent® (T1), solarización (T2), *Trichoderma harzianum* (T3), bocashi (T4), lejía (T7) y ceniza (T8).

Las incidencias menores se observaron en los tratamientos Ceniza (10%), Agri-Gent® (11%), solarización (14%), *Trichoderma harzianum* (14%), bocashi (16%), lejía (18%).

Cuadro 5: Comparación de promedios por Tukey ($\alpha=0.05$), de los tratamientos para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.

Tratamientos	Medias	% Incidencia	% de control	Grupos
T0 (Sin control)	0.5000	50	50	a
T1 (Agri-Gent®)	0.1111	11	89	b
T2 (Solarización)	0.1444	14	86	b
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i>)	0.1444	14	86	b
T4 (Bocashi)	0.1556	16	84	b
T5 (MML)	0.3667	37	63	a
T6 (Ácido Salicílico)	0.2667	27	73	a
T7 (NaClO 0.25%)	0.1778	18	82	b
T8 (Ceniza)	0.1000	10	90	b

Las letras a y b indican que existen dos grupos estadísticamente diferentes en cuanto al porcentaje promedio de incidencia de la enfermedad.

La ceniza fue el tratamiento más efectivo para el control de la incidencia de la enfermedad, ya que esta obtuvo un valor promedio del 10%, esto se debió al posible fortalecimiento de las defensas de planta por el calcio, lo cual se manifestó también en una menor severidad. El resultado coincide con Lino Rodríguez y Portal Miranda (2013) que la aplicación de enmiendas al suelo con ceniza previo a la siembra, redujeron a un 12.5% la incidencia de la marchitez bacteriana del tomate, este efecto puede ser relacionado a las condiciones de pH poco favorables para el desarrollo de la bacteria en el suelo. Análisis efectuado al suelo previo a la aplicación del tratamientos presento un pH de 6.9 y al final del ensayo se incrementó a 7.12 (A-7), esto indica que el suelo se volvió más alcalino, Lemaga *et al* 2001; Lemaga *et al* 2005; Messiha 2006, citados por Muthoni *et al.* (2012), informan que la incidencia de la marchitez bacteriana se incrementa en un bajo pH del suelo (ácido) y a la baja fertilidad del suelo; los resultados obtenidos se relacionan directamente con el incremento del pH.

En el tratamiento de solarización durante seis semanas redujo la incidencia en un 14%, estos resultados coinciden con López Tzoc (2004) que solarizar el suelo por un periodo de 6 semanas resulta eficiente para reducir la incidencia de la marchitez bacteriana del tomate a un 8.75%, estas diferencias pueden ser explicadas de acuerdo a la radiación solar en diferentes zonas geográficas. Las temperaturas registradas durante el proceso de solarización fluctuaron entre 33.17°C a 48.33°C a una profundidad de 10 cm (A-10), la reducción de la incidencia se puede explicar porque los tratamientos térmicos al suelo de 45°C por dos días antes de la siembra, reducen la población bacteriana en un 60-97% y la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate en un 50-75% (Kongkiattikajorn *et al.* citado por Yuliar *et al.* 2015).

Trichoderma harzianum retardo y alcanzó un porcentaje final de 86% de control de incidencia. El hongo puede actuar de dos formas: como antagonista y como fortalecedor de las defensas de la planta. Según estudios realizados por Ceballos *et al.* (2014), la aplicación de *Trichoderma sp.* tiene un efecto positivo que permite recuperar el equilibrio biológico en el suelo, ya que logra reducir notoriamente las poblaciones de organismos

patógenos como *Ralstonia solanacearum* raza 2. El formulador del producto comercial Excalibur Gold 5 FS (*Trichoderma harzianum*) Advanced Biological Marketing, recomienda utilizar este producto no como antagonico, sino como fortalecedor de las defensas de las plantas. En este caso el efecto de reducción de la incidencia puede explicarse por una combinación de los dos efectos antes mencionados.

El bocashi elaborado con materiales: tierra, granza, gallinaza, melaza, carbón molido, cal y levadura, presento un porcentaje final de 84% de control de incidencia. Este tratamiento tuvo la particularidad de retardar el apareamiento de la incidencia de la enfermedad, pues apareció hasta la sexta semana. Este efecto es muy importante en términos epidemiológicos ya que las plantas no son muy afectadas en los estadios fenológicos más susceptibles en su desarrollo. Esto posiblemente se explica por el aporte de nutrientes que fortalecen las plantas y el aporte de microorganismos actuando como antagonistas. Investigaciones realizadas por Fikri (2013) demostraron que la aplicación de bocashi elaborado a base de hojas de canela (*Cinnamomum burmanii* B1), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y hojas de betel (*Piper betle* L.) luego de 30 días, suprimió el desarrollo de las poblaciones bacterianas de *R. solanacearum* E.F. Smith en la rizosfera del tomate con un porcentaje de inhibición de 71 a 90.08%.

Para el control de la marchitez bacteriana del tomate se decidió utilizar un tratamiento con Hipoclorito de Sodio; ya que algunos productores de hortalizas la utilizan en algunas regiones del país. La aplicación se ha realizado de forma empírica sin dosificar el producto lo cual a futuro puede provocar esterilidad al suelo y fitotoxicidad a las plantas. La aplicación de lejía comercial a una concentración del 0.25% de hipoclorito de sodio (NaClO), controló la incidencia en un 82%. El hipoclorito de sodio es un producto químico utilizado como desinfectante, su modo de acción en los microorganismos se debe a sus propiedades como agente oxidante que afecta la membrana celular (Resh citado por García Jiménez 2012). El dato de incidencia alcanzado (18%), demostró que el Hipoclorito de Sodio, si reduce la incidencia de la enfermedad, lo cual concuerda con lo expresado por Menjívar¹, de igual manera el hipoclorito de sodio (6 y 8 mg L⁻¹), reduce en un 8.3% de incidencia la marchitez vascular del tomate causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (García Jiménez 2012).

4.5. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) para la variable incidencia.

Para el análisis epidemiológico de la enfermedad bajo diferentes tratamientos aplicados al suelo y al follaje, se utilizó el modelo de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para la variable incidencia, el cual muestra las unidades de enfermedad acumuladas durante el período de evaluación. En términos epidemiológico los valores promedios del ABCPE (Fig. 4), demostraron que el tratamiento T8 (Ceniza) presento la menor cantidad de enfermedad acumulada durante el desarrollo del cultivo con 0.09 UE (Unidades de Enfermedad) y el T0 (sin control) el tratamiento con el mayor promedio de

¹ Menjívar Rosa, RA. 2014. Investigación observativa en el uso de lejía comercial (hipoclorito de [sodio] para el control de la Marchitez bacteriana en tomate. (Entrevista). SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: rafaelmenjivarrosa@yahoo.com

0.44 UE, seguido del tratamiento T5 (microorganismos de montaña) con 0.38 UE; para los tratamientos T1 (0.9 UE), T2 (0.13 UE), T3 (0.14 UE), T4 (0.16 UE), T6 (0.24 UE) y T7 (0.16 UE) se mantuvo un promedio menor de UE respecto al tratamiento testigo.

El ABCPE depende del apareamiento de la sintomatología en las plantas y del efecto que los tratamientos tienen sobre el período de incubación de la enfermedad. En los tratamientos en que la enfermedad apareció tempranamente se debió que, al momento del trasplante las plantas sufrieron estrés para poder adaptarse a las nuevas condiciones medioambientales (T5, T6 y T7), con respecto al testigo absoluto, este alcanzó el 100% de incidencia en el estado fenológico de floración, lo cual concuerda con lo observado por Pérez Ascencio¹ en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador; aunque los síntomas de la enfermedad pueden aparecer en cualquier etapa del crecimiento de la planta (Champoiseau 2009).

