

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

Lino-Rodríguez, CM1  
Estudiante tesista.  
Departamento de Fitotecnia,  
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador .  
Correo electrónico: claudiarodriguez45@hotmail.com

Portal-Miranda, LH  
Estudiante tesista.  
Departamento de Fitotecnia,  
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador .  
Correo electrónico: lidyportal@hotmail.com

Pérez-Ascencio, MA  
Docente Director.  
Departamento de Fitotecnia,  
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador .  
Correo electrónico: maralfre29@gmail.com

Rivas-Flores, AW  
Docente Director.  
Departamento de Protección Vegetal  
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador .  
Correo electrónico: awrivas@yahoo.com

Argueta-Portillo, Q  
Docente Director.  
Laboratorio de Suelos,  
Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA).  
Correo electrónico: quirinoargueta@yahoo.com

## Resumen

Se investigó el efecto de tres enmiendas sobre la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith; en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador; con una duración de un año, comprendido entre julio 2012 y julio 2013; realizándose en dos fases: la primera de laboratorio que consistió en el aislamiento, caracterización, preparación de inóculo bacteriano; la segunda fase en campo que consistió en la siembra, aplicación de enmiendas y manejo del cultivo. El factor de estudio lo constituyeron las enmiendas y los tratamientos las diferentes dosis, quedando de la siguiente manera T<sub>1</sub>: Sulfato de Calcio (CaSO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O) 9 gr/cubeta, T<sub>2</sub>: Ceniza 112 gr/cubeta, T<sub>3</sub>: Ceniza 170 gr/cubeta, T<sub>4</sub>: Bocashi 170 gr /cubeta, T<sub>5</sub>: Bocashi 250 gr/cubeta y T<sub>6</sub>: Sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri- Gent®) 15 gr/cubeta; midiéndose las variables porcentaje de incidencia, grado de severidad y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Para el análisis de los datos se aplicó el diseño estadístico Completamente al azar, cuando estos mostraron efectos significativos se aplicó la prueba estadística de Tukey, con un nivel de significancia del (0.01%), apoyándose del programa SAS v. 9.1. Presentando los mejores efectos para la variable grado de severidad el T<sub>5</sub> (bocashi 170 gr/cubeta) con una media igual a 1 de grado de severidad; mientras que para las variables incidencia y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad el T<sub>2</sub> (ceniza 112 gr/cubeta) con una media igual a 12.5% de incidencia y 0.75 unidades de enfermedad respectivamente. Luego para el análisis económico se aplicó la metodología propuesta por Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CYMMYT) y su modificación, presentando la mejor relación beneficio-costos el T<sub>2</sub> con un beneficio neto igual a \$12.67.

**Palabras clave:** Marchitez, bacteriana, *Ralstonia solanacearum*, Enmiendas,suelo, Tomate.

## Abstract

Effects of amendments the soil for prepare the bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* E.

F. Smith) in the tomato cultivation (*Lycopersicon sculentum* Mill). The effect of three amendmets were investigated on wilt caused by bacteria name *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith; this established in the Experimental Station and Practices in the Agronomy Science Campus, in the University of El Salvador; lasted one year between July 2012 to July 2013; it carried out in two fases. The first was in the lab and consisted of aisolating, characterizing and preparing the bacteria inoculus and the second of campus that consisted in in the saw, applications of amendments, and management of crops. The factor of study was established by the amendments and treatments in different doses as follow: T<sub>1</sub>: Calcium Sulfate (CaSO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O) 9, gf .cube, T<sub>2</sub>: ashes 112 gf. cube. T<sub>3</sub>: ashes 170gf. cube T<sub>4</sub>: Bocashi 170 gf. cube, T<sub>5</sub> Bocashi 250 gf. cube. And T<sub>6</sub>: Gentamycin Sulfate and Oxitettraciline (Agri- Gent®) 15 gf. cube and trail treatment with no application; measuring within the variable incidence average, severity grade and Under the Disease Progress Curve (AUDPC). To analyze the data, an stadistic desing was applied randomized complete array and when they showed significative effects were put under stadistic test Tukey, all them with a level of significance (0.01) supported on SAS v 8.5 program. Showing better effects for the variable severity grade the treatmen 5 (bocashi 6 ounce for cube) with a mean 1.0. For variable of incidence and area under the disease progress curve of illness T<sub>2</sub> (ashes 4 ounce for cube) with a mean 12.5% and 0.75 unites of diseases respetivity. For analysis the proposed methodology was applied International Maize and Wheat Improvement Center (CYMMIT) and its modification showing the best relationship between benefit-cost the T<sub>2</sub>.

**Keys words:** Bacterial, wilt, *Ralstonia, solanacearum*, amendments, soil, Tomato.

## Introducción

En El Salvador la marchitez bacteriana causada por *Rasltonia solanacearum* E. F Smith, ocasiona pérdidas económicas en el rendimiento del cultivo de tomate que alcanzan un 40% equivalentes a 1,992.60 dólares por manzana, situación similar presenta la región Centroamericana donde se informa de una reducción en el rendimiento de hasta un 20%- 30% en Panamá y un 50% en Costa Rica (Díaz 1999).

El control de la enfermedad es muy difícil debido a la variabilidad genética de la bacteria y al amplio rango de plantas hospederas. Las prácticas de manejo, como la aplicación de productos químicos han sido poco efectivas y con altos costos para los productores (Hernández y Bustamante 2001).

Han sido muchas las estrategias, como la obtención de cultivares resistentes y la aplicación de microorganismos antagonistas en las semillas o las raíces de las plantas antes de la siembra, la resistencia varietal del patógeno, así como las condiciones climáticas y ambientales locales a las que se adapta, resultan no prevenir la aparición de la enfermedad (Rodríguez 2007).

