

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
SUBDIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ENSEÑANZA
PROGRAMA DE POSGRADO

EFFECTO DE DIFERENTES FUENTES Y NIVELES DE Ca SOBRE LA SEVERIDAD DEL TIZON TEMPRANO (*Alternaria solani*) EN TOMATE (*Lycopersicon esculentum*).

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico Académico del programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar por el grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

por

ROSA MARIA MENDEZ BAUTISTA.

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza,
Turrialba, Costa Rica
Septiembre de 1991.

Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la Coordinación del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

COMITE ASESOR:



Elkin Bustamante Rojas, Ph.D.
Profesor Consejero



Roberto Díaz Romeu, M.Sc.
Miembro del Comité



Francisco Merino Cisneros, M.Sc.
Miembro del Comité

Miembro del Comité



Ramón Lastra Rodríguez, Ph.D.
Coordinador del Programa de Maestría



Rosa María Méndez Bautista
Candidato

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo de manera muy especial

A la memoria de mi querida madre
María Lorenza Bautista.

A mi querido padre
Crucito Méndez
Por su amor esfuerzo y sacrificio

A Rosa Mercédes Garcés (Negra)
Por haberme dado el cariño de
una verdadera madre

A mis hermanos
Dignorah, Josefa, Nani, Judik,
Felix, Julian, Odalis y Laura
Gracia por su cariño y apoyo

A mis sobrinos:
Wellinthon, Johanna,
Darianna

A mis Abuelas
Tita y Herminia

A la memoria del M.Sc. José Martí

Al Club Sol Naciente, organización bajo la cual me forjé, en
el obtuve los conocimientos que eran imposible encontrar en
las aulas de la Universidad

Con mucho cariño

Rosa María

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento:

A mi padre Crucito Méndez, por haberme dado la oportunidad y el apoyo que hizo posible mi realización como profesional.

Al Dr. Elkin Bustamante, por haber dedicado su valioso tiempo a la asesoría y orientación precisa para la culminación satisfactoria de éste trabajo.

Al M.Sc Roberto Díaz, por su atención y orientaciones en el área de suelo.

Al M.Sc. Francisco Merino, por sus buenas orientaciones e incentivos en la realización del trabajo.

A los Señores Walter Bermudez, Arturo Gamboa y Mario Jiménez, por su colaboración y amistad.

A mis compañeros y amigos de la promoción 1989 - 1991, gracia por su amistad.

A mis amigos y compañeros: A Paniagua, C. Gutierrez, L. Corado, R. Vazquez, J. Asiatico, J. E. Calzada, G. Varela, I. Salinas, J. M. Duarte, S. Okumoto, gracia por su amistad y momentos gratos compartidos.

Al personal de Posgrado especialmente el Dr. Ramón Lastra y Gerardo Martínez por su gestión y apoyo.

Al personal del Proyecto Manejo Integrado de Plagas (MIP) por sus atenciones.

Al personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton, especialmente Lisset, Rigoberto, Jesús, Gerardo y Fabio, gracias por sus atenciones.

Al personal del Centro de Cómputo por sus atenciones y amistad.

A todas aquellas personas que de una u otra forma tuvieron que ver con la realización de éste trabajo.

Gracias...

BIOGRAFIA

La autora nació en la ciudad de San Cristóbal, el día 20 de Agosto de 1960. Realizó sus estudios de primaria en la escuela Primaria e Intermedia de Sainaguá S. C. y su bachillerato en el Liceo Secundario Manuel María Valencia de San Cristóbal, siendo egresada de éste último como Bachiller en Ciencias Físicas y Naturales en el año 1977.

En el año 1978 inició sus estudios superiores en la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), graduandose de Licenciada en Biología en el año 1985.

A partir de 1985 inició sus servicios profesionales como asistente técnico en el Laboratorio de fitopatología, Departamento de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Estado de Agricultura en Santo Domingo, República Dominicana.

En Septiembre de 1989, ingresó al Programa de Posgrado del CATIE en Turrialba, Costa Rica. Realizó su trabajo de tesis con el Proyecto de Manejo Integrado de Plagas, Departamento de Producción Vegetal y se graduó de Magister Scientiae en Septiembre de 1991.

Sus estudios de maestría fueron financiados por una beca de la Organización de los Estados Americanos (OEA), y el apoyo del CATIE.

INDICE

PAGINA

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUCCION.....	1
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.1.2. Objetivos Específicos.....	3
1.2. HIPOTESIS.....	4
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1. Importancia económica de la enfermedad.....	4
2.1.1. Distribución.....	5
2.2. Biología de <i>A. solani</i>	5
2.2.1. Estructuras de supervivencia de <i>A. solani</i>	6
2.2.2. Diseminación.....	7
2.2.3. Clasificación.....	7
2.3. Sintomatología de la enfermedad.....	7
2.3.1. Ciclo de la enfermedad.....	9
2.3.2. Condiciones climáticas que favorecen el desarrollo de la enfermedad.....	10
2.4. Medidas de manejo que se han utilizado para el combate de la enfermedad.....	11
2.5. Combate mediante prácticas culturales.....	12
2.6. Combate por resistencia.....	13
2.7. Efecto de nutrición en la defensa de la planta.....	14
2.7.1. Función del N, P y el Ca en las plantas.....	18
2.7.1.1. Función del nitrógeno.....	18
2.7.1.2. Función y disponibilidad del fósforo.....	19
2.7.1.3. Funciones y disponibilidad del calcio....	20
2.8. Acción de la cal.....	22