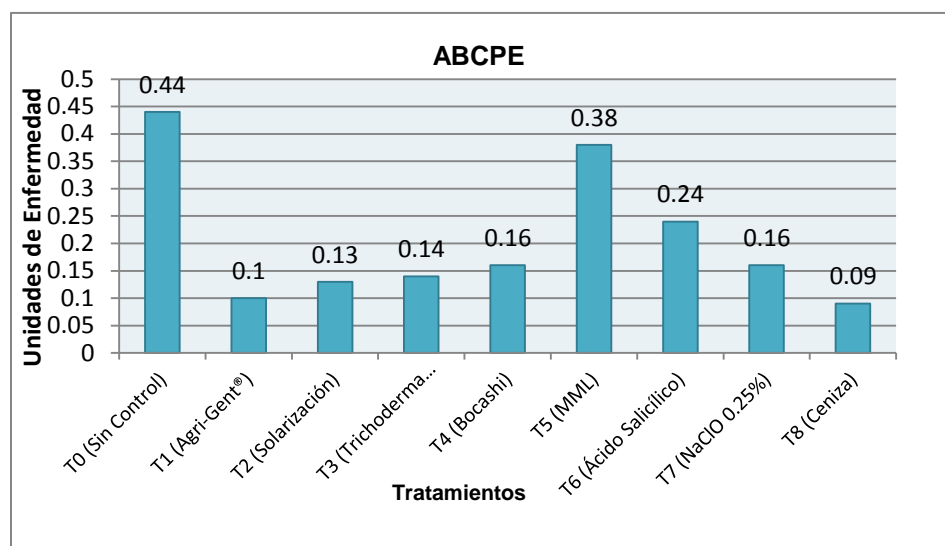


Figura 17. Unidades de enfermedad acumuladas (UEA) en los tratamientos durante el ciclo del cultivo de tomate.

Según la prueba de Dunnett para el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de la incidencia (Cuadro 6), comparando las medias de los tratamientos con el tratamiento Agri-Gent® (T1) testigo relativo, resultaron dos grupos con diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Indicando que todos los tratamientos a excepción del tratamiento microorganismos de montaña líquido (T5), son estadísticamente similares entre sí, al control ejercido por el tratamiento con Agri-Gent®, demostrando así que las medidas fitosanitarias son igual o más eficientes que el uso de antibióticos para el control de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith.

¹ Pérez Ascencio, MA. 2014. Historial de las plagas que han afectado al cultivo de tomate. (Entrevista). SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Fitotecnia. E-mail: maralfre29@gmail.com.

Cuadro 6: Prueba Dunnett comparación de las medias de las Unidades de Enfermedad para ABCPE de la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate.

Tratamientos	Medias	Grupos
T1_1	0.10	a
T2_1	0.13	a
T3_1	0.14	a
T4_1	0.16	a
T5_1	0.38	b
T6_1	0.24	a
T7_1	0.16	a
T8_1	0.09	a

Las calificaciones promedio con letra diferente al Testigo relativo (T1=Agri-Gent®) son diferentes al T1, según la prueba de Dunnett ($\alpha=0.05$).

Según los datos obtenidos para las pruebas estadísticas realizadas, el tratamiento que mostro los mejores resultados en cuanto a promedio de control de Incidencia fue el T8 (ceniza), por lo que para la investigación es el mejor de todos los tratamientos fitosanitarios aplicados para la enfermedad de la marchitez bacteriana del tomate. De igual forma las mayores cantidades de enfermedad se mostraron en el tratamiento T0 que es el testigo sin control y T5 aplicación de microorganismos de montaña líquido (MML) al suelo. Los MML tuvieron muy poco efecto ya que la cantidad y calidad de microorganismos es muy variable, de igual manera durante la activación pueden ocurrir reacciones no deseadas para los microorganismos, encontrándose en mayor cantidad los que se adaptan a estas condiciones.

4.6. Análisis económico.

En términos estadísticos el único tratamiento diferente al testigo relativo (T1= Agri-Gent®) fueron los MML, habiendo siete tratamientos similares (Dunnett al 5%), lo cual no permite tener una elección muy viable, razón por la cual fueron necesarios los análisis económicos del presupuesto parcial (PP) e índice de costo-efectividad (C/E).

4.6.1. Presupuestos parciales.

Los presupuestos parciales son un tipo de análisis económicos que miden el ingreso neto cuando se cambia de tecnologías para el manejo de una plaga. Se asume que la actividad agrícola es completamente rentable.

El mejor tratamiento en términos económicos, es aquel que presento un ingreso neto (IN) positivo siendo en este caso el T7 (NaClO 0.25%), de USD\$0.07 centavos para diez plantas (Fig. 18). Esto representa un costo de USD\$98.00 y un ingreso bruto de USD\$1,666.00 por mz.

En este trabajo el mejor resultado para el control de la enfermedad se obtuvo con el tratamiento a base de ceniza (T8), el análisis de presupuesto parcial, resulto ser negativo porque la ceniza que se utilizó provino de la combustión de un manojo de leña con un

costo de USD\$ 1.50 produciendo 2.5 lb, igual cantidad utilizada para tratamiento. Sin embargo, la ceniza en muchas zonas rurales prácticamente no tiene ningún costo económico, ya que es un subproducto de la combustión de la leña para la cocción de alimentos o de otras actividades económicas. Esto volvería el tratamiento de ceniza económicamente rentable, ya que esta no tendría ningún costo.

Los rendimientos no fueron cuantificados totalmente, debido a diferentes factores tales como enfermedades (tizón tardío, virosis), insectos y roedores, razón por la cual, se realizó otro tipo análisis económico.

4.6.2. Índice de costo-efectividad.

El índice de costo-efectividad es una metodología económica que se usa cuando los datos de producción no se tienen o no se consideran tan confiables. Mide la relación que existe entre el costo de un tratamiento y la efectividad en el control de una plaga específica, se considera que entre menor es la magnitud del índice es mejor.

El mejor tratamiento en términos de índice de costo-efectividad es el T7 (NaClO 0.25%), con un valor de 0.15 (Fig. 18), el cual tiene un costo de \$0.07 y una efectividad de 82% para diez plantas. Los tratamientos *Trichoderma harzianum* (T3) y NaClO 0.25% (T7), presentaron iguales índices de costo-efectividad, con valores de 0.15 (Fig. 18); sin embargo los presupuestos parciales para cada uno de ellos fueron de -\$1.03 y de \$0.07 respectivamente, por lo cual concluimos que el T3 no es económicamente viable, ya que hay pérdidas monetarias.