En esta investigación se buscaron alternativas tecnológicas, accesibles para el productor, económicamente viables y amigables con el ambiente, dentro de dichas alternativas se contempla la incorporación de enmiendas orgánicas e inorgánicas en el suelo infestado con la bacteria demostrando que previenen la marchitez bacteriana del tomate, investigaciones de Hernández y Bustamante (2001) revelan el potencial del bocashi en la disminución de la enfermedad en el cultivo de tomate. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de enmiendas, las cuales modifican las condiciones físicas, químicas y biológicas del medio en que se desarrolla la bacteria, disminuyendo así la población bacteriana y previniendo la enfermedad. Siendo el bocashi una enmienda orgánica, biológica que permite el desarrollo de microorganismos benéficos que compiten con el patógeno disminuyendo así sus poblaciones y la ceniza un producto orgánico rico en carbonatos que liberan un complejo de hidróxidos y proporcionan un carácter alcalino al suelo, lo cual evita el desarrollo de la bacteria en el suelo.

## Materiales y Métodos

### Descripción del área de estudio

El experimento constó de dos fases, una de laboratorio y una de campo. La primera se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador y la segunda en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, ubicado en el municipio de San Luis Talpa, departamento de La Paz, El Salvador, a una altura de 50 msnm, entre 13° 28' 30.21" N, 89° 5' 43.39" W, con una precipitación y temperatura anual de 1,700 mm/año T° min. 22.3° C y max. 30°C, respectivamente. Llevándose a cabo en un periodo comprendido entre julio 2012 y julio 2013.

## Metodología de laboratorio

### Preparación de medios de cultivo

Para el aislamiento del patógeno se prepararon medios de cultivo con la capacidad de identificar, seleccionar y caracterizar de forma específica la bacteria en estudio. Para ello se utilizaron los medios Agar Pseudomonas, Agar Cetrimide, ambos selectivos para distinguir bacterias de este género. Los medios necesarios para la realización de las pruebas bioquímicas, todos los medios utilizados en el aislamiento se prepararon en condiciones asépticas y se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante dos horas.

### Recolección de material infestado

Se recolectaron muestras de plantas de tomate, con características sintomáticas de marchitamiento, procedentes del área de estudio. Estas plantas se trasladaron a laboratorio. A estas se les realizó el test de flujo, que consistió en hacer un corte de tallo de 2-3 cm de largo de una planta con marchitez no muy avanzada, la cual se suspendió en posición vertical y trascurridos 5 minutos, comenzó a fluir un hilo blanquecino que descendió dentro del agua, el cual es un indicador de la posible presencia de la bacteria en el sistema vascular de la planta.

### Aislamiento del patógeno

Se obtuvieron aislados de tallos de plantas de tomate con síntomas de marchitez, dichos tallos se desinfectaron con alcohol etílico al 70%, hipoclorito de sodio al 1% y agua destilada estéril, los que se sumergieron en dichas soluciones por un minuto, posteriormente se colocaron los tallos en tubos de ensayo que contenían 10 ml de Caldo nutritivo, se dejaron en incubación a una temperatura de 28 °C durante 24 horas. Transcurrido este período, la suspensión se sembró con asa estéril en cajas Petri en el medio selectivo Agar Pseudomonas. Las cajas sembradas con la suspensión se colocaron de forma invertida y se incubaron a una temperatura de 28 °C, durante 24 horas.

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

### Realización de tinción Gram

Después de realizar la purificación de colonias aisladas de la bacteria *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith, se procedió a la tinción de Gram a fin de identificar con certeza el patógeno.

### Prueba de KOH 3%

Se tomó una porción del cultivo bacteriano, se colocó en una gota de KOH 3% y se revolvió. El mucus bacteriano se mostró pegajoso y formó hilos al separar el asa, el resultado se consideró como Gram negativa.

### Realización de pruebas bioquímicas

Para la caracterización específica de la bacteria se realizaron una serie de pruebas bioquímicas, a fin de conocer la fisiología que presentaba, es decir el tipo de enzimas que posee, de las cuales se utilizó para la fermentación de azúcares Dextrosa, Sucrosa, Manitol y Lactosa; para la hidrólisis de proteínas Indol y Gelatina, entre otras pruebas realizadas a la bacteria fueron Rojo de metilo, Voges Proskauer, Citrato, Nitritos, Almidón, movilidad y TSI (tres azúcares glucosa, lactosa, sacarosa, citrato de amonio y hierro).

### Realización de pruebas de patogenicidad (Postulados de Koch)

A partir de los cultivos puros se preparó una suspensión bacteriana en agua destilada, cuando las plantas de tomate, tenían la cuarta o quinta hoja desarrollada, se inocularon, mediante la técnica por punción con jeringa estéril, en la axila de la segunda o tercera hoja extendida con la que se depositó un mililitro de suspensión bacteriana.

### Preparación de inóculo

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

Una vez cumplió el tiempo de incubación se añadió la solución de cada tubo a un depósito plástico con capacidad de un litro, que contenía Caldo Tripticosa Soya, los depósitos una vez inoculados con la suspensión, se sellaron y se incubaron a temperatura ambiente por 72 horas.