3. MATERIALES Y METODOS.....	24
3.1. Localización.....	24
3.2. Material experimental usado en invernadero.....	25
3.3. Metodología para el aislamiento de <i>A. solani</i>	26
3.3.1. Esporulación del hongo.....	26
3.4. Manejo. del experimento	27
3.4.1. Tratamientos.....	27
3.4.2. Inoculación.....	30
3.4.3. Variables evaluadas.....	30
3.4.4. Descripción del ensayo.....	31
3.4.4.1. Primera etapa del ensayo.....	31
3.4.4.2. Segunda etapa del ensayo.....	31
3.4.4.3. Tercera etapa del ensayo.....	32
3.4.4.4. Unidades Experimentales.....	34
3.4.5. Análisis de la Información.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. Efecto de la aplicación foliar de nitrato de calcio.. sobre el control de <i>A. solani</i> en tomate.....	36
4.2. Efecto del carbonato, nitrato, y fosfato en un..... suelo de baja fertilidad.....	38
4.3. Efecto de carbonato, nitrato y fosfato en un suelo... fértil.....	42
4.4. Análisis foliar.....	43
5. DISCUSION DE RESULTADOS.....	52
6. CONCLUSIONES.....	61
7. BIBLIOGRAFIA.....	63
8. ANEXOS.....	69

MENDEZ BAUTISTA, R. M. 1991. Efecto de diferentes fuentes y niveles de calcio sobre la severidad del tizón temprano (*Alternaria solani*) en el cultivo de tomate f(*Lycopersicon esculentum*) Tesis M.Sc. Turrialba, C.R. CATIE. 95 p.

Palabras claves: Tomate, *Alternaria solani*, fertilización, calcio, severidad.

RESUMEN

El tomate (*L. esculentum*) es una de las hortalizas más importantes por su amplia adaptación y por ser un fuerte renglón de ingresos en el comercio de productos comestibles frescos e industrializados. El tizón temprano (*A. solani*) provoca pérdidas considerables en el cultivo de tomate y constituye uno de los problemas más serios para el productor en gran número de países. Las aplicaciones de Ca, P y N, al igual que la materia orgánica reducen la incidencia y severidad de enfermedades bacteriales y de algunos hongos.

El objetivo del presente trabajo fué determinar bajo condiciones de invernadero, la respuesta en severidad del tizón temprano: a) La aplicación foliar de nitrato de Ca, b) Diferentes fuentes y niveles de Ca aplicados a un suelo de baja fertilidad, c) Diferentes fuentes y niveles de Ca aplicados a un suelo fértil.

El diseño experimental utilizado fué el de parcelas subsubdivididas con una distribución en bloques al azar y arreglo factorial. Se usó el cultivar Dina guayabo, y como fuentes se utilizaron, carbonato, nitrato y fosfato de calcio. Plantas de 45 y 60 días fueron inoculadas con *A. solani*. Las evaluaciones de severidad del patógeno se iniciaron cinco días después de cada inoculación, haciéndose cuatro lecturas posteriores cada dos días.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las fuentes y los niveles de aplicación no mostraron diferencias significativas, pero sí la hubo para la interacción fuente*nivel. El nitrato de Ca usado como fuente en una dosis de 2,4 g/maceta produjo el menor tamaño de lesión causado por *A solani*.

En aplicación foliar, el menor tamaño de lesión se obtuvo cuando se usó una dosis de 16 g/l de nitrato de Ca. La severidad en las hojas superiores fué menor que en las inferiores. Este resultado fué consistente para todas las fuentes.

Mendez Bautista, R.M. 1991. Effect of different sources and levels of calcium over the severity of early blight (*Alternaria solani*) in the tomato crop (*Lycopersicon esculentum*) Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba C.R. 99 p.

Key words: tomato, *Alternaria solani*, fertilization, calcium, severity.

ABSTRACT

Tomatoes (*L. esculentum*) are one of the most important vegetables because of their wide adaptation and strong economic revenues in the fresh and industrialized food product market. Early smut (*A. solani*) causes considerable losses in the tomato crop and constitutes one of the most serious problems for the producer in many countries. Applications of Ca, P and N, as well as those of organic material reduce the incidence and severity of bacterial and some fungal diseases.

The objective of this study was to determine, under greenhouse conditions, the response in severity of early smut to: a) Foliar applications of calcium nitrate, b) Different sources and levels of Ca applied to a low fertility soil, c) Different sources and levels of Ca applied to a fertil soil.

The experimental design used was that of subdivided parcels with a distribution of random blocks and a factorial arrangement. The cultivar "Dina guayabo" was used, and carbonate, nitrate and calcium phosphate were used as sources. plants of 45 and 60 day old were inoculated with *A. solani*. Evaluations of the pathogen's severity were initiated five days after each inoculation, with four later readings being made every two days.

According to the results obtained, the sources and application levels did not show significant differences; however, there was a difference for the source*level interaction. The calcium nitrate used as a source at a dosage of 2,4 g/pot produced the smallest lesion caused by *A. solani*. In foliar applications, the smallest lesion was obtained with a dosage of 16 g/l of calcium nitrate. The severity in the upper leaves was less than in the lower ones. This result was consistent for all the sources.

LISTA DE CUADROS

Cuadro No.....	página
1	Condiciones climáticas registradas durante el período del experimento (Ene-May de 1991) en el CATIE, Turrialba, C.R..... 24
2	Análisis de los suelos usados en el experimento, efectuado antes de la siembra del tomate.....28
3	Promedios para la interacción estado*posición para la tasa desarrollo de la enfermedad (r), con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....37
4	Promedios para el tamaño de lesión con relación a la interacción fuente*posición, a los nueve días después de la inoculación (ensayo 2).....39
5	Promedios para los niveles de nitrato de Ca aplicado al suelo sobre el control de <i>A. solani</i> en tomate, 71 días después de la siembra.....42
6	Contenido de Ca en las hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de cuatro niveles de nitrato de Ca.....46
7	Promedios para el contenido de fósforo en hoja de tomate, en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....46
8	Modelo de regresión, para la concentración de fósforo, calcio y nitrógeno, en relación a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....47
9	Promedios correspondientes al contenido de nitrógeno en las hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....48
10	Contenido de Ca en hojas de tomate en respuesta a cuatro niveles de Ca aplicados a un suelo de baja fertilidad, y otro fértil.....49
11	Efecto de la aplicación de diferentes fuentes y niveles de Ca sobre el pH en un suelo de baja fertilidad y un suelo fértil.....50