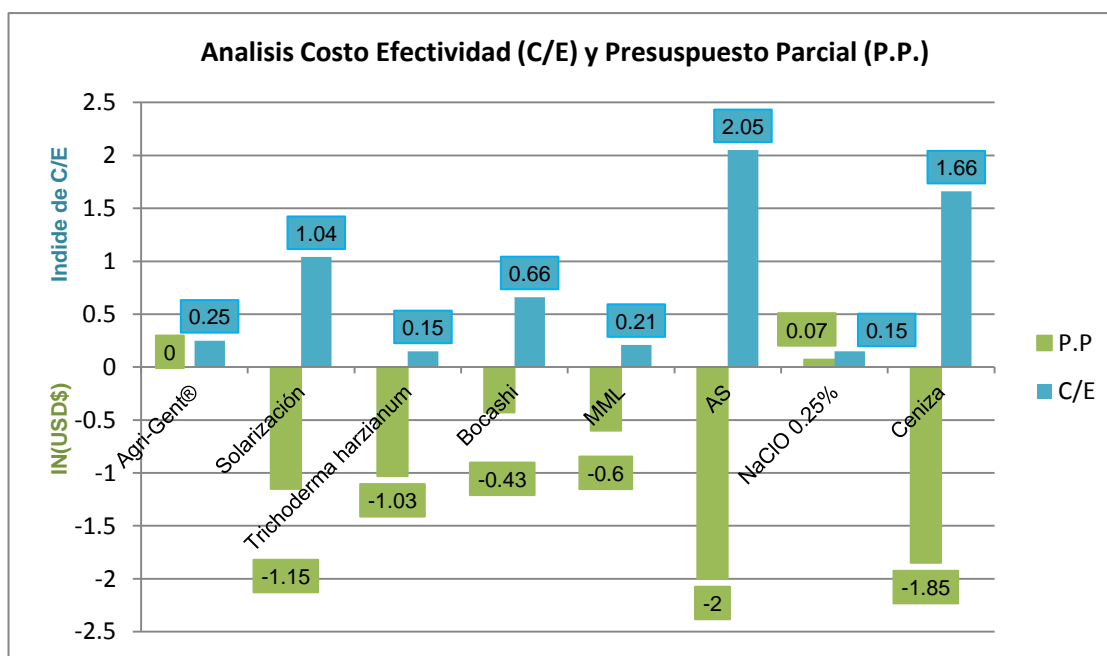


Figura 18: Costos Efectividad y Presupuesto Parcial de los tratamientos.

5. CONCLUSIONES.

La aplicación de ceniza al suelo a una dosis de cuatro onzas por planta, presentó una efectividad del 90% en la reducción de la incidencia y la severidad en un grado promedio de 0.9.

Trichoderma harzianum retarda y reduce la incidencia de la enfermedad en un 86%, por su efecto antagónico y/o inductor de resistencia.

El efecto del bocashi de controlar el 84% de la incidencia de la marchitez bacteriana del tomate, se atribuye a una mejor nutrición y al posible efecto antagónico de la composición de microorganismos que lo conforman.

La solarización de seis semanas al suelo es muy eficiente en un 86% para el control de la marchitez bacteriana del tomate.

Las aplicaciones de ácido salicílico (0.5 g por litro) al follaje semanalmente, fortalecen las defensas de la planta, e inducen resistencia sobre la enfermedad, presentando una efectividad del 83% sobre la incidencia y un grado de severidad promedio de 1.0.

Los microorganismos de montaña en fase líquida aplicados al suelo no son un tratamiento eficiente para el manejo de la marchitez bacteriana del tomate.

El tratamiento con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.25% (5ml de lejía comercial con 5% de NaClO/L) es el más rentable, con el mayor ingreso neto de USD\$0.07 y el menor índice de costo-efectividad de 0.15.

Los tratamientos fitosanitarios (ceniza, solarización, bocashi, *Trichoderma harzianum*, hipoclorito de sodio al 0.25% y ácido salicílico) aplicados al suelo y follaje, son similarmente eficientes como el uso de antibiótico para el control de la enfermedad.

6. RECOMENDACIONES.

Aplicar ceniza al suelo como un corrector de pH y suministro adicional del Calcio como fortalecedor de las defensas en las plantas de tomate.

Los tratamientos fitosanitarios (ceniza, solarización, bocashi, *Trichoderma harzianum*, hipoclorito de sodio al 0.25% y ácido salicílico) aplicados al suelo y follaje, pueden sustituir totalmente el uso de antibióticos para el control de la enfermedad.

Investigar el posible efecto de fitotoxicidad en las plantas por el uso de hipoclorito de sodio aplicado al suelo con el objetivo de controlar la enfermedad.

Estudiar el efecto supresor de los microorganismos de montaña locales para el control de diferentes patógenos asociados al suelo.

7. BIBLIOGRAFÍA.

AAIC (Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar). 2004. Proceso de fertirrigación en el cultivo de tomate en invernadero. (en línea). Quito, EC. Consultado 11 nov. 2015. Disponible en books.google.com.sv

ABEAS (Asociación Brasileña de Educación Agrícola Superior). 1997. Protección de plantas. Curso especializado por educación a Distancia. Universidad Nacional de Vicosa Centro de Ciencias Agrícolas. Departamento de Fitopatología. Módulo 09-control integrado de las enfermedades de las plantas. p. 32.

Arkema. 2013. GPS Safety Summary. (en línea). s.n.t. Consultado 12 jul. 2015. Disponible en <http://www.arkema.com/export/shared/.content/media/downloads/socialresponsability/safety-summuries/Hydrogen-Peroxide-Sodium-Hypochlorite-GPS-2013-02-10-V0.pdf>

Arteaga Chavez, 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, Universidad de El Salvador. 72 p.

Asociación Bálsamo. 2013. Control alternativo de nematodos. (en línea). San Salvador, SV. (Cuadernillo 6). Consultado 12 jul. 2015. Disponible en <http://asociacionelbalsamo.org/>

_____. Técnicas Agroecológicas para la desinfección de suelos agrícolas. (en línea). San Salvador. SV. (Cuadernillo 1). Consultado 3 jul. 2015. Disponible en <http://asociacionelbalsamo.org/>

Bailey, KL; Lazarovits, G. 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. (en línea). Soil Till Res 72:169–180. Consultado 29 jun. 2015. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4356456/>

Benavides Mendoza, A. s.f. El ácido salicílico es un agente señalizador y promotor de resistencia biótica y abiótica en las plantas. (en línea). Buenavista, Saltolillo, MX, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Consultado 18 ago. 2015. Disponible en http://abenmen.com/a/rev_salicilico.pdf

Bolaños Herrera, A. 2001. Introducción a la olericultura. San José, CR. p. 85-86

Cabrera F; Salazar E 2004. Producción de Hortalizas de clima cálido. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Pg 27-30. Consultado 23 agosto 2015. (en línea). Disponible en books.google.com.sv

Calampa, R; Yohel, N; Torres, T; Lusdina, ZK; S. f. Producción de Microorganismos de Montaña para el Desarrollo de una Agricultura Orgánica. (en línea). Perú. Consultado 12 Jul. 2015. Disponible en <https://www.google.com/search?q=Producci%C3%B3n+de+Microorganismos+de+Monta%C3%B1a+para+el+Desarrollo+de+una+Agricultura+Org%C3%A1nica.&ie=utf-8&oe=utf-8>

Campo Martínez, AP; Acosta Sánchez, RL; Morales Velasco, S; Prados, FA. 2014. Evaluación de Microorganismos de Montaña (MM) en la Producción de Acelga en la Meseta de Popayán. (en línea). Consultado 12 Jul. 2015. Disponible en <https://www.google.com/search?q=.+Evaluaci%C3%B3n+de+Microorganismos+de+Monta%C3%B1a+%28mm%29+en+la+Producci%C3%B3n+de+Acelga+en+la+Meseta+de+Popay%C3%A1n&ie=utf-8&oe=utf-8>

Cáritas de El Salvador Diócesis de Zacatecoluca Pastoral de la Tierra. 2009. Manual práctico de 18 técnica agricultura orgánica sostenible más aplicadas por los agricultores y agricultoras de la pastoral de la tierra. (en línea). Zacatecoluca, SV, ALMIX. Consultado 27 mar. 2014. Disponible en <http://www.caritaselsalvador.org.sv>

Cartín, J; Wang, A. 1996. Aislamiento de agentes supresores a *Pseudomonas solanacearum* en tomate (*Lycopersicon esculentum*). (en línea). X Congresos Nacional Agronómico, III Congreso Fitopatogeno, resumen 168. Consultado 20 jul. 2015. Disponible en http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_x/a50-2388-II_107.pdf

Castro, CM; Motta, SD; Akiba, F; Ribeiro, LD. s.f. Potential Use of EM for Control of Phytopathogenic Fungi and Bacteria. (En línea). Federal Rural University of Rio De Janeiro, Itaguaí, RJ, Brazil. Consultado 26 Jul. 2015. Disponible en http://infrc.or.jp/english/KNF_Data_Base_Web/PDF%20KNF%20Conf%20Data/C3-7-096.pdf

