

Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas¹

Libia Hernández Garboza²
Elkin Bustamante Rojas³

RESUMEN. Se estudió la marchitez bacterial causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, una de las enfermedades más importantes a nivel mundial. Las enmiendas orgánicas fueron evaluadas por su efecto sobre la severidad de la enfermedad, y la fluctuación poblacional de *R.solanacearum* en el suelo. La broza de café, cachaza y tres tipos de composts se utilizaron como enmiendas orgánicas mezcladas con suelo. En condiciones de casa de mallas, fueron sembradas plantas de tomate en las mezclas de suelo. La severidad de la enfermedad se redujo con el uso de compost. La población de *R.solanacearum* fue reducida en ausencia del hospedante con el uso de broza de café y dos tipos de compost. El mejor efecto en el control de la enfermedad se observó al usar materia orgánica en forma de abonos orgánicos fermentados, en comparación al uso de sustratos como broza de café y cachaza.

Palabras clave: *Ralstonia solanacearum*, Control biológico, Bacterias antagonistas, Abono orgánico, *Bacillus* spp., Tomate.

ABSTRACT. Biological control of bacterial wilt in tomato with organic amendments. Bacterial wilt caused by *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, worldwide one of the most important diseases, was studied. The effects of organic amendments on the severity of the disease and population fluctuation of *R.solanacearum* in the soil were evaluated. Coffee pulp, sugar cane filter cake and three types of compost were utilised as organic amendments mixed with soil. Tomato plants were planted in the mixtures of soil. The severity of the disease decreased with the use of compost. The population of *R.solanacearum*, was reduced in the absence of the host with coffee pulp and two types of compost. The greatest effect on disease control was observed with organic material in the form of fermented organic fertilisers compared to using substrates such as coffee pulp or sugar cane filter cake.

Key word: *Ralstonia solanacearum*, Biological control, Antagonistic bacteria, Organic amendment, *Bacillus* spp., Tomato.

Introducción

La marchitez bacterial causada por *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*, es una de las enfermedades bacterianas más destructivas y de gran importancia económica, ya que afecta muchos cultivos (tomate, papa, tabaco, musáceas, etc.) y es endémica de países de zonas tropicales y subtropicales (Hayward 1991, Trigalet *et al.* 1994).

Las prácticas de manejo propuestas han tenido poco éxito, dado que la biología de la bacteria no está bien definida. El control químico, ha sido una alternativa poco viable para pequeños productores de muchos países. Ha sido difícil obtener cultivares resistentes bajo condiciones de alta temperatura y humedad (Bustamante 1994, CATIE 1990, Grimault *et al.* 1994).

Ante esta situación, el control biológico de la enfermedad puede tener un gran potencial con el uso de razas avirulentas del patógeno (Trigalet *et al.* 1994).

Ante las variantes que presenta el manejo eficaz de la enfermedad y la dificultad de conocer el comportamiento de la bacteria, el potencial que representa el control biológico de este microorganismo constituye una de las alternativas más apropiadas para lograr su control.

Una de las herramientas del control biológico que puede contribuir en el manejo de *R. solanacearum* es el uso de abonos orgánicos, los cuales favorecen el crecimiento y la biodiversidad de microorganismos existentes en la rizosfera de las plantas, ayudando a dismi-

¹ Parte de la tesis de M.Sc del primer autor, CATIE. Escuela de Posgrado, Turrialba, Costa Rica.

² Maracay, Venezuela

³ Consultor. San José, Costa Rica. elkinbustamante@hotmail.com

nir las poblaciones del patógeno en el suelo. Un ejemplo de equilibrio biológico dinámico con una baja incidencia de enfermedades es el agroecosistema de chinampas en México. Estas se construyeron con lodos ricos en nutrimentos del fondo de los lagos, más malezas acuáticas y estiércol de animales (Thurston 1992).

Dada la importancia que presenta la marchitez bacterial en varios cultivos y la necesidad de métodos de control, que incluyan sanidad y rotación del cultivo, selección de materiales libres de plagas, los objetivos principales de este estudio fueron determinar la supresión de la marchitez bacterial en el cultivo de tomate, y medir la supervivencia de las poblaciones de *R. solanacearum* con el uso de enmiendas orgánicas.

Materiales y métodos

Ubicación de los experimentos

Los experimentos se realizaron en los laboratorios e invernaderos de la Unidad de Fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), ubicado en Turrialba, provincia de Cartago a 602 msnm, entre los 9° 55' 21" N y 83° 39' 40" O, con precipitación, temperatura y humedad relativa promedio anual de 2650 mm, 21,7° C y 87%, respectivamente.

Enmiendas orgánicas utilizadas

Los materiales utilizados como enmiendas orgánicas fueron: broza de café, cachaza, bokashi, compost tipo 1, compost tipo 2, y mezclas entre los tres primeros (broza de café + cachaza, broza de café + bokashi, cachaza + bokashi, broza de café + cachaza + bokashi). Estas se mezclaron con suelo desinfectado en una proporción con base en volumen de 1:4.

La broza o pulpa de café corresponde al epicarpio o cubierta roja del fruto de café junto con el mesocarpio o tejido blando, hialino, que rodea al endocarpio. La cachaza es uno de los residuos del proceso de extracción del azúcar de la caña.

El bokashi es un compost preparado con una variante del proceso general, mediante el cual es posible obtener el producto de la descomposición de los materiales orgánicos en un período de dos semanas. Los composts tenían una composición similar pero el no. 1 tenía además un sedimento o lodo orgánico del fondo de un lago artificial del CATIE y gallinaza. El número 2 tenía estiércol de vacunos en vez de gallinaza. Los

composts fueron suministrados por el Proyecto de Frutas y Hortalizas Tropicales CATIE-USDA.

Suelo y análisis físico-químico

El suelo utilizado fue obtenido del área de colecciones del CATIE. Este se desinfectó con dazomet (40 g/m²), dejando actuar el producto durante 17 días. Cinco días después fue mezclado con cada una de las enmiendas orgánicas en las cuales se sembraron las plantas. Esta mezcla se analizó en el Laboratorio de Análisis de Fertilidad de Suelos, Tejido Vegetal y Aguas del CATIE. Se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, pH, materia orgánica (MO), textura (text) y capacidad de intercambio catiónico (CIC) presentes en los mismos.