1A	Promedios alcanzado por los testigos para los estados, en cada una de las fechas evaluadas y para la tasa de desarrollo (r),.....	70
2A	Preparación de medios de cultivo para el crecimiento y aislamiento de <i>A. solani</i>	71
3A	Análisis de varianza para tamaño de lesión, cinco 5 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	72
4A	Análisis de varianza para tamaño de lesión a los 7 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	73
5A	Análisis de varianza para el tamaño de lesión a los nueve días después de la inoculación, y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	74
6A	Análisis de varianza para el tamaño de la lesión, 11 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	75
7A	Análisis de varianza para la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	76
8A	Análisis de varianza para el tamaño de lesión a los 5 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de Ca a un suelo debaja.....	77
9A	Análisis de varianza para el tamaño de lesión, siete días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes de un suelo no fértil....	78
10A	Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 9 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes a un suelo fértil.....	79
11A	Análisis de varianza para el tamaño de lesión, 11 días después de la inoculación, en relación a la aplicación de fuentes de Ca en un suelo de baja fertilidad.....	80
12A	Análisis de varianza para la tasa de desarrollo (r), con respecto a la aplicación de fuentes a un suelo de baja fertilidad.....	81

13A	Análisis de varianza para el tamaño de la lesión, cinco días después de la inoculación respecto a la aplicación fuentes de Ca a un suelo fértil.....	82
14A	Análisis de varianza para el tamaño de lesión, siete días después de la inoculación, y con respecto a la aplicación de fuentes al suelo.....	83
15A	Análisis de varianza para el tamaño de la lesión, nueve días después de la inoculación y con respecto a la aplicación de fuentes a un suelo fértil.....	84
16A	Análisis de varianza para el tamaño de la lesión, 11 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación de fuentes a un suelo fértil.....	85
17A	Análisis de varianza para la tasa de desarrollo (r), respecto a la aplicación de fuentes de Ca en un suelo fértil.....	86
18A	Análisis de varianza correspondiente al tamaño de lesión en los suelos usados (suelo no fértil y suelo fértil).....	87
19A	Análisis de varianza para la fuente de variación calcio, con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	87
20A	Análisis de varianza correspondiente a la fuente de variación fósforo, respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	88
21A	Análisis de varianza para la fuente de variación nitrógeno con respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura No.....	Páginas
1 Severidad del tizón temprano en tomate con relación función al tiempo. Comparación de dos posiciones de las hojas.....	..36
2 Tasa de desarrollo de la enfermedad para las posiciones de las hojas en la planta.....	36
3 Tasa de desarrollo de la enfermedad (r), en respuesta a la aplicación foliar de cuatro niveles nitrato de Ca.....	40
4 Severidad del tizón temprano en tomate, en función al tiempo. Comparación de dos posiciones de las hojas.....	40
5 Severidad del tizón temprano en tomate. Comparación de los dos suelos usados.....	44
6 Contenido de Ca en hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	44
7 Contenido de fósforo en hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca.....	45
8 Contenido de nitrógeno en hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar del nitrato de Ca.....	45
9 Contenido de Ca en hojas de tomate en respuesta a la aplicación de fuentes de Ca en un suelo de baja fertilidad y en otro fértil.....	51
10 Efecto de diferentes fuentes y niveles de Ca sobre el pH en un suelo no fértil y otro fértil.....	51

1. INTRODUCCION

El tomate es considerado como una de las hortalizas más importantes por su popularidad, su amplia adaptación y por constituir un fuerte renglón de ingresos en el comercio de productos comestibles frescos e industrializados; además tiene un alto valor nutritivo. Dicha planta posee tallos, hojas y frutos suculentos y carnosos, lo cual la hace hospedera de diversos patógenos, dentro de los cuales se encuentra el hongo *Alternaria solani*.

Este hongo causa pérdidas considerables en el cultivo de tomate, que pueden variar del 30 al 100 % de acuerdo al cultivar y el nivel de infección.

Alternaria solani, es causante de la enfermedad conocida como tizón temprano ó alternariosis. Dicha enfermedad en el cultivo de tomate constituye uno de los problemas fitopatológicos más serios con que se enfrenta el productor en gran número de países. Este hongo puede causar un estrangulamiento de plántulas pequeñas, similar al que causa *Rhizoctonia*. También puede producir manchas negras en hojas, tallos y frutos.

En la mayoría de los países Centroamericanos, la medida de control más comunmente utilizada contra el tizón temprano es la aplicación de fungicidas. Esta práctica resulta ser la más cara, a veces inefectiva, haciendo necesario un mayor

número de aplicaciones para poder contrarrestar la enfermedad, provocando así un mayor daño a la ecología de los lugares donde se cultiva ésta hortaliza. En ciertas ocasiones se emplean algunas labores culturales con la finalidad de disminuir la severidad e incidencia de la enfermedad.

Según Graham (1983), el efecto de la nutrición mineral sobre las enfermedades de las plantas ha recibido considerable atención en los últimos años, especialmente los macronutrientes. Al respecto se han planteado varias explicaciones; se considera que en alguna forma la nutrición modifica uno de los siguientes factores: la expresión de la resistencia ó susceptibilidad de las plantas a las enfermedades, la función de los tejidos para aumentar ó disminuir la virulencia y a la habilidad de los patógenos para sobrevivir (Huber 1980).

Se ha comprobado también que la fertilización con Ca, P y N, así como la incorporación de la materia orgánica, disminuyen la severidad de enfermedades bacteriales y de algunos hongos (Rodríguez, 1980). Con una alta y adecuada fertilidad en los suelos, se reduce la severidad del tizón temprano causado por *A. solani* (Chase y Poole, 1986). Se ha encontrado que las plantas con niveles adecuado de N, P y K presentan tolerancia a la enfermedad pero que cuando se adiciona Ca la tolerancia es mayor llegando a incrementar los rendimientos (Alas, 1989).