### Conteo indirecto de la suspensión utilizada como inóculo

Para cuantificar el número de células microbianas de la suspensión utilizada como inóculo, se realizó el conteo por el método indirecto, este consistió en hacer diluciones decimales del cultivo  $10^{-8}$ , en condiciones estériles, se colocaron 10 ml de la suspensión bacteriana, en un erlenmeyer con 90 ml de agua destilada estéril, se agitó por tres minutos. A partir del erlenmeyer agitado, se hizo ocho diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  y  $10^{-8}$ ),

se rotularon las cajas según las diluciones aplicadas, se envolvieron en papel y se colocaron en la estufa por 24 horas a 28 °C

### Inoculación de cubetas

Una vez transcurrido el tiempo de incubación del inóculo, este se transportó al área del experimento, conservando esta solución en una cadena de frío para controlar la condición del patógeno. El suelo de cada cubeta fue inoculado con 250 ml de una suspensión  $2.5 \times 10^9$  ufc.ml<sup>-1</sup> (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum*, se procuró colocar cantidades iguales uniformizando al sustrato. Considerando dejar un nivel bajo y similar de humedad.

### Análisis físico –químico del sustrato y enmiendas aplicadas

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

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

#### Análisis físico – químico de las enmiendas aplicadas

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

### Metodología de campo

#### Preparación y desinfección de sustrato para cubetas

Se utilizó para la elaboración del sustrato una relación de 3:1, es decir tres partes de suelo cada cubeta contenía 30 libras de sustrato distribuidas de la siguiente manera, tres partes de suelo (22.5 lb) y una parte de piedra pómez (7.5 lb), se preparó un volumen de 1 m<sup>3</sup> de sustrato, se colocó también ½ lb. de carbón picado quedando en la superficie con el objetivo de conservar la humedad. El sustrato se desinfectó con Metam-sodio (BL 52.2 SL®), un biocida, en una dilución de un litro, en un barril de 200 litros, de agua, que se distribuyó por cubeta a razón de 2.83 litros. (0.75 gal.). Luego se procedió a cubrirlos con plástico, bajo la recomendación de aplicación de 21 días antes

de usar el inóculo, para que el producto actuara satisfactoriamente.

### Delimitación del terreno

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

### Material vegetal evaluado

Se utilizó el híbrido de tomate Tocayo, el cual posee las siguientes características morfológicas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de las características morfológicas del híbrido de tomate Tocayo.

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Hibrido               | Tocayo  |
| Habito de crecimiento | Determinado   |
| Forma del fruto       | Bloquí alargado   |
| Peso prom. (gramos)   | 90 -120 g.  |
| Rendimiento           | 25 lb.planta-1  |
| Otras características | Susceptible a nematodos, buenas ramificaciones, larga vida de anaquel, No es tolerante, ni resistente a marchitez bacteriana. |

### Elaboración de sustrato y siembra

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

### Manejo de semillero - plantín

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

### Trasplante

El trasplante se realizó a los 28 días después de la emergencia, las plántulas tenían una altura de 15 cm. y un grosor de un centímetro; al momento del trasplante se aplicó la solución arrancadora (250cc<sup>-1</sup>planta) constituida por

la fórmula 18-46-0 (5 lb diluidas en 200 litros de agua).

### Aplicación de tratamientos

Las enmiendas Sulfato de calcio ( $\text{CaSO}_4$ ), bocashi y ceniza, se aplicaron 30 días después de la inoculación, 15 días después se aplicó el bactericida sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri-Gent®) para realizar el trasplante se esperaron 15 días posteriores a la aplicación del bactericida; esto para permitirles que tuvieran una descomposición completa y potenciar su efecto supresivo de la marchitez bacteriana, así como evitar riesgos de posibles efectos fitotóxicos de las enmiendas y químicos sobre el cultivo.

### Fertilización

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

Inicio 20+30+10+Mg+S (Solufeed Inicio) 0.75 lb.8 l-1 de agua

Desarrollo 22+11+22+Mg+S (Solufeed Desarrollo) 1 lb.8 l-1 de agua

Floración 12+20+30+Mg (Solufeed Floración) 1 lb.8 l-1 de agua

Maduración 10+10+40+S (Solufeed Maduración) 1 lb.8 l-1 de agua

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

### Labores culturales

#### Manejo de plagas y enfermedades

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

#### Manejo de malezas

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

#### Riego

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

### Metodología estadística

El factor en estudio lo constituyeron las enmiendas y los tratamientos representados por las diferentes dosis; se aplicaron siete tratamientos con ocho repeticiones, quedando estos de la siguiente manera T<sub>0</sub>: Testigo absoluto, T<sub>1</sub>: Sulfato de Calcio ( $\text{CaSO}_4\text{H}_2\text{O}$ ) 9 gr/cubeta, T<sub>2</sub>: Ceniza 112 gr/cubeta, T<sub>3</sub>: Ceniza 170 gr/cubeta, T<sub>4</sub>: Bocashi 170 gr/cubeta, T<sub>5</sub>: Bocashi 250 gr/cubeta y T<sub>6</sub>: Sulfato de gentamicina y oxitetraciclina (Agri-Gent®) 15 gr/cubeta. Midiendo en ellos las variables Grado de severidad, porcentaje de incidencia y area Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE). Para el análisis de los datos se aplicó el diseño estadístico completamente al azar, cuando estos mostraron efectos significativos se aplicó la prueba estadística Tukey, todos estos con un nivel de significancia (0.01), apoyándose del programa SAS v. 9.1.

### Análisis de pH final del sustrato enmendado

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

### Metodología económica

Para el análisis económico se utilizó la metodología propuesta Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CYMMYT), 1988 complementándose con la metodología hecha por Ramírez (1994) la cual se fundamenta, en elaborar un presupuesto parcial, determinando los costos que varían por tratamiento, realizar un presupuesto de beneficio neto en el que se comparó la tecnología propuesta contra el tratamiento testigo.