Material vegetal evaluado y manejo del cultivo

Se utilizó la variedad de tomate Hayslip, por la susceptibilidad a *R. solanacearum*, y por su uso común como tomate de mesa en Costa Rica y en América Central. Esta variedad posee características deseables como hábito de crecimiento determinado, tamaño mediano y resistente a enfermedades producidas por *Verticillium*, *Fusarium* (razas 1 y 2), *Alternaria* y *Stemphyllium* (CATIE 1990).

En la mezcla de suelo con la materia orgánica preparada dos semanas antes y colocada en macetas de polietileno Polyplast no. 1000 de 5 kg de capacidad, se sembraron tres semillas por punto. Para la evaluación de las variables se seleccionaron dos plántulas por maceta.

Las plantas se fertilizaron 15 días después de la emergencia (dde) con Bayfolan. El suelo se mantuvo a capacidad de campo, lo cual requirió hacer el riego cada dos o tres días.

Preparación del inóculo e inoculación de

R. solanacearum

El inóculo de *R. solanacearum* se obtuvo de plantas de tomate con síntomas de marchitez bacterial en condiciones de campo. Las colonias típicas de *R. solanacearum* seleccionadas (Kelman 1954) fueron purificadas y mantenidas en viales con agar nutritivo (AN) inclinado y aceite mineral estéril. También se dejaron las cepas seleccionadas en agua destilada estéril a 21°C. Estas cepas se reprodujeron en TZC a 28°C, 48 h antes de hacer la inoculación en las plantas.

Supervivencia de *R. solanacearum*

La supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo fue determinada por su comportamiento poblacional en el tiempo, por efecto de la materia orgánica mezcladas al suelo.

Para determinar su presencia se prepararon macetas con mezclas de enmiendas orgánicas y suelo, igual a las utilizadas en la primera parte del experimento. El suelo de cada maceta fue inoculado con 25 ml de una suspensión de 10^8 ufc/ml (ufc=unidades formadoras de colonias) de *R. solanacearum*. Durante un período de 3 meses, se evaluó a intervalos de 30 días, la supervivencia del patógeno presente en la mezcla de suelo mediante el conteo de ufc/g de suelo.

Se hicieron aislamientos tomando una muestra de 10 g de suelo en 90 ml de agua destilada estéril, con diluciones hasta 10^{-3} y se cultivaron en medio TZC a 30°C durante 48 h. La virulencia de las cepas aisladas se verificó por medio de la inoculación en plantas de tomate sanas. La suspensión de *R. solanacearum* inoculada al suelo se tomó como la población del patógeno en el tiempo cero, y esta correspondió a 5×10^5 ufc/g de suelo en cada maceta.

Procedimiento experimental y tratamientos

Las plantas de 45 días de sembradas (dds) o 40 días después de la emergencia (dde) se inocularon con 25 ml de una suspensión (10^8 ufc/ml), preparada con la mezcla de cepas de *R. solanacearum* provenientes de las localidades de Guayabo, Turrialba y Alajuela, Alajuela, Costa Rica. Se utilizó el método de absorción por el hospedante con corte de raíz (French y Hebert 1982, Grimault y Prior 1993, Grimault *et al.* 1994).

Los tratamientos evaluados fueron las diferentes mezclas de las enmiendas orgánicas indicadas, con suelo estéril, más un testigo absoluto, que consistió de suelo sin enmienda. Estos se identificaron de la siguiente forma:

- SE:** suelo estéril (testigo);
- SEBr:** suelo estéril + broza de café;
- SECh:** suelo estéril + cachaza;
- SEBk:** suelo estéril + bokashi;
- SEC1:** suelo estéril + compost 1;
- SEC2:** suelo estéril + compost 2;
- SEBrCh:** suelo estéril + broza de café + cachaza;
- SEBrBk:** suelo estéril + broza de café + bokashi;
- SEChBk:** suelo estéril + cachaza + bokashi y
- SEBrChBk:** suelo estéril + broza de café + cachaza + bokashi.

Diseño experimental, variables evaluadas y análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado (DCA), con diez tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por cada una de las macetas, y la unidad de muestreo fue cada una de las plantas.

En el experimento de supervivencia, las cajas de Petri con medio de cultivo y con los aislamientos a nivel de laboratorio se les asignó un diseño de parcelas divididas en el tiempo, con diez tratamientos y tres tiempos de evaluación. La unidad experimental correspondió a cada una de las macetas de la cual se obtuvo la muestra de suelo. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y se determinó el efecto de los tratamientos, de los tiempos de evaluación y la interacción de dichas variables.

La altura de la planta se midió en centímetros desde la base hasta el ápice principal del tallo, mientras que el diámetro se obtuvo en milímetros con ayuda de un vernier, a 15 cm por encima del cuello de las plantas. Estas evaluaciones se realizaron semanalmente, 15 días después de la siembra y hasta el momento que las plantas alcanzaron los 80 días de edad.

Una vez inoculadas las plantas de cada tratamiento, se mantuvieron bajo observación hasta la aparición de síntomas de marchitez bacterial. A partir de la primera manifestación de enfermedad, las evaluaciones de severidad se efectuaron diariamente durante 40 días consecutivos, utilizando la escala de Kempe y Sequeira (1983), donde los grados de severidad de la enfermedad fueron:

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

También se determinó el peso seco y el contenido de humedad de la parte aérea de la planta, además del análisis de tejido foliar en cada tratamiento al final de la prueba, transcurrido un tiempo de 80 días después de la siembra.

Se determinó la supervivencia de *R. solanacearum* en cada tratamiento a través del método de dilución y siembra en cajas de Petri con medio TZC. La variable evaluada fue el número de ufc/g suelo para cada uno de los tratamientos.