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del tomate. Turrialba, CR. p. 77-79

Cayanan, DF; Dixon, M; Zheng, Y. 2008. Response of container-grown nursery plants to chlorine used to disinfect irrigation water. (en línea). HortScience. Consultado 12 jul. 2015. Disponible en <http://hortsci.ashspublications.org/content/44/1/164.full>

Ceballos, G; Álvarez Bolaños, E; Bolaños, M. 2014. Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith) en plátano (*Musa* AAB Simmonds) con aplicación de extractos de *Trichoderma* spp. (Alexopoulos y Mims) y bacterias antagonistas. (en línea). Palmira, Colombia. Consultado 12 jul. 2015. Disponible en http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/rt/printerFriendly/43121/45819

CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, SV), JICA (Agencia de Cooperación Internacional del Japón). s.f. Microorganismos: guía técnica 4. (en línea). SV. Consultada 7 ago. 2015. Disponible en <http://www.centa.gob.sv/sidia/pdf/guias/4%20Guia%20en%20produccion%20Microorganismos.pdf>

CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, SV). 2015. Registros del Laboratorio de Parasitología años 2011, 2012, 2013, 2014 y 2015. Ciudad Arce, Libertad, SV.

Champoiseau, PG. 2009. *Ralstonia solanacearum* raza 3 biovar 2. (USB). Trad. P Nina; JC Hong. Universidad de Florida, US. 15 p.

Cheng,P; Song, W; Ylaong Llu; Huang, L; Hong, Y. 2015. Proteomic Approaches of *Trichoderma hamatum* to Control *Ralstonia solanacearum* Causing Pepper Bacterial Wilt. (En línea). Consultado en 26 Jul. 2015. Disponible en http://www.fspublishers.org/Accepted_Papers/97216..pdf

CIP (Centro Internacional de Papa). 1996. Marchitez bacteriana manual de capacitación. CIP, Lima, PR. f. 2, p. 1-9

Control físico. s.f. (en línea). s.n.t. consultado 8 ago. 2015. Disponible en http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/CPA_6_PG_84-88.pdf

Countrymeters. 2015. Población de El Salvador. s.n.t. Consultada 15 nov. 2015. Disponible en <http://countrymeters.info/es/>

Cuenta del Desafío del Milenio de Honduras (CMA-Honduras).2008. El uso del ácido salicílico y fosfonatos (fosfitos) para activación del sistema de resistencia adquirida de la planta. Lima, cortes, HN, EDA. Consultado 28 mar. 2014. Disponible en http://www.mcahonduras.hn/documentos/publicacioneseda/Manuales%20de%20produccion/EDA_Produccion_Uso_de_Acido_Salicilico_Y_Fosfitos_01_08.pdf

DGEA (Dirección General de Economía Agropecuaria). 2014. Anuario de estadísticas agropecuarias (DEA) 2013-2014. Santa Tecla, Libertad, SV, MAG. Consultado 16 ago. 2015. Disponible en <http://www.mag.gob.sv/>

_____. s.f. Hortalizas. (USB).
Ministerio de Agricultura, SV. (p.3)

Dirección General de Sanidad Vegetal - Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-CNRF). 2013. Protocolo de diagnóstico de *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896). (en línea), SAGARPA –SENASICA, MX. Consultado 18 jul. 2015. Disponible en www.senasica.gob.mx

Escalona, VC; Alvarado, PV; Monardes, HM; Urbina CZ; Martin, AB. 2009. Manual de Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.).(en línea). Chile. Consultado 23 de Ago. 2015. Disponible en <https://www.google.com/search?q=MANUAL+DE+CULTIVO+DE+TOMATE+%28Lycopersicon+esculentum+Mill.%29&ie=utf-8&oe=utf-8>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2004. Manejo de malezas para los países en desarrollo Addendum I. (En línea). Ed. R Labrada. Roma, IT. Consultado 24 mar. 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s0g.htm#bm16>

FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, HN); USAID (United States Agency International Development); IPM CRSP (Integrated Pest Management Collaborative Research Support Program). 2012. Marchitez bacteriana en las solanáceas: su reconocimiento y manejo integrado. (en línea). Lima, Corte, HN, FHIA. Consultado 27 mar 2014. Disponible en <http://www.fhia.org.hn>

Fikri, EN. 2013. Effect of foliar application of cinnamon, clove and betel against *Ralstonia solanacearum* population in the rhizosphere of tomato (En Indonesio). (en línea). *Agroscientiae* 20 (1): 26-30. Consultado 5 jul. 2015. Disponible en <http://id.portalgaruda.org/>

García Jiménez, A. 2012. Desinfección de sustrato y solución contaminados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. (en línea). Tesis Mag. Sc. Chapingo, MX, Universidad Autónoma Chapingo. Consultado 29 oct. 2015. Disponible en <http://www.chapingo.mx/>

García, L; Zimmermana, R; Soriano, L; Pérez, C; Ayala, P. s.f. Caracterización de condiciones meteorológica en El Salvador. (en línea). San Salvador, SV. Consultado 20 julio 2015. Disponible en <http://portafolio.snet.gob.sv/>

García, R; García, A; Delgado L. 1999. Marchitez bacteriana del tomate causada por el biovar 2 a, de *Ralstonia solanacearum* en algunas localidades del estado Merida-Venezuela. (en línea). Merida, VE. Consultado 15 jul. 2015. Disponible en <http://www.saber.ula.ve>

Gartzia Bengoetxea, N; González Arias, A. 2013. Efectos de la aplicación de cenizas de caldera de biomasa en el modelo jerárquico de agregación de un suelo forestal bajo condiciones oceánicas. (en línea). Tesis Lic. Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona. Consultado 3 jul. 2015. Disponible en http://www.recercat.cat/bitstream/handle/2072/210370/PFC_CarlaGuillenEscriba.pdf?sequence=1

Gómez Calvo, EA. 2005. Aislamiento, identificación y caracterización del agente causal del moko del plátano, *Ralstonia solanacearum* raza 2, provenientes de las plantaciones afectada en Colombia. (en línea). Consultado 15 jul. 2015. Disponible en http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/ipm/pdfs/tesis_eduardo_gomez.pdf

Hernández, Y; Mariño, N; Trujillo, G; Urbina Navarro de C. 2005. Invasión de *Ralstonia solanacearum* en tejidos de tallos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). (en línea). *Revista de la Facultad de Agronomía* 22(2). Consultado 17 ago. 2015. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000200008

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, SV); CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, SV); MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, SV). 2012?. Caracterización de la cadena productiva de hortalizas a cielo abierto. (en línea). Santa Tecla, Libertad, SV, MAG. Consultado 28 mar 2014. Disponible en http://www.iica.int/Esp/regiones/central/salvador/Documents/Documentos%20PAF/caracterizacion_hortalizas_cielo_abierto.pdf

Lino Rodríguez, CM; Portal Miranda, LH. 2013. Evaluación de enmiendas al suelo para prevenir la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV, Universidad de El Salvador. 73 p.