### Resultados y Discusión

#### Aislamiento de *Ralstonia solanacearum*

El aislamiento realizado a *Ralstonia solanacearum* mostró las siguientes características macroscópicas: colonias fluidas con aspecto mucoso, debido a la producción de polisacárido extracelular (EPS), color blanco, de consistencia lisa, de forma redonda e irregular. Los resultados de este aislamiento confirman que es la bacteria en estudio ya que, coinciden con las descripciones realizadas por Hernández y Bustamante (2001).

## Pruebas de patogenicidad

Las plantas que se tenían en el propagador, presentaron la sintomatología típica de la enfermedad, marchitez repentina, epinastia de hojas y tallos oscuros entre otros; mostrándolos a los 3 días de haber sido inoculadas y murieron totalmente por la enfermedad a los 5 días. Los síntomas y las características anteriormente descritas coincidieron con los trabajos publicados por Oberon (2009), quien después de realizar inoculados en plantas de la misma especie, observó que las plantas desarrollaron síntomas al segundo día después de la inoculación y finalmente las plantas murieron al cuarto o quinto día posterior a la inyección.

## Pruebas bioquímicas para la caracterización del patógeno

Las pruebas bioquímicas para caracterizar *Ralstonia solanacearum*, resultaron similares a las descritas por investigadores como (Goszczyńska *et al.* citado por Rodríguez 2007) quien menciona que esta bacteria es Gram negativa, reacciona a prueba de citrato Simmons (+), reducción de nitratos (+) e hidrólisis de almidón (-). Según Schaad (1988); Lelliott, y Stead (1987) esta bacteria no presenta pigmentos fotosintéticos, es indol (-), rojo de metilo (-), Voges-Proskauer (-).

## Conteo indirecto de la suspensión utilizada como inóculo

Con la inoculación de mayor dilución 10<sup>8</sup>, se calculó un promedio, obteniendo un número exponencial de  $2.5 \times 10^9$  ufc. ml<sup>-1</sup> (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum* E. F. Smith. Lo anterior concuerda con inoculaciones realizadas por Hernández y Bustamante (2001), quienes colocaron una suspensión con 10<sup>8</sup> ufc/ml.

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

El sustrato tenía una textura franco – arenoso, un pH en agua de 6.8, el fósforo se presentaba en valores muy altas (479 mg.Kg<sup>-1</sup> o ppm) y una cantidad de potasio muy baja (40 mg.Kg<sup>-1</sup> o ppm).

## Efecto de enmiendas aplicadas al sustrato sobre las variables altura promedio de plantas (cm) y número de hojas

Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas para la variable altura promedio (Cuadro 2), es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato produjeron diferentes efectos en la altura promedio de las plantas de tomate. Presentando los mejores efectos el tratamiento T5 (Bocashi dosis 9 onz.) con una media de 1.620 (Cuadro 3 y Fig. 1).

Cuadro 2. Análisis de varianza para la variable altura promedio en centímetros, de plantas de tomate, ocho días después del trasplante.

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

Cuadro 3. Comparación de medias de los tratamientos para la variable altura promedio en cm. de plantas de tomate 8 días después del trasplante.

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

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestra resultados estadísticamente diferentes

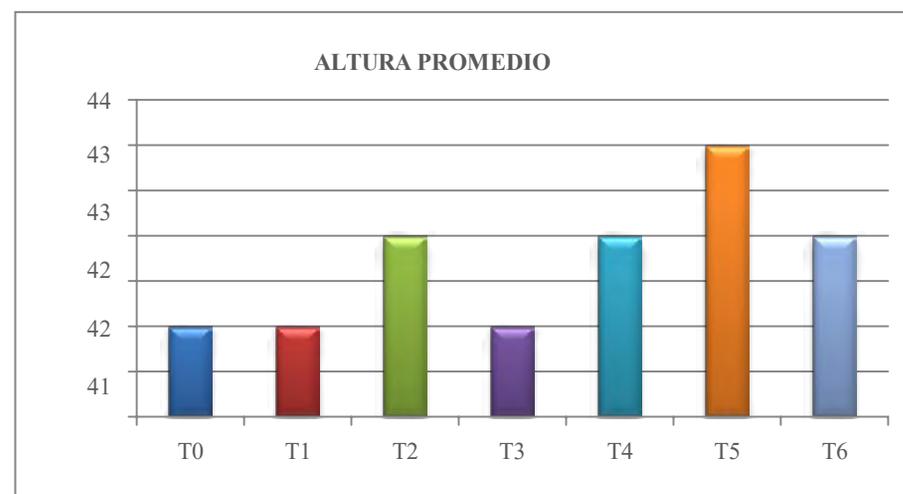


Figura 1. Efecto de tratamientos para la variable altura promedio de plantas de tomate.

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

El bocashi es un abono orgánico que mejora las características físicas, químicas y biológicas del suelo lo que beneficia en gran manera la nutrición de la planta, a través de macro y micronutrientes que enriquecen de tal manera que suplen el desarrollo de la planta.

Tábor citado por Gómez (2001) reporta que el Bocashi contiene gran cantidad de sustancias como vitaminas, enzimas, hormonas, entre otras, las cuales pueden ser utilizadas por las plantas como estimuladoras del crecimiento. El objetivo principal del bocashi es activar y aumentar la cantidad de microorganismos benéficos en el suelo, pero también se persigue nutrir el cultivo y suplir alimentos (materia orgánica) para los organismos del suelo, Shintani *et al.* (2001).

### Enmiendas aplicadas al sustrato y su efecto sobre la variable número de hojas promedio en las plantas

Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas para la variable número de hojas promedio (Cuadro 4), es decir que los tratamientos produjeron diferentes efectos sobre el número de hojas promedio de las plantas de tomate. Presentando los mejores efectos el T5 (Bocashi 9 onz.) con una media de 12.4 (Cuadro 5 y Fig. 2).