Los resultados fueron procesados asumiendo que la severidad era un continuo, se calculó el área bajo la curva de progreso de cada una de las variables (ABCP) para cada uno de los tratamientos durante el período de estudio. Se consideró lo descrito por Shaner y Finney (1977), para las variables de acuerdo con la ecuación:

$$ABCPE = \text{SUM} [(Y_{t_{i+1}} + Y_{t_i}) / 2] [(t_{i+1} - t_i)]$$

donde: SUM = sumatoria de n observaciones
 = severidad de la enfermedad en la iésima observación
 = tiempo (días) después de la inoculación en la iésima observación

El ABCP de cada variable es un método de integración trapezoidal que ayuda a determinar la cantidad de enfermedad acumulada durante el tiempo del estudio, permitiendo mejor información de la respuesta de los tratamientos estudiados.

Las variables se analizaron con la prueba de Bonferroni, la cual permite una comparación para establecer criterios de selección entre los tratamientos.

Se seleccionaron para las pruebas posteriores las mejores enmiendas orgánicas por su efecto supresivo (menor severidad) a la marchitez bacteriana y buen desarrollo de las plantas.

Resultados y discusión

Contenido de nutrientes en la mezcla de suelo

El análisis de suelo indicó que todas las enmiendas orgánicas le aportaron nutrientes al suelo, con excepción del Cu con un valor menor en todos los tratamientos con enmienda orgánica y el Mn en algunos casos disminuyó sus valores con relación al suelo testigo sin enmendar (Cuadro 1).

El tratamiento SEC 1 fue el que mayor aporte presentó en MO, N, Ca y Mg. Esta característica puede deberse a la presencia de gallinaza, la cual es uno de los componentes presentes en el compost 1, dado que ésta presenta altos contenidos de N y Ca (Guerro 1993).

El compost tipo bokashi seguido por el sustrato cachaza le aportaron el menor contenido de N al suelo. El incremento en el contenido de P del suelo con los tratamientos SEBk, SEC1 y SEC2 fue considerable, llegando a superar el contenido del testigo en más de 10 veces. Los aportes de Na y Zn fueron superiores cuando se aplicó Bokashi y compost 1.

El contenido de Ca, Mg, K y Zn se incrementó en los tratamientos dentro de los ámbitos óptimos de nutrientes en el suelo (Bertsh 1995), con valores más altos para el Mg, K, Zn en los tratamientos SEC1 y SEC2.

También la relación de bases se mantuvo dentro del ámbito recomendado en suelos, con la excepción

Cuadro 1. Resultados del análisis físico-químico de los sustratos preparados con la mezcla de suelo estéril y las enmiendas orgánicas. Turrialba, Costa Rica.

Mezclas ¹	pH	M.O. %	N %	P mg/kg	Ca	Mg	K	Na	Cu	Zn	Mn	Text.
					Cmol(+)/kg						mg/kg	
SE	5,8	5,72	0,26	15,7	10,3	2,9	0,6	0,2	24,8	7,7	4,3	A
SEBr	5,4	11,16	0,52	21,2	16,4	3,6	0,6	0,2	21,1	10,6	3,8	FA
SECh	7,2	11,20	0,45	21,8	23,4	3,6	1,0	0,2	17,5	9,3	6,0	FA
SEBk	7,5	7,64	0,38	121,8	22,5	4,6	2,6	0,6	16,8	10,6	4,6	FA
SEC1	6,2	16,40	0,76	233,4	27,5	9,4	1,6	0,5	14,5	25,1	3,3	FA
SEC2	6,2	10,49	0,49	375,5	21,8	8,1	2,1	0,2	19,5	28,1	3,3	FA
SEBrBk	6,7	9,57	0,40	81,2	23,7	4,7	1,8	0,4	17,2	10,6	3,1	FA
SEBrCh	6,5	9,04	0,39	18,5	21,8	3,6	0,8	0,2	20,1	9,3	3,0	FA
SEChBk	7,3	9,19	0,40	68,3	23,3	4,1	2,0	0,4	17,8	10,6	4,4	FA
SEBrChBk	6,7	8,61	0,40	60,2	20,9	3,9	1,4	0,3	18,5	10,2	3,6	FA

¹SE: suelo estéril (testigo); SEBr: suelo estéril + broza; SECh: suelo estéril + cachaza; SEBk: suelo estéril + bokashi; SEC1: suelo estéril + compost 1; SEC2: suelo estéril + compost 2; SEBrBk: suelo estéril + broza + bokashi; SEBrCh: suelo estéril + broza + cachaza; SEBrChBk: suelo estéril + broza + cachaza + bokashi; A: arcillosos; FA: franco-arcilloso.

Cuadro 2. Variación de la relación de bases del análisis de suelo en los tratamientos con aplicación de abonos orgánicos, Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca+Mg/K
Suelo estéril (SE)	4,5	17,1	4,8	22,0
SE+broza	4,5	27,3	6,0	20,0
SE + cachaza	6,5	23,4	3,6	27,0
SE+bokashi	4,8	8,6	1,7	10,4
SE + compost 1	2,9	17,1	5,8	23,0
SE + compost 2	2,6	10,3	3,8	14,2
SE+Broza+Bokashi	5,0	13,1	2,6	15,7
SE + Broza + Cachaza	6,0	27,5	4,5	31,7
SE + Cachaza + Bokashi	5,6	11,6	2,0	13,7
SE+Broza+Cachaza+Bokashi	5,3	14,9	2,7	17,7
Recomendado	2,0-5,0	5,0-25,0	2,5-15,0	10,0-40,0

Fuente: Bertsh (1995).

Testigo: suelo estéril.

de SEBr y SEBrCh para la relación Ca/K (Cuadro 2). El tratamiento SEBk fue el que presentó los menores valores de las relaciones Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K. Los tratamientos con compost tipo 1 y 2 presentaron la relación menor en cuanto a Ca/Mg.

Una de las consideraciones atribuidas a los abonos orgánicos además del enriquecimiento de la biótica microbiana es el aporte de nutrimentos al suelo (Hoitink *et al.* 1997). En este experimento se confirma una vez más esta afirmación, presentándose mayor contenido de nutrimentos en las mezclas de suelo con abonos orgánicos fermentados, además de un pH y un contenido de materia orgánica mayor.