Loarca Marroquin, JL. 1987. Estudio del patosistema *Solanum-Pseudomonas* y alternativas de control químico aplicado a la semilla de dos municipios del departamento de Quetzaltenango. (en línea). Tesis Lic. Agr. GT, Universidad de San Carlos Guatemala. Consultado 18 jul. 2015. Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1050.pdf

López Tzoc, JG. 2004. Evaluación del solarizado para el control de *Ralstonia solanacearum* en el cultivo de tomate *Lycopersicon esculentum*, en la Aldea el Tempisque, Agua Blanca, Jutiapa. (en línea). Tesis Ing. Agr. GT, Universidad de San Carlos Guatemala. Consultado 28 Abr. 2014. Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2131.pdf

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, SV) 2011. Elaboración y Uso de bocashi. (en línea). Colonia Maquilishuat, San Salvador, SV. Consultado 18 mar. 2014. Disponible en <http://www.pesacentroamerica.org/biblioteca/2011/bocashi.pdf>

Mandal, S; Kar, I; Mukherjee, KA; Acharya, P. 2013. Elicitor-Induced Defense Responses in *Solanum lycopersicum* against *Ralstonia solanacearum*. (en línea). The Scientific World Journal. Consultado 7 ago. 2015. Disponible en <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/561056/>

Mendoza, A. s.f. El Ácido Salicílico es un Agente Señalizador y Promotor de Resistencia Biótica y Abiótica en las Plantas. (en línea). Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Mx. Consultado el 8 jul. 2015. Disponible en: http://abenmen.com/a/rev_salicilico.pdf

Milagrosa, SP; Balaki, ET. 1999. Influence of Bokashi organic fertilizer and effective microorganisms (EM) on growth and yield of field grown vegetables. (en línea). La Trinidad, Benguet, PH, Benguet State University. Consultado 5 jul. 2015. Disponible en http://www.infric.or.jp/english/KNF_Data_Base_Web/PDF%20KNF%20Conf%20Data/C5-4-172.pdf

Muthoni, J; Shimelis, H; Melis, R. 2012. Management of Bacterial Wilt [*Ralstonia solanacearum* Yabuuchi et al., 1995] of Potatoes: Opportunity for Host Resistance in Kenya. (en línea). Journal of Agricultural Science. 4(9):64-78. Consultado 3 jul. 2015. Disponible en <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/viewFile/16264/12707>

Nalimova, ME. S. f. Producción y Aplicación de *Trichoderma spp.* como Antagonista de Hongos Fitopatógenos. (en Línea). La Habana, Cuba. Consultado 13 Jul. 2015. Disponible en <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/TRICHODE.htm>

Naranjo Feliciano, E; Martínez Zubiaur, Y. 2013. Avances en el diagnóstico de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*): situación actual y perspectivas en Cuba. (en línea). Revista de Protección Vegetal 8(3). Consultado 14 jul. 2015. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000300001

Narasimha Murthy, K; Nirmala Devi, D; Srinivas, C. 2013. Efficacy of *Trichoderma asperellum* against *Ralstonia solanacearum* under greenhouse conditions. (en línea). Department of Microbiology and Biotechnology, Bangalore University, Jnanabharathi Campus, Bangalore-560 056, Karnataka, India. Consultado 28 Abr. 2014. Disponible en <http://www.annalsofplantsciences.com>

Narayanasami, P. 2013. Biological management of diseases of crops. volumen 2: integration of biological control strategies with crop disease management systems. (en línea). New York, Springer. Consultado 6 ago. 2015. Disponible en books.google.com.sv

ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). 2012. Situación del tomate para consumo fresco. (en línea). MAG, CL. Consultado 29 ago 2015. Disponible en <http://www.odepa.cl/odepaweb/servicios-informacion/Mercados/jul-12.pd>

Pérez Mancia, JE; Moreira Rivas, A; Hurtado Román, GE; Guzmán de Serrano, RF. s. f. Identificación, reproducción y manejo de microorganismos del suelo de montaña de la zona alta de Chalatenango para elaborar Biofertilizantes. (USB).

Prio, S; Barea, O; Equise, H; Aley, P. 2004. Capacitación e investigación participativa para el manejo integrado de la Marchitez Bacteriana de la papa: experiencias en Perú y Bolivia. (en línea). Lima, PE, CIP. Consultado 14 may 2014. Disponible en <http://books.google.com.sv>

Ralstonia solanacearum un Fitopatógeno multi huésped que involucra tres razas cinco biovares y esta en la lista de bioterrorismo. 2009. (en línea). s.n.t. Consultado 13 jul. 2015. Disponible en <https://microplantas.wordpress.com>

Ramírez B. 2012 Efecto del Ácido Salicílico en el Crecimiento y Desarrollo de un cultivo de pepino (*Cucumis sativun L.*) (en línea). Departamento de Botanica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Mexico. Consultado el 06 agos.2015 Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6457/62385%20RAMIREZ%20NEGRETE%2c%20BEATRIZ%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Ramírez, O. 1994. El uso de presupuestos parciales en el manejo integrado de plagas. CR, CATIE. (4 p.). (No. 11)

Rivas Flores, AW. 2012. Principios del control de enfermedades vegetales. (Diapositivas) Universidad de El Salvador, San Salvador, SV. 11 diapositivas, USB.

_____. 2014. Concepto de Medidas Fitosanitarias y escala de severidad. (Entrevista). San Salvador, SV, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: awrivas@yahoo.com

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. (en línea). Tesis Ing. Agr. Lic. GT, Universidad de San Carlos Guatemala. 68 p. Consultado 28 Abr. 2014. Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1792.pdf

Salas Sanjuán, MC; Urrestarazu Gavillán, M. 2001. Técnicas de fertirrigación en cultivo sin suelo. (en línea). Almería, ES. Consultado 27 ago. 2015. Disponible en books.google.com.sv

Sánchez E; Mercado E; Peña E; Cruz H; Pineda, E. 2010. El Ácido Salicílico y su participación en la resistencia de patógenos en plantas. (en línea). Consultado el 8 jul.

2015. Disponible en <http://www.biologicas.umich.mx/index.php/biologicas/article/viewFile/83/83>

Sandoval Briones, C. 2004. Manual Técnico Manejo integrado de Enfermedades en cultivos hidropónicos. (en línea). Universidad de Talca, Chile. Consultado 12 jul. 2015. Disponible en <http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/2931/1/Sandoval.pdf>

Sasidharan Sreedevi; Nanu Remani, K; Sailas Benjamin. 2013. Biotic stress induced biochemical and isozyme variations in ginger and tomato by *Ralstonia solanacearum*. (en línea). American Journal of Plant Sciences 4(8):1601-1610. Consultado 15 jun. 2015. Disponible en <http://www.scirp.org/>

Sermeño, JM; Rivas, AW; Menjívar, RA. 2001. Manual técnico manejo integrado de plagas. San Salvador. SV. p. 33-34

SIAR (Servicio Integral de Asesoramiento al Regante) Castilla-La Mancha. 2005. Fertirrigación. (en línea). s.n.t. Consultado 11 nov. 2015. Disponible en <http://crea.uclm.es/siar/publicaciones/files/HOJA11.pdf>

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). Investigación agraria. Producción y protección vegetal 16 (3):379-393. Consultado 4 jul. 2015. Disponible en www.inia.es/gcontrec/pub/solla_1161156613093.pdf

Torres, J. 2008. Hipoclorito de sodio como agente desinfectante. (en línea). Mexico D. F. Consultado 12 jul. 2015. Disponible en <http://seguridadbiologica.blogspot.com/>

Valbuena Calderón, OE. 2003. Resistencia inducida en el control de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) en tomate. (en línea). Tesis Ing. Agr. Lic. Guácimo, CR, Universidad EARTH. P. 35. Consultado 30 abr. 2014. Disponible en <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/dpg/2000097.pdf>