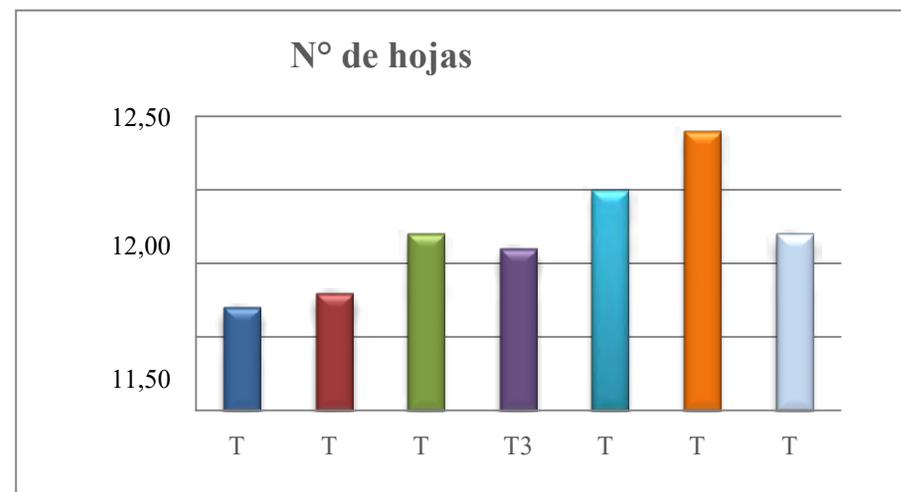


Figura 2. Efecto de los tratamientos sobre la variable número de hojas promedio de plantas de tomate.

Cuadro 4. Análisis de varianza para el variable número de hojas promedio de plantas 8 días después del trasplante.

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

Cuadro 5. Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable número de hojas promedio de plantas ocho días después del trasplante.

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

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestra resultados estadísticamente diferentes

### Enmiendas aplicadas al sustrato y su efecto sobre la severidad de la enfermedad

#### Severidad

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

Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas para la variable grado de severidad de la enfermedad (Cuadro 6), es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato produjeron diferentes efectos en la severidad de la enfermedad de las plantas del cultivo de tomate. Presentando los mejores efectos el tratamiento T5 (Bocashi 9 onz.) con una media igual a 1.0. grado de severidad (Cuadro 7 y Fig. 3).

Cuadro 6. Análisis de varianza para la variable grado de severidad de la enfermedad.

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

Cuadro 7. Comparación de medias de los tratamientos sobre la variable grado de severidad de la enfermedad.

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

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestra resultados estadísticamente diferentes

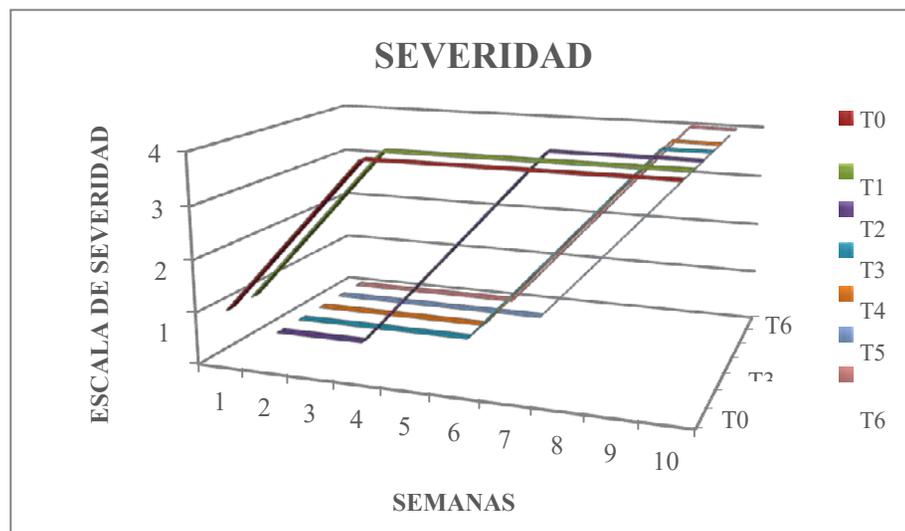


Figura 3. Efecto de los tratamientos sobre la variable severidad de la enfermedad.

De acuerdo a la escala de severidad de Rivas (2013), la presencia de marchitez leve en la planta (grado 1) se comenzó a observar a partir de la primera semana del trasplante en el T0 (testigo) y T1 (Sulfato de calcio), a partir de la 4 semana de trasplante T2 (Ceniza 4 onz.), a partir de la 6 semana después del trasplante T3 (Ceniza 6 onz.), T4 (Bocashi 6 onz.) y T6 (Bactericida) y a partir de la 7 semana después del trasplante T5 (Bocashi 9 onz.). Partiendo de este tiempo los tratamientos presentaron diferentes grados de severidad cada semana hasta llegar a la muerte por marchitez (grado 4) respectivamente.

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

Artega y Avendaño (2004), encontraron que el bocashi produjo un efecto positivo en el control de marchitez bacteriana, esto podría estar relacionado con el incremento de materia orgánica, ya sea este un contenido medio o bajo y estos contenidos pueden influir en la permanencia de *Ralstonia solanacearum* en el suelo. Además a mayor contenido de materia orgánica menor será el desarrollo de marchitez bacteriana, probablemente relacionado con el aumento de las poblaciones microbianas benéficas, ejerciendo algún tipo de control.