Efecto de enmiendas orgánicas sobre las variables de crecimiento

La variable altura de planta no presentó diferencias estadísticas ($P > 0,05$) entre tratamientos. El mayor valor promedio de área bajo la curva de progreso de altura (ABCPA) se obtuvo con SEC2 y el menor se observó en el tratamiento con el sustrato SEBrBkCh. Durante el período de evaluación, los tratamientos SEBk, SEC1, SEC2 y SEBrBk se comportaron en promedio mejor que el testigo.

Al comparar los tratamientos, la mejor respuesta para la variable diámetro se obtuvo con los tratamientos que incluyeron composts (tipo bokashi y tipo 2) en relación al testigo. Esta diferencia fue estadísticamente significativa al 5% (Cuadro 3 y Figura 1). Los sustratos broza y cachaza fueron estadísticamente diferentes entre sí; el sustrato broza presentó un mejor comportamiento que la cachaza, pero fue igual al testigo. Los tratamientos que incluyeron compost tipo 1

y 2 no fueron estadísticamente diferentes entre ellos.

Comparando los tratamientos con compost (bokashi, compost 1 y 2) con los sustratos aplicados solos (broza y cachaza) se observó diferencias entre aquellos y la cachaza, mientras la broza solo presentó diferencias con el bokashi. Los tratamientos que presentaron bokashi solo o en combinación no presentaron diferencias significativas entre sí. El mayor diámetro correspondió al tratamiento con la mezcla SEBrBkCh y el menor al sustrato SECh.

Los valores promedio de peso seco fueron mayores en comparación al testigo en los tratamientos que presentaron composts 1 y 2, bokashi solo y en combinación con broza (Cuadro 4 y Fig. 2). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas al 5%. Al igual que para la variable diámetro, la broza y la cachaza fueron diferentes estadísticamente para la variable

Cuadro 3. Valores promedio de Área bajo la curva de progreso de diámetro (ABCPD) de plantas de tomate expuestas a nueve tratamientos a base de sustratos orgánicos bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	ABCPD
Suelo estéril (SE)	443,1 de
SE + broza	470,1 cd
SE + cachaza	401,7 e
SE + bokashi	525,9 a
SE + compost 1	492,4 abcd
SE + compost 2	508,7 abc
SE + Broza + Bokashi	500,7 abc
SE + Broza + Cachaza	472,3 bcd
SE + Cachaza + Bokashi	520,8 ab
SE + Broza + Cachaza + Bokashi	529,9 a

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ($P < 0,05$).

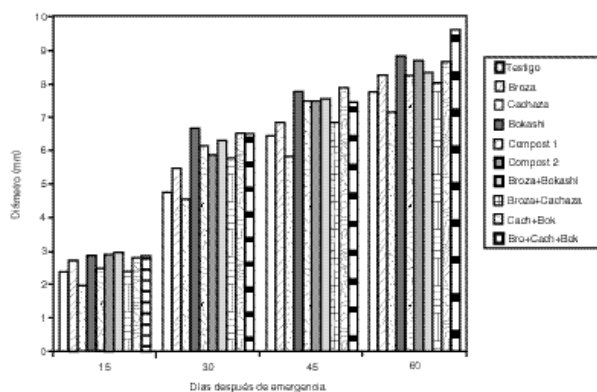


Figura 1. Diámetro de tallo de plantas de tomate en respuesta al uso de enmiendas orgánicas, 15, 30, 45 y 60 días después de la emergencia del cultivo bajo condiciones de casa de mallas, Turrialba, Costa Rica.

peso seco, siendo la broza superior a la cachaza, pero igual al testigo.

Los mayores valores promedio de peso seco lo presentaron los tratamientos con abonos fermentados (bokashi y compost) y el menor al tratamiento con cachaza. Al comparar los primeros, SEC1 y SEC2 no tuvieron diferencias entre sí, pero si hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos SEC1 y el SEBk.

Al comparar los sustratos solos (broza y cachaza) con los abonos fermentados se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre estos dos grupos de tratamientos.

Cuadro 4. Valores promedio de peso seco de la parte aérea de las plantas de tomate de acuerdo a su crecimiento en diferentes tratamientos con sustratos orgánicos bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Peso seco (g)
Suelo estéril (SE)	44,1 efg
SE + broza	68,8 cde
SE + cachaza	26,2 g
SE + bokashi	103,8 bc
SE + compost 1	151,3 a
SE + compost 2	135,5 ab
SE + Broza + Bokashi	89,7 cd
SE + Broza + Cachaza	30,7 fg
SE + Cachaza + Bokashi	64,2 def
SE + Broza + Cachaza + Bokashi	80,2 cde

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ($P < 0,05$).

Los valores más bajos en contenido de humedad lo presentaron los tratamientos con abono orgánico fermentado (Fig. 3). Dentro de este grupo, el contenido de humedad del compost 2 fue estadísticamente diferentes al testigo (Cuadro 5). Los sustratos broza y

cachaza no mostraron diferencias estadísticas entre sí. No se observó ninguna diferencia estadística en los tratamientos que presentaron bokashi, ni en los que llevaron broza en su composición.

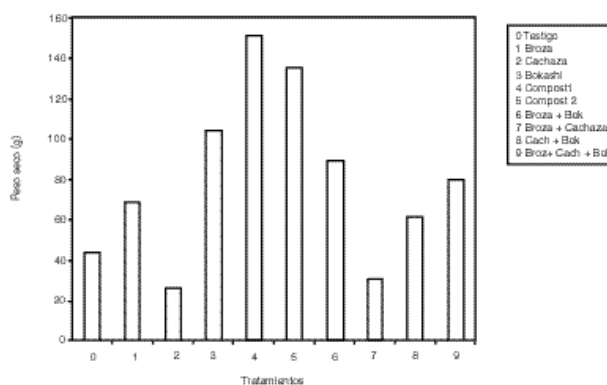


Figura 2. Peso seco de la parte aérea de plantas de tomate en respuesta a nueve tratamientos con base en enmiendas orgánicas inoculadas con *R. solanacearum* y mantenidas en condiciones de casa de mallas, Turrialba, Costa Rica.