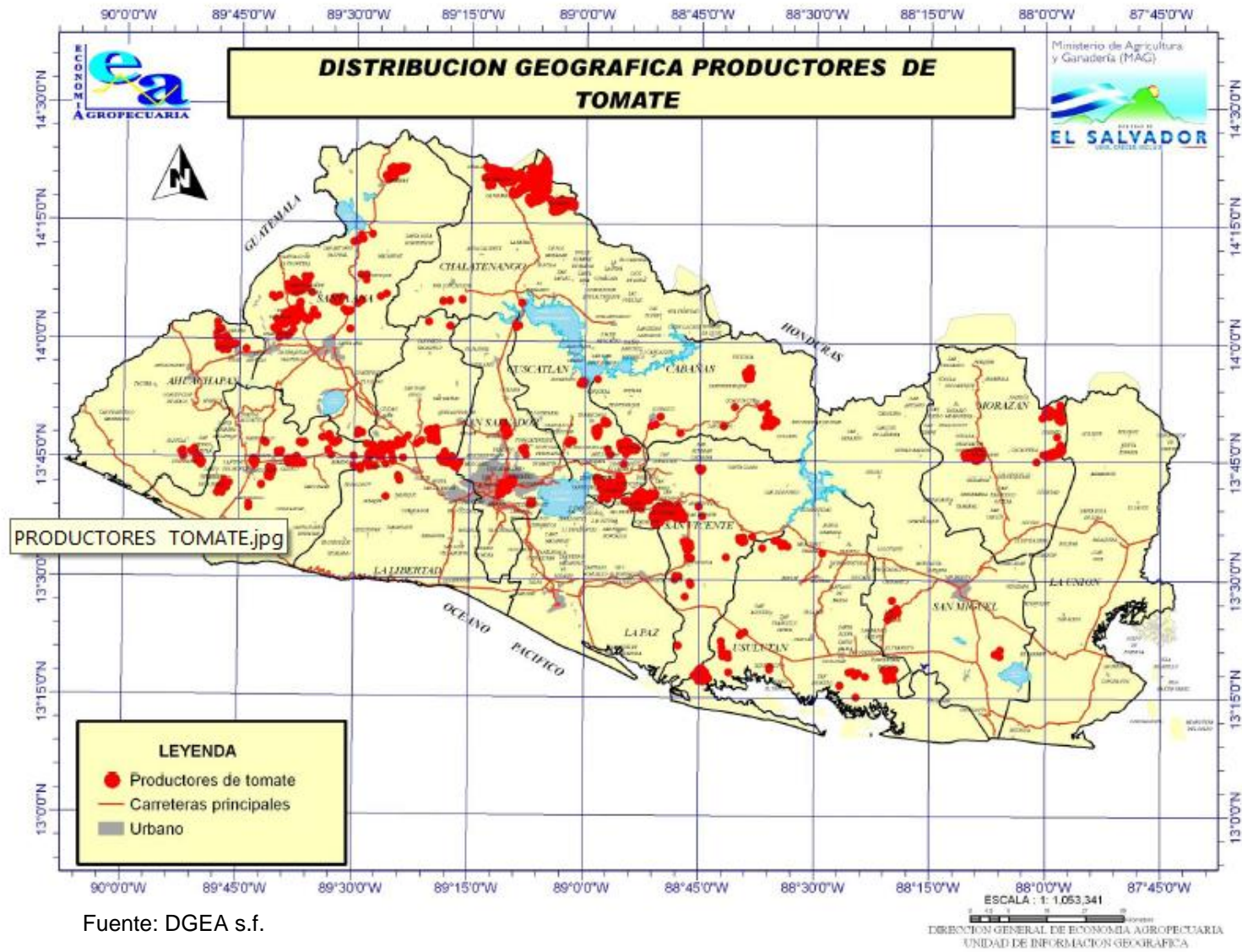
Vallejo Cabrera, FA; Estrada Salazar, EI. 2004. Producción de Hortalizas clima cálido. (en línea). CO, Universidad Nacional de Colombia. Consultado 27 ago. 2015. Disponible en books.google.com.sv

Walters, DR; Fountaine, JM. 2009. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. (USB). Journal of Agricultural Science jun. 2009: 147, 523-535.

Yabuuchi, E; Kosako, Y; Yano, I; Hotta, H; Nishihuchi, Y. 1995. Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) Comb. Nov. (en línea). Microbiology and Immunology 39(11): 897-904. Consultado 15 jul. 2015. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/doi/10.1111/j.1348-0421.1995.tb03275.x/>

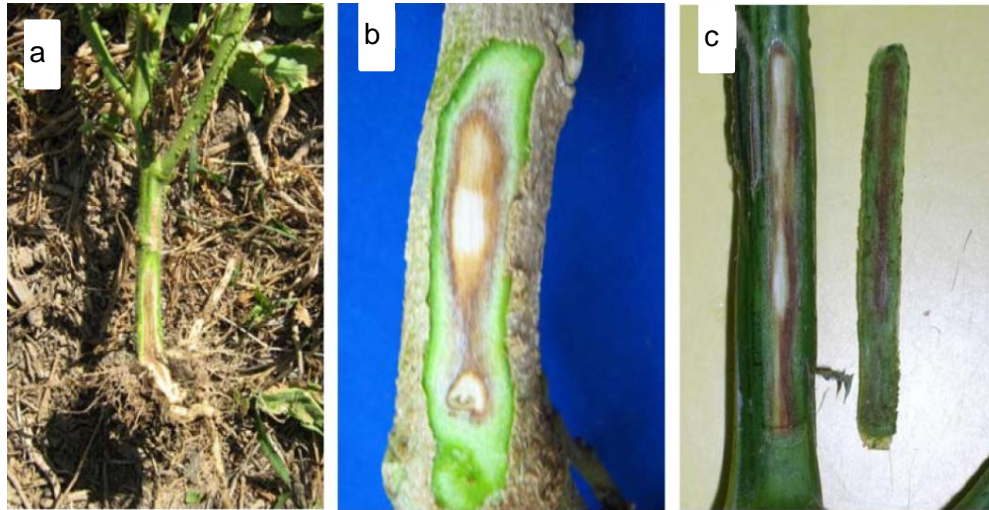
Yuliar; Asi Nion, Y; Toyota, K. 2015. Recent Trends in Control Methods for Bacterial Wilt Diseases Caused by *Ralstonia solanacearum*. (en línea). Microbes Environ 30(1):1-11. Consultado 4 jul. 2015. Disponible en <http://translate.google.com.sv/translate?hl=es-419&sl=en&u=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4356456/&prev=search>

8. ANEXOS.



Fuente: DGEA s.f.

Figura A- 1. Zonas cultivadas con tomate en El Salvador



Decoloración del tejido vascular visible al remover la epidermis del tallo en tomate (a); berenjena (b) y chile (c).

Fuente: FHIA ET AL. 2012

Figura A- 2. Decoloración del tejido vascular.



Fuente: FHIA ET AL. 2012

Figura A- 3. Exudado lechoso en tallo de tomate.



Fuente: FHIA *et al.* 2012

Figura A- 4. Prueba de flujo bacteriano



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA AGRICOLA**

RESULTADO DE ANÁLISIS

Fecha: Ciudad Universitaria, 08 de octubre de 2015.

Usuario: Brs. Jesús Alejandro Segovia Molina
Sofía Elizabeth Morán Rosales
María Auxiliadora López Nieto

Fecha de ingreso: 14 / Agosto / 2015

Tipo de Muestra: Muestras de ceniza

Procedencia: De la combustión de madera de cafetos y árboles

Número de Muestra: Mx191

Análisis solicitado: Ca

Identificación de la muestra	Ca ppm	Ca %
Muestra de Ceniza	2,324.81	23.25

Analista: Br. Mario Antonio Hernández Melgar

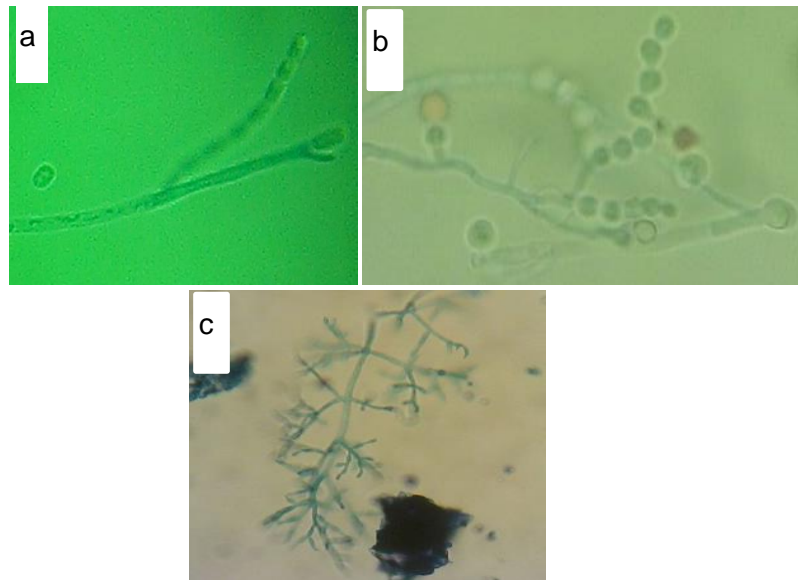
Atentamente,

"HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA"



Ing. Agr. Oscar Mauricio Carrillo Turcios
Jefe del Departamento de Química Agrícola

Figura A- 5. Análisis de Calcio en la ceniza



a) *Geotrichum* spp; b) *Monilia* sp; c) *Cristulariella* sp.