Según Hernández y Bustamante (2001), el abono bocashi, mantienen un efecto supresor sobre la marchitez bacteriana, mediante una relación directa (presencia de antagonistas, de sustancias con efecto antibiótico, competencia de microorganismos por espacio y nutrientes, entre otros) o indirecta (mejorando condición nutricional de las plantas); actuando como fuente de bacterias antagonistas al patógeno y confirmando ser una buena opción para reducir el inóculo del patógeno en ausencia del hospedante.

### Enmiendas aplicadas al sustrato y su efecto sobre las variables incidencia y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

#### Incidencia

Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas para la variable porcentaje de incidencia (Cuadro 8), es decir que los diversos tratamientos aplicados al sustrato produjeron diferentes efectos en el porcentaje de incidencia de la enfermedad. Presentando los mejores resultados el tratamiento T2 (Ceniza, 4 onz.) con una media de igual a 12.5% (Cuadro 9 y Fig. 4).

Sin embargo el tratamiento T2 presentó el menor porcentaje de incidencia con una media igual a 12.5% siendo este el nivel más bajo en la proporción de unidades afectadas por la enfermedad.

Cuadro 8: Análisis de varianza para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad en tomate.

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

Cuadro 9. Comparación de medias de los tratamientos para la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad en tomate.

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

Nota: Tratamientos con diferente letra, muestra resultados estadísticamente diferentes

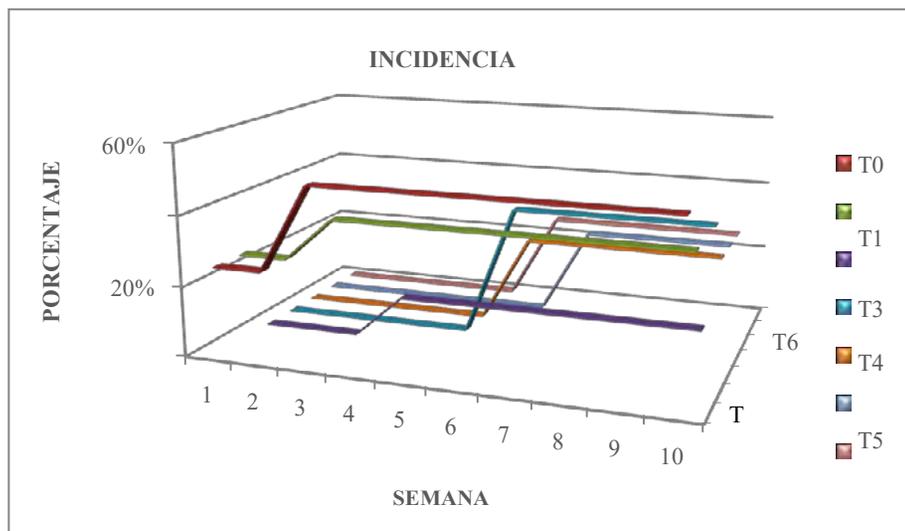


Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre la variable porcentaje de incidencia de la enfermedad.

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

En la figura 5, se observa que en el tratamiento T0 (Testigo) el apareamiento de la marchitez bacteriana es a partir de la primera semana con 0.25 u UE: unidades de enfermedad incrementándose hasta la tercera semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad, seguido del T1 (Sulfato de Calcio 9 gr.) que inicio el apareamiento de la marchitez bacteriana a partir de la primera semana con 0.25 UE: unidades de enfermedad incrementándose hasta la tercera semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad, seguido del T2 (Ceniza 112 gr.) que inicio el apareamiento de la marchitez bacteriana a partir de la tercera semana con 0.125 UE: unidades de enfermedad incrementándose hasta la cuarta semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad, seguido del T3 (Ceniza 170 gr.) inicio el apareamiento de la marchitez bacteriana a partir de la cuarta semana con 0.375 UE: unidades de enfermedad incrementándose hasta la quinta semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad, seguido del T4 (Bocashi 170 gr.) y T6 (Sulfato de gentamicina) los que iniciaron el apareamiento de la

marchitez bacteriana a partir de la cuarta semana con 0.25 UE: unidades de enfermedad incrementándose hasta la quinta semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad y finalmente el T5 (Bocashi 250 gr.) que inicio el apareamiento de la marchitez bacteriana a partir de la quinta semana con 0.375 UE incrementándose hasta la sexta semana en donde la enfermedad logra su punto de estabilidad.

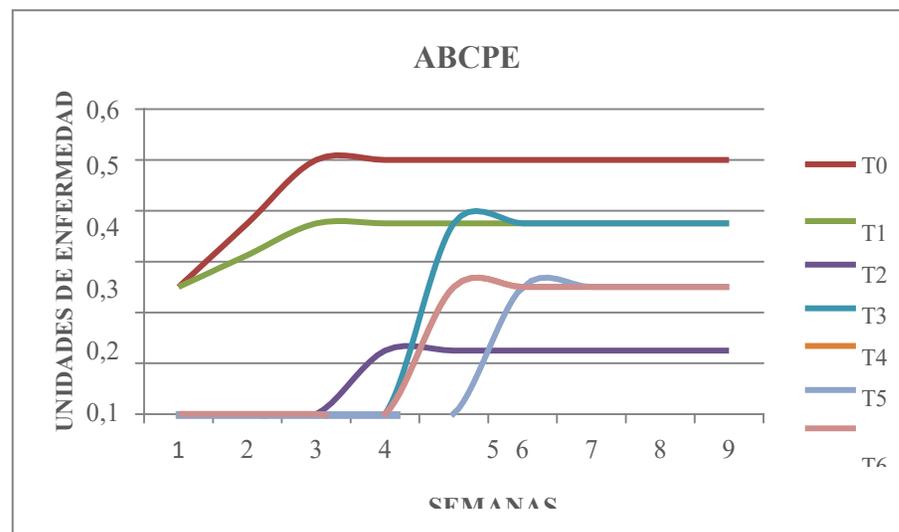


Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre la variable ABCPE.