Por tales razones es importante realizar estudios epidemiológicos que permitan desarrollar un manejo integrado de la enfermedad, haciendo uso de prácticas que permitan reducir el inóculo inicial (X_0) y la tasa de incremento del nuevo inóculo.

1.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de diferentes fuentes y niveles de calcio como inductor de resistencia en la interacción tizón temprano (*A. solani*) x tomate (*L. esculentum*).

1.2 Objetivos Específicos.

Determinar el efecto de la aplicación foliar de nitrato de calcio a diferentes niveles, estados fenológicos, y posiciones de las hojas sobre la severidad del tizón temprano en tomate.

Determinar la respuesta en severidad del tizón temprano a diferentes fuentes, niveles de calcio y posiciones de las hojas, aplicados a un suelo de baja fertilidad.

Determinar la respuesta en severidad del tizón temprano en tomate a diferentes fuentes, niveles de calcio y posiciones en las hojas, aplicados en un suelo en fértil.

1.2. HIPOTESIS.

La aplicación foliar de nitrato de Ca reduce el tamaño de lesión causado por *A. solani* en tomate.

Cuando se adiciona Ca en suelos ácidos, disminuye la severidad del tizón temprano en tomate.

La severidad del tizón temprano es menor en un suelo fértil que en un suelo de baja fertilidad.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Importancia económica de la enfermedad.

Alternaria solani causa daño en todos los países de Centroamérica, provocando pérdidas en la mayoría de los casos de un 20 % de la producción total, sin embargo, en algunos de los casos puede llegar al 50 % (Alonso P. y Palma R., 1986)

En Guatemala, *A. solani* es considerado como el hongo de mayor importancia (Monterroso, 1985).

En El Salvador se considera como uno de los problemas fitopatológicos más importantes desde el punto de vista de daño al follaje y a los frutos teniendo por consiguiente impacto económico (Alonso y Palma, 1985).

En Honduras, la enfermedad se encuentra generalizada dentro de varias áreas de cultivo y se ha informado de pérdidas considerables, aunque su control no es costoso ni muy problemático (Monterroso, 1986).

En Costa Rica, la enfermedad se encuentra distribuida en la meseta Central Occidental, Central Oriental, pacífico Sur y en la región Central del país; pero no se conoce un estimado de las pérdidas que causa, sin embargo es considerada de importancia fitopatológica (CATIE, 1986).

2.1.1 Distribución.

El tizón temprano causado por *A. solani* apareció por primera vez en el sur y suroeste de Inglaterra en el año 1944. Hoy día su distribución es universal, sobre todo en regiones semiáridas de días secos, noches húmedas y temporales de arena ocasionales (Laurence, 1969).

2.2. Biología de *Alternaria solani*.

A. solani, al iniciar su desarrollo, produce micelio hialino septado y ramificado, con la edad se vuelve de color oscuro. Los conidióforos son erectos, cortos y oscuros.

Las conidias (12-20 X 120-296 micras), son de color oscuro en forma de masa, muriformes, es decir con septas transversales y longitudinales, se forman en cadena y se unen unas a otras por un pequeño apéndice. Además son multicelulares, surgen de los conidióforos de una en una, el tamaño varía entre (110-90 X 14-20) micra.

En medio de cultivo muchos aislamientos producen un pigmento amarillo, marrón ó rojo que se propaga por el sustrato. El cuerpo tiene forma elipsoidal u oblonga, el cual va angostandose gradualmente en forma cónica, para formar una

especie de pico largo, flexible, claro ocasionalmente ramificado, y mide entre 2.5 a 5.0 micras de diámetro.

La mayoría de los aislamientos se desarrollan bien en medio de cultivo, pero la esporulación es pobre a menos que se hiera el micelio o se cultive en un medio nutritivo.

Las colonias son extendidas, vellosas y de color castaño a negro. Algunos aislamientos producen un pigmento rojo amarillento en medio nutritivo. El crecimiento máximo del micelio de *A. solani* en cultivo puro se obtiene a 28 °C, mientras que la temperatura óptima es de 19 - 23 °C. A temperatura mayor de 32 °C, se inhibe la formación de conidióforos. A más de 27 °C se detiene la formación de conidias. Los conidióforos se desarrollan en presencia de luz, mientras que la formación de conidias es inhibida por efecto de la luz a temperatura mayor de 15 °C.

2.2.1 Estructuras de supervivencia de *A. solani*.

Las principales estructuras de supervivencia de *A. solani* son las conidias, éstas estructuras generalmente quedan en restos de plantas infectadas; son resistentes a la sequía y su poder para germinar puede durar hasta un año, se pueden conservar en la superficie del suelo, en hojas y restos de plantas.

Las conidias para germinar necesitan agua. El micelio puede sobrevivir sobre la semilla atacandola cuando germina. La duración de la humedad de la hoja necesaria para la infección, depende de la temperatura, por ejemplo 12 horas a

10 °C y 4 horas a la temperatura óptima de 25 a 30 °C. Los periodos lluviosos al igual que la temperatura contribuyen a iniciar la infección.

2.2.2. Diseminación

La diseminación se realiza principalmente por el viento, el cual arrastra las conidias llevándolas hasta otras plantas ó lugar donde no había infección. Es la forma más rápida y efectiva que presenta el patógeno para infestar, ya sea su hospedero u hospederos alternos.

Otras formas de diseminación son, la lluvia, implementos agrícolas, animales y el hombre mismo. Las semillas pueden ayudar a diseminar el micelio del hongo, constituyendo ésta una forma de diseminación a mayor distancia. En el caso de las hojas, el salpique del agua constituye otra forma de diseminación en una misma planta ó de una planta a otra.