Cuadro 5. Valores promedio del contenido de humedad en plantas de tomate sometidas al inóculo de *R. solanacearum* en tratamientos con base en sustratos orgánicos, en casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Contenido de humedad
Suelo estéril (SE)	75,2 abc
SE + broza	76,0 abc
SE + cachaza	79,9 a
SE + bokashi	71,5 cd
SE + compost 1	72,7 bcd
SE + compost 2	69,9 d
SE + Broza + Bokashi	76,5 abc
SE + Broza + Cachaza	77,6 ab
SE + Cachaza + Bokashi	76,5 abc
SE+Broza+Cachaza+Bokashi	74,2 bcd

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ($P < 0,05$).

Los mayores valores de diámetro y peso seco se encontraron cuando se aplicaron al suelo los abonos fermentados (bokashi y composts). Estas materias orgánicas presentaron buenos contenidos nutricionales en comparación a los demás tratamientos, especialmente en los elementos N, P, K, Ca y Mg a excepción del N en el tratamiento con bokashi.

En condiciones de suelos centroamericanos se considera que el N y el P son los elementos con los cuales se obtiene una mayor respuesta de crecimiento en el cultivo de tomate (CATIE 1990). Sin embargo,

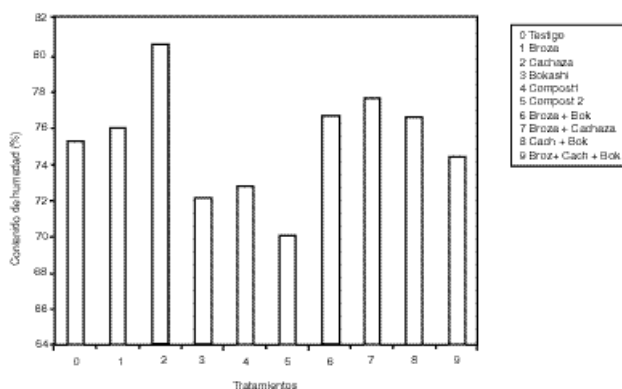


Figura 3. Contenido de humedad de la parte aérea de plantas de tomate en respuesta a nueve tratamientos de sustratos orgánicos con inoculación de *R. solanacearum* y mantenidas bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

en este ensayo el efecto en la respuesta del diámetro y el peso seco puede estar más relacionado con un balance general del contenido de nutrimentos que con el incremento de algún elemento en particular

Contenido de nutrimentos en el tejido foliar

El análisis foliar se hizo para comprobar el aprovechamiento de los nutrimentos presentes en el suelo por parte de las plantas en presencia del patógeno.

La presencia de *R. solanacearum* en la planta interfiere en la absorción y traslocación de los nutrimentos suplidos y absorbidos por la planta, y en la producción de materia seca (Cavalcante *et al.* 1996). El patógeno puede causar desbalances nutricionales en las plantas por utilización de los nutrimentos para su propio desarrollo o por la inducción de síntesis de otras sustancias por parte de las plantas.

El contenido de nutrimentos en el follaje de las plantas inoculadas con *R. solanacearum* fue igual o su-

perior al testigo en los tratamientos con enmiendas orgánicas, para los elementos P, Ca, Mg y Zn (Cuadro 6). Los tratamientos que presentaron compost tipo 1 y 2 mostraron los mayores contenidos de estos elementos, además de N.

Muchos de los elementos minerales requeridos en el crecimiento de las plantas se han reportado también como factores responsables del incremento o reducción de la severidad de algunas enfermedades (Huber 1981, Palti 1981). Por ejemplo, la presencia de concentraciones adecuadas de K y Ca ha tenido éxito en la disminución de la marchitez bacterial en el cultivo del tomate. El K puede ayudar en la reducción de la marchitez bacterial, dado que este elemento interviene entre otras funciones, en la síntesis de proteínas y en la traslocación y movimiento de agua en las plantas.

En este experimento, los tratamientos con más altos contenidos de K y Ca, presentaron los menores valores de severidad de la marchitez bacterial. Es posible que la presencia de estos elementos en concentraciones adecuadas haya contribuido en la obtención de esta respuesta.

El contenido de Ca en el testigo fue menor al 1%, y la deficiencia de este elemento en las plantas es considerada como un factor de predisposición a la marchitez bacterial (Tanaka y Noda 1973). El Ca estimula la síntesis de proteínas en las plantas y participa en la composición de las paredes celulares del hospedante, dando una mayor resistencia al ataque de patógenos (Palti 1981).

El contenido de N, K, Cu y Mn en algunos tratamientos fue más bajo que en el testigo (suelo sin enmendar). Los tratamientos que incluyeron al compost tipo bokashi presentaron los menores valores de N, Cu y Mn. Para el elemento K, los valores más bajos co-

Cuadro 6. Contenido de nutrimentos en el tejido foliar de las plantas de tomate sometidas al inóculo de *R. solanacearum* tratadas con enmiendas orgánicas. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Ca	Mg	K	P	N	Cu	Mn	Zn
				%				mg/kg
Suelo estéril (SE)	0,9	0,3	2,0	0,2	1,6	12,4	127,5	28,6
SE+broza	2,1	0,7	1,4	0,2	1,9	16,5	138,6	38,8
SE + cachaza	2,1	0,5	2,8	0,2	1,8	14,5	100,2	40,1
SE + bokashi	2,1	0,4	2,9	0,3	1,4	10,3	97,8	37,0
SE + compost 1	2,8	1,0	2,4	0,5	2,0	12,4	127,5	58,1
SE + compost 2	2,6	0,8	2,7	0,4	2,0	12,4	69,3	50,6
SB+Broza+Bokashi	1,6	0,4	1,6	0,2	2,0	10,3	78,0	28,6
SE+Broza+Cachaza	1,6	0,4	2,6	0,3	1,4	14,5	73,0	38,3
SE+Cachaza+Bok	2,1	0,4	2,9	0,3	1,3	10,3	53,2	32,6
SE+Broza+Cach+Bok	1,5	0,3	1,9	0,3	1,5	10,3	81,7	34,0

respondieron a los tratamientos que incluyeron broza de café.

Los elementos como N, K, Ca, Mg y Zn se encontraron en mayor proporción tanto en el suelo como en el follaje de las plantas de los tratamientos que incluyeron abonos fermentados.