Figura A- 6. Estructura de los hongos identificados.

Programa de fertilización

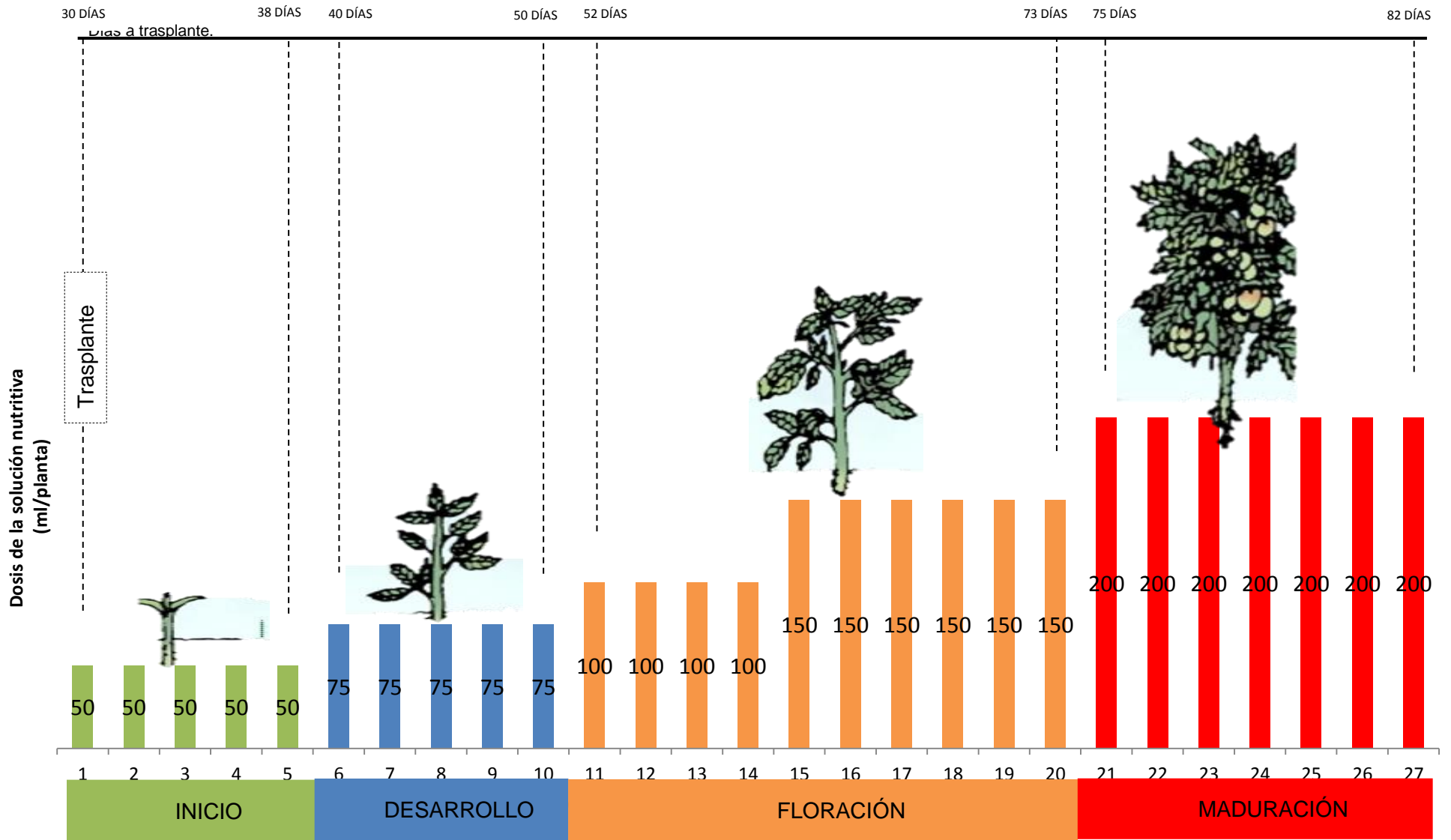
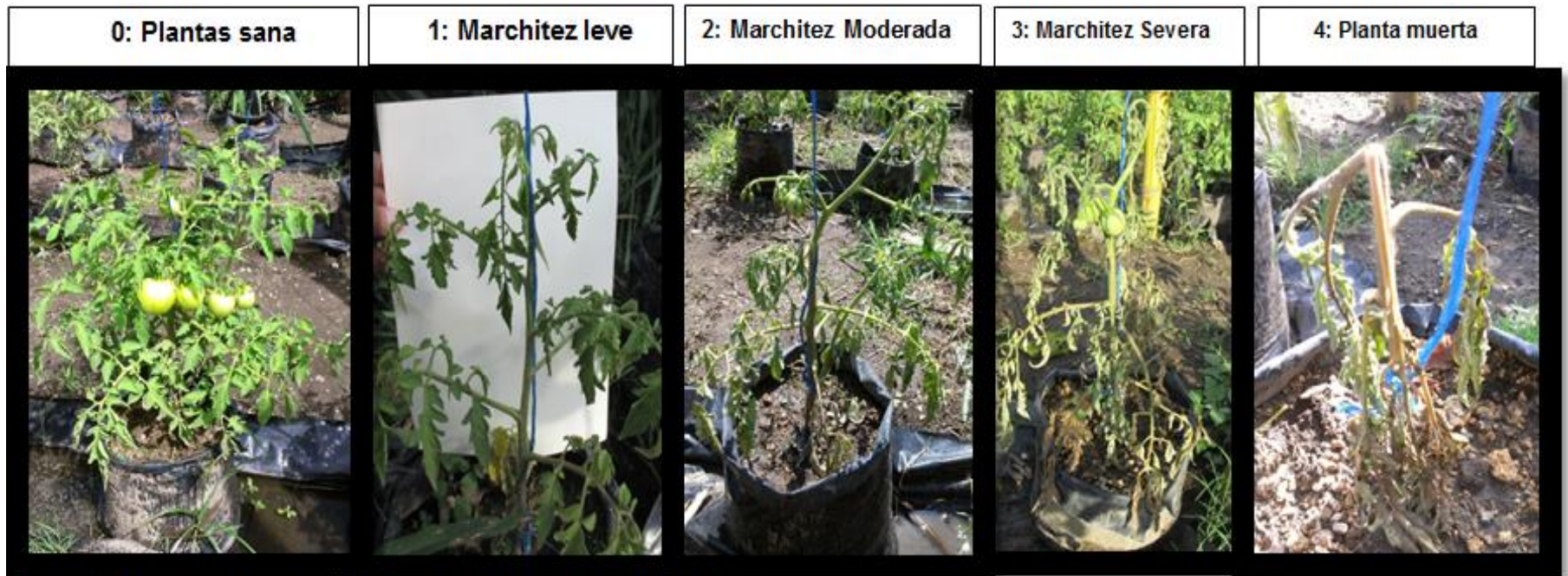


Figura A- 7. Programa de fertilización durante la fenología del tomate



Fuente: Kempe y Sequeira (1983), modificada por Rivas Flores¹

Figura A- 8. . Escala de severidad de la marchitez bacteriana del tomate.