2.2.3. Clasificación

Alternaria solani pertenece a la clase Deuteromicetes, orden Moniliales, familia Dematiáceas, género *Alternaria* y especie *Alternaria solani* (Castillo, 1987).

2.3. Sintomatología de la enfermedad

La enfermedad se inicia en las hojas, en forma de manchas necróticas, coriáceas, de color pardo oscuro a negro, formando círculos concéntricos. Las manchas son ovaladas ó de forma angular, de 3 a 5 milímetros de diámetro. Generalmente

éstas manchas se encuentran rodeadas de un contorno amarillento. Varias manchas pueden confluír y formar una gran área necrótica. El contorno o halo amarillento que rodea la mancha, es producido por una toxina llamada ácido alternárico.

En las plántulas de tomate, las lesiones aparecen en la base de los tallos, a la altura del suelo. Las primeras hojas afectadas son las inferiores, las que se secan y luego caen, proceso que continúa a medida que la enfermedad progresa hacia la parte superior de la planta. Las manchas se presentan también en los tallos, pero esto es menos común y destructivo que cuándo el ataque se produce en las hojas.

El daño en hoja excede considerablemente a la cantidad de tejido destruido.

A. solani causa daño en todos los estados de desarrollo de la planta, alcanzando en ocasiones grados muy severos, aunque es raro en plantas de menos de 15 cm de alto, ya que la enfermedad hace su aparición al comenzar la floración (León, 1982). Ataca el tallo, follaje y fruto de los cultivos de tomate, papa, berengena y otras solanáceas. A medida que avanza el desarrollo de la planta, la severidad del tizón temprano se incrementa (Kranz, 1982).

2.3.1 Ciclo de la enfermedad.

El ciclo de la enfermedad dura aproximadamente 10 días, el inóculo inicial son las conidias que se han depositado en el suelo, en los residuos de cosechas anteriores (hojas, tallos, frutos).

Las conidias son transportadas principalmente por el viento, y al caer sobre un huésped susceptible y encontrar las condiciones adecuadas de humedad y temperatura, inician el proceso de infección primaria.

Las conidias germinan y mediante sus haustorios penetran directamente ó a través de los estomas de las hojas. También pueden penetrar en forma directa en tallos, flores y frutos. Una vez se realiza la penetración, se da la colonización de los tejidos; tan pronto pasa el período de latencia, se inicia la manifestación de los primeros síntomas y la producción del nuevo inóculo, que servirá para continuar la infección en nuevo tejido en la misma ó en diferentes plantas del cultivo. Generalmente, la mayor diseminación secundaria se realiza después de la floración, cuando el nivel ó la cantidad de inóculo es mucho más alto. Al inicio, las hojas infectadas pueden permanecer asintomáticas, los cuales se van evidenciando a medida que van alcanzando la madurez.

El desarrollo de la enfermedad ocurre con mayor rapidéz durante los períodos en que se alternan las condiciones húmedas y secas. Se necesitan 57,4 esporas de *Alternaria* para producir una lesión, debido a que en algunos casos muchas

esporas no tienen la oportunidad de caer en un huésped susceptible (Mc callan y Wellman).

2.3.2. Condiciones climáticas que favorecen la enfermedad.

En el campo, las infecciones severas de *A. solani* ocurren cuando hay lluvias fuertes de más de un día, pero aún el rocío es suficiente para que el hongo continúe reproduciéndose. La infección ocurre con rapidéz, a temperaturas de 28 a 30 °C, con extremos de 4 a 34 °C.

Las plantaciones en estado débil son más susceptibles por lo que se cree que si las plantas son cultivadas en buen suelo, con suficiente humus y fertilizante con los elementos necesarios, no habrá defoliación por *Alternaria* hasta que se hayan madurados sucesivamente los racimos de frutos (Cáceres, 1984).

Alternaria pasa el invierno ó el verano en restos de plantas infectadas ó en plantas silvestres. Es extremadamente resistente al calor y a la sequía. La esporulación en plantas es consecuencia de condiciones alternas de humedad y sequía. Cuando existen factores adversos para la fotosíntesis, aumenta el potencial de esporulación del patógeno.

Las conidias para germinar necesitan agua. La duración de la humedad de la hoja necesaria para la infección depende de la temperatura (Kranz, 1984).

4.4. Medidas de manejo que se han utilizado para combate de la enfermedad.

Las medidas más utilizadas para el control de ésta enfermedad incluyen el uso de variedades resistentes, prácticas culturales y la aplicación de fungicidas. Sin embargo, Kranz, J. 1982, dice que no se conocen fuentes genéticas para la resistencia, excepto para la fase de podredumbre basal en el tomate.

Para disminuir el peligro de la enfermedad, es recomendable destruir todo resto de plantas atacadas, y recomiendan otras medidas dirigidas al control ó manejo de la enfermedad, pero en la práctica pocas de ellas son usadas con eficiencia, pues generalmente los productores ó agricultores utilizan con más frecuencia los productos químicos para el control, los cuales son parcialmente efectivos.

Los fungicidas más usados son los orgánicos a base de Zineb (Dithane Z 78) Polyram Z, Maneb (Dithane M-22; Maneb, Manzate, Cupravit, Daconil, Kocide, Captan y otros a una dosis de 0,25 %.

Para tratar el semillero a base de químicos, es recomendable desinfectar el terreno aplicando bromuro de metilo en dosis de 1 litro por 10 metros de semillero, ó aplicar Paracloronitrobenceno (PCNB) en dosis de 40 gramos por M². En cuanto al follaje se recomienda hacer aplicaciones con intervalos de 5 a 10 días, con alguno de los productos ya señalados.