Efecto de enmiendas orgánicas sobre la severidad de la marchitez bacterial.

Las plantas desarrolladas en SEBk, SEC1, SEC2 y SEBrBk tuvieron diferencias altamente significativas ($P < 0,05$) al testigo (Cuadro 7). Estos tratamientos presentaron el menor grado de severidad de la marchitez bacterial (Fig. 4). Los tratamientos con sustrato de cachaza y de cachaza en mezcla con broza no mostraron diferencias con el testigo y el grado de severidad de la enfermedad fue el más alto. Mientras, los abonos fermentados no fueron diferentes estadísticamente entre ellos, los sustratos orgánicos broza y cachaza si mostraron diferencias entre si.

Cuadro 7. Valores del área bajo la curva de progreso de la marchitez bacterial en plantas de tomate en invernadero inoculadas con *R. solanacearum* en respuesta al uso de enmiendas orgánicas en el suelo. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Severidad (ABCPE)
Suelo estéril (SE)	94,8 a
SE + broza	46,9b
SE + cachaza	89,8 a
SE + bokashi	26,8 bc
SE + compost 1	4,2 c
SE + compost 2	23,1 bc
SE + Broza + Bokashi	22,8 bc
SE + Broza + Cachaza	110,8 a
SE + Cachaza + Bokashi	42,9 b
SE+Broza+Cachaza+Bokashi	36,1 b

Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí por la prueba de Bonferroni ($P < 0,05$).

La marchitez bacterial producida por *R. solanacearum* fue reducida de forma considerable cuando se añadió al suelo abono fermentado. Esta respuesta en el desarrollo de la enfermedad, además de estar relacionada con los aportes de nutrientes hechos por las enmiendas orgánicas puede ser influido por el factor biológico, dado por la incorporación de microorganismos controladores biológicos por parte de los composts tanto antagonistas como inductores de resistencia o el balance que existente entre éstos y la nutrición del suelo lo cual favorecería la microbiostasis (Hoitink y Boehm 2001).

Los contenidos de N, P, K, Ca y Mg fueron mayo-

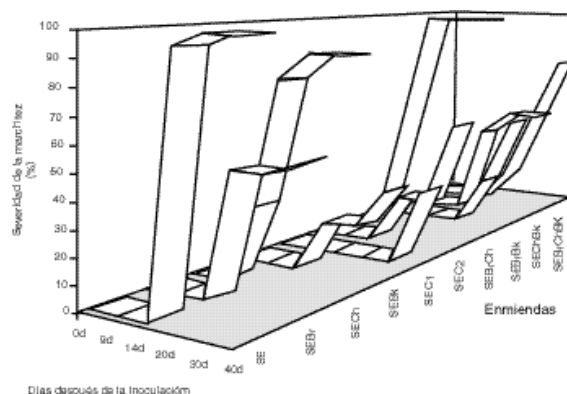


Figura 4. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacterial en plantas de tomate tratadas con enmiendas orgánicas al suelo, 9, 14, 20, 30 y 40 días después de la inoculación con *R. solanacearum*. Turrialba, Costa Rica.

res cuando se incorporó composts tipo 1 y 2 al suelo. Esta misma tendencia fue observada en los contenidos de estos elementos en el tejido foliar de las plantas inoculadas con *R. solanacearum*.

El efecto principal del nitrógeno se reflejó en el vigor y en la tasa de crecimiento de las plantas. Los mayores contenidos de N lo presentaron los tratamientos con composts tipo 1 y 2. En muchos casos, las plantas que se desarrollan con altos niveles de N toleran mejor el ataque de ciertas plagas (Palti 1981).

El P es un elemento esencial en muchas funciones del metabolismo de las plantas, pudiendo afectar su crecimiento, a través de la participación de este elemento en la síntesis de proteínas. Cavalcante *et al.* (1996) evaluaron la reacción de dos cultivares de tomate, uno resistente y otro susceptible a la marchitez bacterial, con diferentes concentraciones de nutrientes en soluciones nutritivas. Estos autores determinaron que al disminuir los niveles de P en las plantas del cultivar resistente, se redujo también el nivel de resistencia a la marchitez bacterial.

La alta concentración de K favorece la turgencia de las células, proceso que limita la penetración de patógenos a los tejidos de las plantas. Las plantas crecidas en el tratamiento con bokashi presentaron los niveles más altos de este elemento en el suelo y en los tejidos. El K es un elemento presente en los abonos orgánicos y repercute sobre la disponibilidad en el suelo por ser altamente concentrado en los tejidos (Bertsch 1995).

Los tratamientos con abonos orgánicos fermentados presentaron altos contenidos de Ca y Mg en el tejido de las plantas. El efecto del Ca sobre la severidad de la marchitez bacterial ya es conocido. Tanto cultiva-

res de tomate susceptibles como resistentes a la marchitez bacteriana han presentado mayor severidad a la enfermedad cuando crecieron bajo condiciones de deficiencia de Ca y Mg (Cavalcante *et al.* 1996).

Michel *et al.* (1997), estudiando la interacción entre *R. solanacearum*, cultivos intercalados y la aplicación de enmiendas al suelo encontraron que al añadir CaO y MgO se afectó la supervivencia de *R. solanacearum*, y al combinar estos compuestos con urea, se observó un mejor efecto.

Todos los tratamientos donde se aplicaron enmiendas orgánicas aumentaron el pH del suelo, con la excepción del sustrato broza de café, cuyo valor de pH fue menor que el tratamiento testigo. No se presentó una relación directa entre el pH y la severidad de la enfermedad en este experimento. Aunque Michel *et al.* (1997) asociaron el pH del suelo 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.

Las enmiendas orgánicas incorporadas al suelo, frecuentemente influyen sobre las enfermedades mediante las interacciones nutricionales, ya sea supliendo nutrientes de forma directa o aumentando su disponibilidad a través de cambios en la actividad microbiana del suelo (Thurston 1992, Huber y Schneider 1989). Los suelos con contenidos adecuados de nutrientes presentan comunidades de microorganismos abundantes que participan en el reciclaje de los nutrientes que son esenciales para las plantas (INPOFOS 1997).