Sin embargo el tratamiento con el menor promedio de Área Bajo la Curva del Progreso de enfermedad, fue el T2 (Ceniza 112 gr.) con 0.75 unidades de enfermedad, siendo este el nivel más bajo en la tasa de desarrollo de la enfermedad (Cuadro 10).

Cuadro 10. Comparaciones de unidades de enfermedad calculadas por tratamiento para observar el ABCPE.

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

Para las variables porcentaje de incidencia de la enfermedad y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) el tratamiento que presentó los mejores resultados fue el T2 (Ceniza 112 gr.), en la actualidad no existen otras investigaciones en las que se utilice ceniza para prevenir la marchitez bacteriana *R. solanacearum* en tomate, sin embargo esta ha sido utilizada por muchos años por los productores de forma práctica obteniendo muy buenos resultados.

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

### Análisis de pH del sustrato para cada tratamiento

Todos los tratamientos donde se aplicaron enmiendas aumentaron el pH del sustrato, con la excepción del sustrato enmendado con sulfato de calcio, cuyo valor de pH fue similar que el tratamiento testigo. No puede asumirse una relación directa entre el pH y la severidad, incidencia y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en esta investigación. Descripciones de la bacteria en estudio revelan que el pH del suelo juega un papel muy importante con las condiciones de supervivencia del patógeno, definiendo como suelos adecuados para *R. solanacearum* aquellos con pH 6,0 y menos favorables para el patógeno los suelos con pH iguales o mayores a 7,0. Definiendo como límites los valores de pH para sobrevivencia de 4 y para ser inhibida de 8.5

### Resultados económicos

Para el análisis económico y la determinación del tratamiento con la mejor relación beneficio- costo se compararon las tecnologías propuestas con las tecnologías que actualmente utiliza el productor (Testigo); resultando el mejor beneficio y el menor costo, la alternativa propuesta T2 (Ceniza 112 gr.), con un beneficio neto de \$12.67; un beneficio bruto de \$18.52 y un costo de \$6.90, mientras que el testigo un beneficio bruto de \$15.87 y un costo de \$16.92, respectivamente; siendo así la mejor alternativa para la prevención de la enfermedad obteniendo el menor porcentaje de incidencia 12.5%, es decir que de ocho plantas una resulto afectada, lo que redujo su rendimiento únicamente en un 11.8%, en comparación con el testigo que tuvo una incidencia del 25% reduciendo su rendimiento en un 24.66% en comparación con la tecnología utilizada por el productor Agri- Gent® con la que se incurre en más costos (Cuadros 11,12 y Fig. 6).

Cuadro 11. Presupuesto parcial de los tratamientos.

| CONCEPTO                                      | TRATAMIENTOS   |                |                |                |                |                |                |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|   | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> | T <sub>6</sub> |
| Rendimiento medio (lb/tra) <sup>1</sup>       | 84             | 105            | 145            | 105            | 126            | 126            | 126            |
| Rendimiento ajustado (lb/tra) <sub>2</sub>    | 75.6           | 94.5           | 132.3          | 94.5           | 113.4          | 113.4          | 113.4          |
| Beneficios brutos campo (\$/tra) <sup>3</sup> | 10.5           | 13.23          | 18.52          | 13.23          | 15.87          | 15.87          | 15.87          |
| Costo de enmiendas + sustrato                 |                | 1.91           | 1.90           | 1.95           | 1.92           | 1.97           | 1.92           |
| Costo de aplicación                           |                | 5.00           | 5.00           | 5.00           | 5.00           | 5.00           | 15.00          |
| Total de costos que varían (\$/tra)           |                | 6.91           | 6.90           | 6.95           | 6.92           | 6.97           | 16.92          |
| Beneficios Netos                              |                | 7.37           | 12.67          | 7.33           | 10.20          | 10.11          |                |

1 Obtenido por el investigador.

2 Obtenido por el productor ajustado a un 10%.

3 Precio de caja de 50 lb. \$ 5.00.

Cuadro 12. Presupuesto parcial de beneficio neto para el T2 (Ceniza 4 onz.) comparado con el T6 (Testigo relativo: Bactericida).

| Ganancias o ingresos adicionales         | USD \$                         |
|--|--------------------------------|
| Ingresos adicionales                     | 18.52                          |
| Disminución de costos                    | 16.92                          |
| <b>(A) Total de ingresos adicionales</b> | <b>35.44</b>                   |
| <b>Costos adicionales</b>                |                                |
| Costos adicionales                       | 6.90                           |
| Disminución de ingresos                  | 15.87                          |
| <b>(B) Total de costos adicionales</b>   | <b>22.77</b>                   |
| <b>Cambio en el Ingreso Neto (A - B)</b> | <b>(35.44 - 22.77) = 12.67</b> |

La figura 6 muestra que el tratamiento que presenta los mejores beneficios netos es el T2 (Ceniza 170 gr.) seguido del T5 (Bocashi 250 gr.), lo que se les atribuye por ser los tratamientos que presentaron las más bajas pérdidas de plantas por la enfermedad y por lo tanto un mejor rendimiento