2.5. Combate mediante prácticas culturales

Generalmente las prácticas culturales se realizan con la finalidad de disminuir la cantidad de inóculo inicial que pueda infectar a las nuevas plantas (Agrios 1985). Entre las prácticas culturales ó medidas de combate se mencionan las siguientes:

Sanidad: destrucción de tejido enfermo antes de una cosecha, con la finalidad de eliminar la fuente de inóculo inicial (Xo) que quedó de cosechas anteriores, constituyendo una fuente de infección (Agrios, 1985; Lawrence, 1964).

Uso de semillas sanas, certificadas: el patógeno se mantiene vivo en forma de micelio ó por medio de sus conidios, y la semilla puede fácilmente contaminarse en el proceso de extracción; las semillas contaminadas constituyen una fuente de diseminación ó transmisión del patógeno (Lawrence, 1964).

Rotación de cultivos: debido a que el patógeno sobrevive en el suelo en residuos de cosechas anteriores, ésto permite aumentar el inóculo inicial para la siguiente cosecha, si fuese el mismo cultivo u otra planta de la misma familia que se cultive en el mismo lugar. Por esta razón es recomendable que después del cultivo de tomate, se establezca un cultivo de la familia de las gramíneas (maíz, arroz, sorgo,) y posteriormente una leguminosa (soya, frijol, kudzu) para que incremente el nitrógeno en el suelo (Agrios, 1985).

Podas sanitarias: *A. solani* tiene la característica de que su ataque se inicia en las hojas más viejas de la planta (hojas bajas), esto permite eliminar las hojas que presentan la infección inicial, y por lo tanto disminuir la cantidad de inóculo secundario que podría causar una epidemia. Estas hojas infectadas es necesario recogerlas en un solo lugar, aplicarle un producto que acelere su descomposición y luego quemarlas.

Destrucción de plantas hospederas: Otros de los medios de sobrevivencia del patógeno en época en que no se siembra el cultivo, es permanecer sobre plantas alternas. Por ésta razón es recomendable mantener los campos aledaños limpios de malezas y plantas conocidas como posibles hospederas, (Agrios, 1985).

Fertilización: la infección primaria de *A. solani*, se realiza en el follaje más viejo, durante la etapa más temprana del cultivo, sin embargo el tejido joven en crecimiento activo y las plantas con fuerte fertilización no exhiben síntomas y la mayor diseminación se realiza después de la floración, cuando el inóculo es mucho más alto, (Alas, 1989).

2.6. Combate por resistencia.

El uso de variedades resistentes ó tolerantes a la enfermedad, constituye uno de los factores de gran importancia para el agricultor (Agrios, 1985; León, 1982).

A pesar de que la resistencia ó tolerancia a tizón temprano ha sido reportada, en la actualidad no existen

cultivares comerciales resistentes para condiciones de Costa Rica (Jacobsen y Courter, 1977). No obstante en evaluaciones realizadas por el proyecto MIP-CATIE, se ha encontrado resistencia intermedia en las variedades 14617 y 117-12 (Jiménez, 1988).

Las barreras mecánicas constituyen un tipo de resistencia a *A. solani*. Estas barreras consisten en la formación de un anillo de células meristemáticas (felógeno), que a su vez producen una barrera de corcho alrededor de cada punto de infección; el tejido que queda dentro del anillo se vuelve necrótico y termina desprendiéndose, pero el patógeno no puede atravesar la barrera de corcho y su efecto queda confinado a un área reducida (González, 1981).

La resistencia horizontal dirigida contra la población del patógeno es el método de resistencia más importante y más duradero, sin embargo para el caso de *A. solani* únicamente se conoce la resistencia vertical.

2.7. Efecto de la nutrición en la defensa de las plantas.

En los últimos años el efecto de la nutrición mineral sobre las enfermedades de las plantas, ha recibido considerable atención, especialmente los macronutrientes (Graham, 1983). Se han planteado varias explicaciones para éste fenómeno; se cree que en alguna forma la nutrición mineral modifica uno de los tres factores siguientes: la expresión de la resistencia ó susceptibilidad de las plantas

a las enfermedades, la función de los tejidos para aumentar ó disminuir la virulencia y a la habilidad de los patógenos para sobrevivir (Huber, 1980). Se ha comprobado también que las fertilizaciones de Ca, P y N, así como la incorporación de materia orgánica, disminuyen la incidencia de enfermedades bacteriales y de algunos hongos, ya que estos materiales incrementan la población microbiana del suelo e inhiben a los organismos patogénico por competencia biológica (Rodríguez, 1989).

La fertilización es uno de los factores controlables del cultivo de tomate que más influye en el rendimiento por área. En Centroamérica por lo general se sobrefertiliza, aplicandose grandes cantidades de macronutrientos (N, P, K), tanto en el suelo como en el follaje.

Según estudios realizados en Costa Rica, el costo de fertilizantes representa el 13 - 15 % de los costos totales de la producción de tomate. Una fertilización eficiente es aquella que conociendo los requerimientos nutricionales de la planta y el estado nutricional del suelo aplica los nutrientes que están deficientes en el suelo en las cantidades y épocas críticas para el cultivo (CATIE, 1989).

La deficiencia de Ca es rara de observar en la parte vegetativa, los síntomas que indican algún problema de nutrición se observan en el fruto verde cuando se presentan problemas de pudrición foliar.

La aplicación de fertilizantes es una práctica universal en la producción de cosechas comerciales. Los macro y

microelementos han estado asociados con los cambios en el nivel de la enfermedad y tamaño de las plantaciones (Engelhard, 1989). La nutrición tiene un efecto importante en la defensa de las plantas ante el ataque de las enfermedades.

Huber (1980), dice que la defensa de las plantas ante el ataque de las enfermedades depende del vigor general que tengan, así como el desarrollo fenológico que presentan. Plantea que si se tienen plantas con estrés por nutrimentos estas generalmente son más susceptibles a las enfermedades.

Si las plantas reciben elementos minerales en exceso, pueden también predisponerse al ataque de las enfermedades; por lo tanto, es necesario balancear la nutrición de las plantas buscando el nivel óptimo.