Cuando se aplican abonos orgánicos al suelo, es difícil separar los efectos de su aplicación sobre la textura, la reacción del suelo o sobre la microbiota existente en el mismo. La información conocida sobre el efecto de elementos en la nutrición de las plantas y el desarrollo de enfermedades se relaciona con investigaciones aplicando fertilizantes minerales, mientras que poco se conoce sobre los aportes de nutrientes por vía orgánica (Palti 1981).

Al relacionar las variables peso seco, diámetro de las plantas y contenido de humedad con el grado de severidad de la marchitez bacteriana se observó una correlación negativa altamente significativa ($P < 0,01$) entre la severidad y las variables peso seco y diámetro (Cuadro 8). Esto indica que mayor diámetro del tallo y mayor biomasa de las plantas menor severidad de la marchitez.

Se detectó una correlación positiva entre la severidad y el contenido de humedad de las plantas ($P < 0,01$). Las plantas con menor contenido de humedad presentaron el menor grado de severidad de la enfermedad.

Jiménez (1996) estudió la relación entre variables de crecimiento del cultivo de tomate y la severidad del mosaico amarillo, y encontró relación negativa entre el diámetro y la producción de biomasa (peso fresco y peso seco) con la severidad de la enfermedad.

Cuadro 8. Correlación entre la severidad de la marchitez bacteriana y variables de crecimiento de plantas de tomate desarrolladas en suelo con aplicación de enmiendas orgánicas, bajo condiciones de casa de mallas. Turrialba, Costa Rica.

Correlación	Coefficiente r	Significancia*
Severidad-Peso seco	- 0,8486	0,0001
Severidad-Diámetro	- 0,5698	0,0001
Severidad-Cont. Hum	0,3701	0,0096

* altamente significativo ($P < 0,01$) bajo la prueba de correlación de Pearson.

Supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo con el uso de abonos orgánicos

Como tendencia general, la densidad poblacional de *R. solanacearum* (ufc/g suelo) fue menor en los tratamientos con aplicación de enmienda orgánica en comparación al testigo, en cada uno de los períodos de evaluación. Se detectaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos y entre los diferentes tiempos de evaluación. También la interacción entre tratamientos por tiempo mostró significancia estadística. Esto indica que dentro de cada tratamiento, las poblaciones determinadas fueron diferentes a través del tiempo.

Los tratamientos que mostraron una disminución progresiva del patógeno en el tiempo fueron broza, compost tipo bokashi y tipo 1 (Cuadro 9). Los menores niveles poblacionales de *R. solanacearum* a los 90 días lo presentaron el compost bokashi y la broza de café. El bokashi presentó una población de 9%, mientras que en la broza fue del 10%, en comparación al testigo en ambos casos.

La cachaza presentó un efecto positivo en la reducción de la población de *R. solanacearum* a los 30 días; sin embargo, a los 60 y 90 días la población bacteriana se incrementó en este tratamiento indicando la importancia de la fuente de materia orgánica a seleccionar.

Aunque todas las enmiendas mostraron densidades del patógeno menores que el testigo para cada pe-

Cuadro 9. Población de *R. solanacearum* en suelo tratado con enmiendas orgánicas, a los 30, 60 y 90 días después de la inoculación con $5,0 \times 10^5$ ufc/g de suelo. Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Promedio de la población de <i>R. solanacearum</i>					
	30 días		60 días		90 días	
	ufc/g	Porcentaje	ufc/g	Porcentaje	ufc/g	Porcentaje
Testigo	$2,4 \times 10^5$	100	$5,0 \times 10^4$	100	$8,1 \times 10^4$	100
SEBr	$1,7 \times 10^5$	71	$1,9 \times 10^4$	38	$8,1 \times 10^3$	10
SECh	$2,2 \times 10^4$	9	$2,3 \times 10^4$	48	$2,8 \times 10^4$	35
SEBk	$3,0 \times 10^4$	13	$1,8 \times 10^4$	36	$6,9 \times 10^3$	9
SEC1	$5,6 \times 10^4$	23	$1,5 \times 10^4$	30	$1,2 \times 10^4$	15
SEC2	$1,9 \times 10^4$	8	$5,8 \times 10^3$	12	$1,1 \times 10^4$	14
SEBrBk	$5,0 \times 10^4$	21	$1,4 \times 10^4$	28	$2,1 \times 10^4$	26
SEBrCh	$2,2 \times 10^4$	9	$2,2 \times 10^4$	44	$2,3 \times 10^4$	28
SEChBk	$2,8 \times 10^4$	12	$1,3 \times 10^4$	26	$1,6 \times 10^4$	20
SEBrChBk	$5,3 \times 10^4$	22	$1,4 \times 10^4$	28	$2,5 \times 10^4$	31

Valores altamente significativos al 5%.

riodo de tiempo, solo los tratamientos que incluyeron broza,composts tipo bokashi y tipo 1 presentaron una disminución progresiva de la densidad poblacional de *R. solanacearum* a través del tiempo. El comportamiento de la broza en este experimento puede estar relacionado con la presencia de microorganismos antagonistas, los cuales estarían ejerciendo su efecto en ausencia del hospedante susceptible, a diferencia de lo ocurrido en el primer experimento, donde posiblemente la interacción de los exudados radicales con la broza en la rizosfera limitaron la acción de estos microorganismos o de sus metabolitos (antibióticos, enzimas, etc.).

Los compost tipo bokashi y tipo 1, mantuvieron un comportamiento consistente en los diferentes ensayos: efecto supresivo sobre la marchitez bacterial, por vía directa (presencia de antagonistas, de sustancias con efecto antibiótico, competencia de microorganismos por espacio y nutrientes, etc.) o indirecta (mejorando condición nutricional de las plantas); actuando como fuente de bacterias antagonistas al patógeno y ahora confirmados como opciones para reducir el inóculo del patógeno en ausencia del hospedante.

En este experimento, *R. solanacearum* no necesitó una planta hospedante para sobrevivir, dado que a los 90 días las poblaciones del testigo comenzaron a aumentar. Bajo estas condiciones, los resultados coinciden con la tendencia informada por Jackson y González (1981), de que el patógeno puede sobrevivir en el suelo en ausencia del cultivo susceptible.