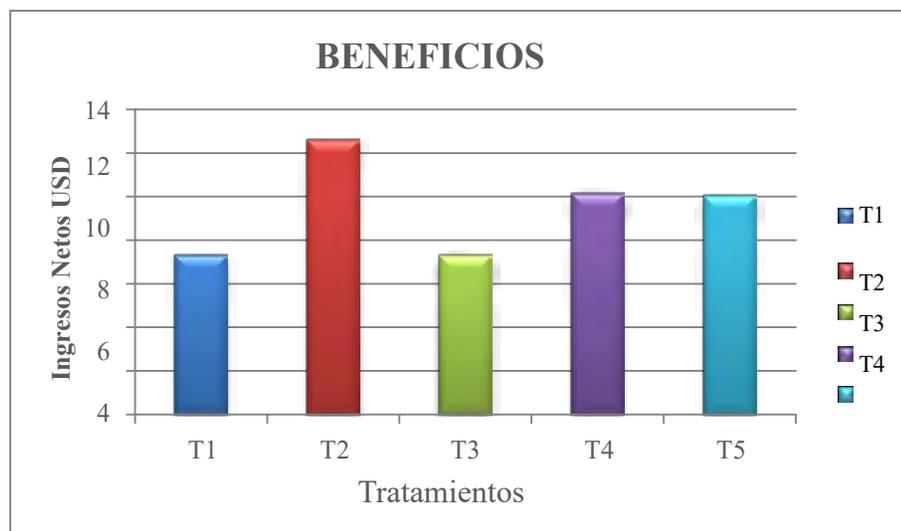


Figura 6. Beneficios netos por tratamiento T0 (Testigo), T1 (Sulfato de calcio), T2 (Ceniza 112 gr.), T3 (Ceniza 170 gr.), T4 (Bocashi 170 gr.), T5 (Bocashi 250 gr.).

## Conclusiones

El tratamiento T2 (ceniza 112 gr.) mostró tendencia a reducir la incidencia y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), lo que indica que puede utilizarse como medio supresivo de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate.

El tratamiento T5 (Bocashi 250 gr.) proporcionó los mejores efectos en cuanto a altura, número de hojas y retardo de la aparición de los síntomas de la enfermedad en las plantas, lo que podría atribuirse al aporte de nutrimentos y a la riqueza de microorganismos que este proporciona al suelo.

El efecto del sulfato de calcio utilizado en este estudio no redujo significativamente la incidencia, la severidad y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

El tratamiento que produce mejores beneficios económicos es el tratamiento T2 (ceniza 112 gr.) comparado con el uso del tratamiento alternativo (Agri-Gent).

## Recomendaciones

Esta investigación revela el potencial de las enmiendas, especialmente de la ceniza en dosis de 4 onz.cubeta<sup>-1</sup>, como una alternativa que puede ser utilizada dentro del contexto del manejo integrado de *Ralstonia solanacearum* E. F. Smith, y también para complementar con el uso de variedades resistentes. Esto debido a que forma un complejo de carbonatos que alcalinizan el medio una de las propiedades del suelo que retarda el desarrollo de la enfermedad.

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

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

## Bibliografía

- Arteaga Chávez, NA; Avendaño Sevillano, DC. 2004. Manejo de marchitez bacteriana del tomate (*Burkholderia solanacearum*), con ocho tratamientos a nivel de invernadero. Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV. UES. 72 p.
- Castro Blandón, A. 2007. Prácticas Alternativas para el Manejo de Plagas y Enfermedades. Honduras. Zamorano; PROMIPAC; COSUDE. p. 12-14.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, MX). 1988. La formulación de recomendaciones de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económico. México D.F. MX. p. 9-10.
- Díaz Blandón, JU; Bustamante, E; Vera Sánchez, G; Schlönvoigt, A. 2003. Enmiendas y microorganismos antagonistas para el manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F Smith en el cultivo de tomate. Turrialba, CR. CATIE. 7 p.
- , 1999. Manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F Smith con enmiendas y microorganismos antagonistas en tomate. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 124 p.

- French, ER; Hebert, TT. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. San José, CR. IICA. p. 38-39 p. 155-157
- Gómez, F. 2001. Evaluación del Bokashi como sustrato para semilleros en la región Atlántica de Costa Rica (en línea), Guácimo, CR. Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda. Consultado 12 mar. 2012. Disponible en <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/pdf/98034.pdf>
- Hernández Garboza L; Bustamante Rojas E. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas (en línea). Costa Rica. Consultado 15 sep. 2012. Disponible en <http://www.orton.catie.ac.cr/repdoc/A2111E/A2111E.PDF>
- Lelliott, RA; Stead, DE. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of plants. Blackwell Scientific Publications Ltd. Great Britain. p. 114- 117, 188-189.
- Oberon, V. 2009. Caracterización de la variabilidad poblacional de *Ralstonia solanacearum* en cultivos de solanáceas del noreste argentino (en línea). Consultado el 29 feb. 2013. Disponible en <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/tesis/bitstream/1/285/1/tesis.pdf>
- Ramírez, O. 1994. El uso de presupuestos parciales en el manejo integrado de plagas (Hoja Técnica). Manejo integrado de plagas. 11: i - iv
- Rodríguez Martínez, DJ. 2007. Determinación de biovares y razas de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith asociados a la marchitez bacteriana, en los cultivos de tomate *Solanum lycopersicon* L. y chile pimiento *Capsicum annuum* L. en el oriente de Guatemala. Tesis. Licda. Sistemas de Producción Agrícola. USAC. p. 5-25
- Schaad, NW. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 2ª ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota, US. p. 60-81.
- Sequeira, L; Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant Disease 67: 1357-1361.
- Shintani, M; Leblanc, H; Tabora, P. 2000. Bokashi (Abono orgánico fermentado). Guácimo, CR. Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda (EARTH). P. 9-12.