Bedi y Dhiman (1973), señalan que la nutrición mineral del hospedero, es un importante factor ecológico que afecta el desarrollo de enfermedades en las plantas. Los elementos minerales están directamente involucrados en todos los mecanismos de defensa, ya que son componentes integrales de células, substratos y enzimas además de actuar como inhibidores y reguladores del metabolismo. Fry (1982), afirma que un nutrimento específico puede promover el desarrollo de una enfermedad, mientras que otros pueden reducirla.

El Ca tiene considerable influencia sobre varias especies de patógenos (Huber, 1980). Menciona también que *A. solani* depende del hospedero y de las condiciones ambientales.

Existe un efecto del pH del suelo en la mineralización del P orgánico; el efecto normal es que se produzca un incremento en la mineralización del P cuando el pH aumenta. El efecto del pH del suelo en la mineralización del P orgánico puede explicarse por la teoría que todo incremento del pH reduce la absorción de los compuestos de P orgánico y por lo tanto, aumenta su solubilidad y susceptibilidad a la mineralización (Black, 1975).

El encalado tiene diferente efecto sobre la disponibilidad de P, pequeñas aplicaciones con carbonato de Ca son a menudo beneficiosas y en cambio cantidades demasiado altas resultan perjudiciales, sin que éste efecto sea permanente.

El beneficio consiste en que al subir el pH del Ca favorecen la disponibilidad de P, sin embargo, en cantidades excesivas resulta perjudicial (Black, 1975).

Corrientemente la cal se incorpora dentro de los 15 cm superiores del suelo, varios días antes de la siembra. Generalmente, esta es la mejor manera de hacer las aplicaciones, pero hay ocasiones en que no es posible arar y otras en que una incorporación más profunda es beneficiosa (Sánchez, 1981).

Los problemas de acidéz del suelo están asociados con niveles de pH menores de 5,5 y la presencia de Al intercambiable en el suelo. Las dosis de encalamiento pueden calcularse con base en 1,65 ton/ha de equivalente de CaCO_3 por $\text{cmol}(+) \text{Kg}^{-1}$ de Al intercambiable, con el objeto de subir

el pH del suelo (alrededor de 5,5, a 6,0) y reducir la saturación de Al. En algunos suelos las aplicaciones adecuadas de cal pueden tener efecto residual a largo plazo, y relativamente cortos en otros.

El encalamiento a niveles de pH mayores de 6 ó 7 puede disminuir seriamente los rendimientos, particularmente en suelos altos en óxidos de Fe y Al. El encalamiento hasta la neutralidad puede causar deterioro estructural, reducir la disponibilidad de P e inducir deficiencias de Zn, B y Mg (Sánchez, 1981).

2.7.1 Función del N, P y el Ca en las plantas

2.7.1.1 Función del Nitrogeno.

El nitrato es el elemento más crítico en el crecimiento de las plantas. Puede ser utilizado por las plantas en forma de catión (NH_4^+) ó en forma de anión, (NO_3^-). Sólo una pequeña parte del nitrógeno del suelo está presente en estas formas. En forma de nitrato es lavado fácilmente y en ambas formas amonio y nitrato, puede ser consumido por microorganismos ó convertido a gas (N_2 ó NH_3 respectivamente), originando la pérdida a la atmosfera.

La mayoría de los iones de amonio son oxidados por bacterias selectivas (Nitrosomas y Nitrobacterias, principalmente) a la forma de nitrato (NO_3^-). Esta oxidación de amonio a nitrato por las bacterias se denomina nitrificación. La forma más lixiviada de nitrogeno es en

nitrate (NO_3^-). Los iones de amonio y nitrato son muy solubles en agua, pero el ión amonio cargado positivamente es retenido en los lugares de intercambio catiónico, resistiendo el lavado. Las pérdidas por lavado aumentan a medida que aumenta la cantidad de agua percolada y cuando existe poca ó nada de cubierta vegetal se encuentra para utilizar los nitratos tan rápido como ellos se producen por nitrificación.

2.7.1.2 Función y disponibilidad del Fósforo.

El fósforo se encuentra en las plantas formando parte de los ácidos nucleicos, fosfolípidos de los coenzimos NAD y NADP y, lo que es especialmente importante, como parte integrante del ATP. Varios factores influyen sobre la disponibilidad del fósforo. Entre ellos, los más importantes son: 1) pH de la solución de suelo. 2) Hierro y aluminio en forma disuelta. 3) Calcio disponible. 4) Intercambio aniónico y presencia de microorganismos.

El fósforo es fácilmente absorbido por las plantas en forma iónica. Sin embargo el fosfato sufre una intensa adsorción, lo cual limita la aportación de fosfato a las plantas. El hierro y aluminio en forma disuelta en condiciones de acidéz, pasan a forma disuelta de sus correspondientes sales de hierro y aluminio, forma de fosfato imposible de asimilar por parte de las plantas (Devlin 1975). Según Black (1968), el fósforo tiene efectos positivos sobre la incidencia de las enfermedades en las plantas,

principalmente sobre aquellas enfermedades causadas por hongos. Agrega que la prevalencia de las pudriciones de raíz causadas por hongos es mayor en las plantas con una deficiencia en el suplemento de P que en las que tienen un alto suplemento de éste nutrimento. Huber (1980) informa que en enfermedades provocadas por patógenos del suelo, como la pudrición de la raíz del trigo causadas por *Pythium sp*, el fósforo produce efectos positivos en la defensa de la planta.