Rema *et al.* (1981), estudiando la supervivencia de *R. solanacearum* en el suelo, encontraron que la población de ésta disminuyó a la mitad del valor original a los 46 días después de la adición del inóculo al sue-

lo, más no fue significativo el efecto de suelos enmendados con torta de neem, urea y tejido del hospedante sobre la población del patógeno en comparación con el testigo sin enmienda.

Otras experiencias, han demostrado que la aplicación de prácticas de rotación de cultivos, no lograron reducir el inóculo de *R. solanacearum* en el suelo en ausencia de hospedantes susceptibles (Jackson y González 1981), restándole potencial a la rotación de cultivos como medida para disminuir el inóculo del patógeno en suelos infestados.

El retardo en la aparición de síntomas en las plantas con aplicación de composts tipo bokashi, tipo 1 y 2; el mayor aporte de nutrientes por parte de estos tratamientos, la disminución poblacional de *R. solanacearum* con las cepas bacterianas provenientes de los composts tipo bokashi y tipo 1, y finalmente, la reducción del crecimiento de *R. solanacearum* en suelos con enmienda con estos mismos sustratos, fundamentan la importancia que puede tener el componente biológico en el manejo del patógeno, dada la riqueza de microorganismos en la rizosfera (Hoitink y Boehm 2001).

Al comparar los porcentajes (Fig. 9) de disminución, con relación al testigo en cada una de las fechas analizadas, se puede observar que el compost 2 presentó la mayor disminución en la población bacteriana (cercana al 90%) antes de los 30 días y durante el periodo de evaluación. En la cachaza, aunque la población disminuye al principio se incrementa a los 60 y 90 días; con la broza de café ocurre lo contrario.

A través de los resultados obtenidos en este trabajo y conociendo el potencial de persistencia en el suelo de *R. solanacearum*, que es de 4 (McCarter

1976) a 15 años (Drummond 1984), es recomendable hacer estudios a nivel de campo en suelos infestados naturalmente, aplicando abonos orgánicos fermentados con diferentes fuentes de materia orgánica para propiciar un aumento de las poblaciones de microorganismos benéficos que compitan con el patógeno.

En este trabajo se revela el potencial de las enmiendas orgánicas, especialmente de los composts, como herramientas a ser probadas y utilizadas dentro del contexto del manejo integrado de *R. solanacearum*, y también para complementar el uso de variedades resistentes en suelos con bajos niveles de inóculo del patógeno.

Literatura consultada

- Bertsch, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 157 p.
- Bustamante, E. 1994. La marchitez bacteriana del chile y tomate. Hoja Técnica no. 9: *In* Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 32:i-iv.
- CATIE. (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie Técnica, Informe Técnico no. 151. 138 p.
- Cavalcante, E.; Mariano, R.; Leite, J.; Coelho, R. 1996. Influence of mineral nutrition on the reaction of tomato cvs Yoshimatsu and Santa Cruz to *Pseudomonas solanacearum*. ACIAR Proceedings.
- Drummond, O. 1984. Investigaciones para el combate de la marchitez bacteriana de la papa realizadas en el período de 1957 a 1982, en Río de Janeiro. *In* CIP. Marchitez bacteriana (*Pseudomonas solanacearum*) de la papa en América Latina. Lima, Perú, CIP. 120 p.
- French, E.; Hebert, T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Costa Rica, IICA, 289 p.
- Grimault, V.; Prior, P. 1993. Bacterial wilt resistance in tomato associated with tolerance of vascular tissues to *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Pathology* 42:589-594.
- Grimault, V.; Anais, G.; Prior, P. 1994. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plants with different levels of resistance to bacterial wilt. *Plant Pathology* 43:663-668.
- Guerrero, J. 1993. Abonos orgánicos, tecnología para el manejo ecológico de suelos. Lima, Perú, RAAA. 90 p.
- Hayward, A. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 29:65-87.
- Hoitink, H.; Stone, A.; Han, D. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 43:31-39.
- Hoitink, HAJ.; Boehm, MJ. 2001. Control biológico en el contexto de comunidades microbianas del suelo: un fenómeno dependiente del sustrato. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 62:4-17.
- Huber, D.; Schneider, R. 1989. The description and occurrence of suppressive soils. *In* Schneider, RW. Ed. *Suppressive soils and disease*. Minnesota, USA, APS Press. p. 88.
- Huber, D. 1981. The use of fertilizers and organic amendment in the control of plant of plant diseases. *In* Pimentel, D. Ed. *Handbook of pest management in agriculture*. Florida, CRC Press. p. 357-394.
- INPOFOS (Instituto de la Potasa y el Fósforo). 1997. Los fertilizantes y la salud del suelo. *Informaciones Agronómicas* no. 29:13.
- Jackson, M.; González, L. 1981. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* (Race 1) in naturally infested soil in Costa Rica. *Phytopathology* 71:690-693.
- Jiménez, J. 1996. Evaluación de inductores de resistencia a geminivirus y promotores del crecimiento en el cultivo del tomate. Tesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 74 p.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrastolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- McCarter, S. 1976. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* in artificially infested soils. *Phytopathology* 66:998-1000.
- Michel, V.; Wang, F.; Midmore, D.; Hartman, G. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathology* 46:600-610.
- Palti, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. New York, USA, Springer-Verlag. 243 p.
- Rema, L.; Devi, L.; Ramanatha, M.; Aiyer, R. 1981. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil. *Plant Soil* 62:169-182.
- Shaner, G.; Finney, R. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-midewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056.
- Tanaka, Y.; Noda, N. 1973. Studies on the factors affecting survival of *Pseudomonas solanacearum* the causal agent of tobacco wilt disease. *Review of Plant Pathology* 53:3171.
- Trigalet, A.; Frey, P.; Trigalet-Demery, D. 1994. Biological control of bacterial wilt caused *Pseudomonas solanacearum*: state of the art and understanding. *In* Hayward, A.; Hartman, G. Ed. *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK, CAB. p. 225-233.
- Thurston, H. 1992. Sustainable practices for plant disease management in traditional farm systems. Boulder, USA, Westview Press. 279 p.