¹ Rivas Flores, AW. 2014. Escala de severidad. (Entrevista). San Salvador, SV, Universidad de El Salvador, Departamento de Protección Vegetal. E-mail: awrivas@yahoo.com

Cuadro A- 1. Valor nutricional del tomate.

Desperdicio	%	6.0
Materia seca	g.	6.2
Energía	K cal	20.0
Proteína	G	1.2
Fibra	G	0.7
Calcio	Mg	7.0
Hierro	Mg	0.6
Caroteno	Mg	0.5
Tiamina	Mg	0.06
Riboflavina	Mg	0.04
Niacina	Mg	0.6
Vitamina C	Mg	2.3.0
Valor nutritivo promedio (NVP)		2.39
VNP por cien gramos de materia seca		38.5

Fuente: Grubben citado por Cabrera-Salazar 2004

Cuadro A- 2. Características de las razas y sus relaciones a biovars de *R. solanacearum*

Raza	Huéspedes principales	Distribución geográfica	Biovar
1	Tabaco, tomate, malezas, bananos, cacahuete, papa, pimentón, berenjena, olive, jengibre, fresa, geranio, Eucaliptos, otras plantas.	Asia, Australia, Américas	1, 3, 4
2	Banano triploid, otra <i>Musa</i> spp.	América y Asia tropical	1
3	Papas, Tomates y geranio	Mundial (zonas frías) excepto en los Estados Unidos y Canadá	2 ó 2A
4	Jengibre	Australia, China, Hawai, India, Japón, Mauritius, Asia del Sur India	4, 3
5	Árbol de Mora	China	5
No conocida	2T o N2	Principales zonas bajas de sur América	

Cepas típicas de la raza 3 algunas veces son referidas a biovar 2A. Nuevas cepas de raza 3 de la cuenca del Amazonas han sido colocadas en un nuevo biovar, diseñado como 2T o N2 (su relación a las razas no es muy clara).

Fuente: Denny y Hayward, Daughtrey citado por Champoiseau 2009

Cuadro A- 3. Registro de pH al suelo y muestras

Tratamiento	Primer registro de pH al suelo	Segundo registro de pH al suelo	pH de las muestras
Sin control (T0)	6.90	-	-
Agri-Gent®(T1)	6.90	6.78	-
Solarización (T2)	6.90	6.41	-
<i>Trichoderma harzianum</i> (T3)	6.90	5.78	-
Bocashi (T4)	6.80	6.98	-
MML (T5)	6.70	6.03	4.5
Ácido Salicílico (T6)	6.90	-	-
Hipoclorito de sodio 0.25% (T7)	7.00	5.86	-
Ceniza (T8)	6.80	7.12	10.90

Cuadro A- 4. Registros diarios de las temperaturas durante las siete semanas de solarización al suelo.

Tomas diaria de temperatura	punto 1 (°C)	punto 2 (°C)	punto 3 (°C)	Promedio (°C)
1	35	38	38	37.00
2	34	35	36	35.00
3	34	35	36	35.00
4	34	33	35	34.00
5	36	41	44	40.33
6	40	41	42	41.00
7	40	40	44	41.33
8	37	41.5	42	40.17
9	42	46	47	45.00
10	38	39	40	39.00
11	36	39	40	38.33
12	39	39	41	39.67
13	39	40	42	40.33
14	40	41	43	41.33
15	30.5	32	37	33.17
16	31	35	37	34.33
17	32	34	35	33.67
18	39	40	42	40.33
19	31	33	36	33.33
20	35	37	38	36.67

21	36	36	38	36.67
22	39	42	42	41.00
23	37	38	40	38.33
24	34	36	38	36.00
25	48	48	49	48.33
26	44	45	46	45.00
27	40	43	44	42.33
28	41	43	45	43.00
29	43	43	46	44.00
30	42.5	43	43	42.83
31	40	41	42	41.00
32	39	42	44	41.67
33	40	41	42	41.00
34	34	35	39	36.00
35	40	39	37	38.67
36	40	38	37	38.33
37	38	39	40	39.00
38	41	37	38	38.67
39	40	39	37	38.67
40	41	32	34	35.67
41	42	37	37	38.67
42	45	43	40	42.67

Cuadro A- 5. Porcentaje de incidencia la marchitez bacteriana del tomate, registrada en nueve semanas.

Semanas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	0%	0%	0%	0%	0%	10%	10%	10%	0%
2	0%	0%	0%	0%	0%	10%	10%	10%	0%
3	0%	0%	0%	0%	0%	10%	10%	10%	0%
4	0%	0%	0%	0%	0%	50%	30%	10%	0%
5	60%	20%	10%	0%	0%	50%	30%	10%	10%
6	90%	20%	30%	20%	20%	50%	30%	20%	20%
7	100%	20%	30%	30%	40%	50%	40%	30%	20%
8	100%	20%	30%	40%	40%	50%	40%	30%	20%
9	100%	20%	30%	40%	40%	50%	40%	30%	20%
Promedio	50%	11%	14%	14%	16%	37%	27%	18%	10%

Cuadro A- 6. Índice de severidad promedio semanal de la marchitez bacteriana del tomate.

Semanas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	0	0	0	0	0	0.4	0.4	0.4	0
2	0	0	0	0	0	0.4	0.4	0.4	0
3	0	0	0	0	0	0.4	0.4	0.4	0
4	0	0	0	0	0	1.6	1.2	0.4	0
5	1.7	0.3	0.2	0	0	2	1.2	0.4	0.3
6	3.6	0.8	1	0.4	0.4	2	1.2	0.4	0.6
7	4	0.8	1.2	1	1.6	2	1.5	1.1	0.8
8	4	0.8	1.2	1.6	1.6	2	1.5	1.1	0.8
9	4	0.8	1.2	1.6	1.6	2	1.6	1.2	0.8
Promedio	1.9	0.4	0.5	0.5	0.6	1.4	1.0	0.6	0.4

Cuadro A- 7. Datos de las cosechas.

Tratamiento	N° de frutos	Peso de los frutos (onzas)	Diámetro promedio de los frutos (cm)
Sin control (T1)	0	0	0
Agri-Gent®(T2)	39	80.30	4.85
Solarización (T2)	24	64.00	5.30
<i>Trichoderma harzianum</i> (T3)	42	92.60	5.03
Bocashi (T4)	34	82.40	4.90
MML (T5)	17	33.50	4.60
Ácido Salicílico (T6)	18	37.20	4.90
Hipoclorito de sodio 0.25% (T7)	38	66.00	4.94
Ceniza (T8)	21	54.00	5.10

Cuadro A- 8. Unidades de enfermedad para el Área Bajo la Curva de la Enfermedad (ABCPE)

Semanas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0.1	0.1	0.1	0
3	0	0	0	0	0	0.3	0.1	0.1	0
4	0	0	0	0	0	0.5	0.2	0.1	0
5	0.3	0.1	0.05	0	0	0.5	0.3	0.1	0.05
6	0.75	0.2	0.2	0.2	0.2	0.5	0.3	0.15	0.15
7	0.95	0.2	0.3	0.3	0.4	0.5	0.35	0.25	0.2
8	1	0.2	0.3	0.4	0.4	0.5	0.4	0.3	0.2
9	1	0.2	0.3	0.4	0.4	0.5	0.4	0.3	0.2
Promedio	0.44	0.10	0.13	0.14	0.16	0.38	0.24	0.16	0.09