2.7.1.3. Funciones y disponibilidad del Calcio.

Un papel muy importante desempeñado por el calcio en las plantas es su participación en las paredes celulares en forma de peptato de calcio. La lámina media de las membranas celulósicas de las células vegetales está formada básicamente por peptatos de calcio y magnesio, (Donahue, 1981). Juega un rol crítico en la división celular, desarrollo celular, movimiento de los carbohidratos, neutralización de los ácidos celulares, deposición de la pared celular, y formación de sales de peptato en la lámina (Huber, 1980). El Ca es relativamente inmóvil. Los tejidos maduros pueden tener grandes concentraciones de Ca, mientras que los tejidos jóvenes son deficientes; la deficiencia de Ca se caracteriza por un tallo fino y poco desarrollo de las raíces, resecamiento de todos los brotes en desarrollo, muerte de los puntos de crecimiento, podredumbre apical de los frutos, y amarillamiento en el ápice de las hojas.

Las hojas de plántulas se distorcionan y desarrollan amarillamiento, así como áreas intervenales con amarillamiento marcado. En plantas maduras los márgenes de las hojas más jóvenes se tornan de color marrón, y algunas amarillas entre las venas. El punto de crecimiento muere y las flores no desarrollan.

El Ca disminuye la toxicidad de Al, B, Mn y además interactúa con otros elementos (Huber, 1981). En general el Ca es el catión de intercambio más importante que existe en suelos fértiles (Marshall, 1951). El Ca puede reaccionar con las tres formas de ión fosfato para dar las tres sales correspondientes, fosfato monocálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Debido a su solubilidad en agua, el fosfato monocálcico representa una forma de fósforo absorbible por la planta.

El Ca se mueve dentro de la planta en el xilema; la no redistribución de Ca en la planta provoca deficiencia localizada (Kelman, 1989). Se ha determinado mediante trabajos realizados que los cambios en la concentración de Ca ejercen influencia para moderar la severidad de las enfermedades causadas por hongos y bacterias en varios cultivos. La aplicación de Ca afecta la suavidad de los tejidos en pepinillos y la integridad de la pared celular del pepino; en papa ha reducido el desarrollo de la mancha marrón de los tubérculos, además reduce la severidad de enfermedades abióticas (Kelman, 1989).

2.6. Acción de la cal

Una de las principales razones del establecimiento de condiciones ácidas es la pérdida de cationes intercambiables y la predominancia de iones hidrógenos y aluminio intercambiables. La adición de cationes como Ca y Mg, puede limitar la acidéz del suelo, y al mismo tiempo aportar elementos necesarios para el suelo. El modo más efectivo y económico de regular el pH del suelo consiste en la aplicación de cal. La cal es para el agricultor cualquier compuesto que contenga Ca ó Mg capaz de contrarrestar los efectos contraproducentes de un suelo ácido (Millar et al, 1951).

Con la adición de compuestos calizos, como el carbonato cálcico (CaCO_3) ó el óxido de calcio (CaO), buena parte de los iones hidrógeno son sustituidos por iones de calcio. Los iones hidrógeno liberados pasan a formar agua. El resultado final es un aumento de pH y un incremento en el suministro de iones de calcio intercambiables. Encalar un suelo ácido hasta que alcance un pH alrededor de 6,5 es deseable para mantener en alto grado de disponibilidad la mayoría de los nutrimentos requeridos por las plantas.

La práctica de encalar los suelos hasta alcanzar la neutralidad no es efectiva, ya que resulta en un descenso en la producción, ocasionado por la deficiencia de nutrimentos tales como hierro, cobre zinc, boro y por disminución en la disponibilidad de fósforo (Bonnet, 1968).

Los efectos de la cal sobre el suelo, pueden ser clasificados en: efectos físicos, químicos y biológicos.

Efectos físicos. En suelos arcillosos las partículas muy finas tienden a asociarse más cerradamente, formando una granulación más favorable. En suelos ácidos, estructura granular favorable. Incorporando la cal al suelo hay un efecto estimulante sobre plantas de raíces profundas (Buckman, 1966).

Efectos químicos. Reducción de la acidez. Encalando suelos ácidos se mejora su aprovechamiento y las plantas asimilan elementos tales como molibdeno, fósforo, calcio y manganeso. -Reduce drásticamente la concentración del hierro, aluminio y magnesio, los cuales bajo condiciones muy ácidas, pueden estar presentes en cantidades tóxicas. Otros efectos químicos son: 1.- La concentración de los iones H disminuye. 2. -La concentración de los iones OH aumenta. 3.- La solubilidad de Fe, Al y Mn disminuye (Buckman, 1966).

Efectos biológicos. -La cal estimula el metabolismo general de los organismos heterótrofos del suelo.

! - Incrementa la actividad de la materia orgánica y del nitrógeno en un suelo ácido. -Estimula los procesos enzimáticos. - Favorece la formación de humus. y aumenta la eliminación de algunos productos intermedios orgánicos que pueden ser tóxicos a las plantas superiores. -Muchos organismos favorables del suelo, así como los desfavorables son favorecidos por el encalado.-Estimulo de las bacterias fijadores del nitrógeno del aire (Buckman, 1966).

3. MATERIALES Y METODOS.

3.1. Localización

El trabajo se realizó en uno de los invernaderos del CATIE. El CATIE se encuentra localizado en el cantón de Turrialba, provincia de Cartago, Costa Rica. Está ubicado a 9° 52' latitud Norte y 83° 38' latitud Oeste, presenta una elevación a 590 msnm.; precipitación pluvial promedio anual de 2479 mm, temperatura promedio anual de 22 °C, máxima de 27 °C, y una mínima de 17,8 °C. La humedad relativa es de 87 %, y la radiación solar promedio mensual de 11822 cal/cm² (Jiménez, 1988). Durante el período del experimento, los valores promedios de temperatura y humedad relativa registrado bajo la cámara húmeda durante el tiempo de la inoculación fueron de 24,2 °C y 89,3 % respectivamente con una temperatura mínima de 23 °C y una máxima de 28 °C. La humedad relativa mínima fué de 51,2 % y la máxima de 99,1 % (Cuadro 1).

Cuadro 1. Condiciones climáticas registradas durante el período del experimento (Enero-Junio de 1991).

FACTOR CLIMA	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
To prom. diaria (oC)	20,5	20,3	22,2	22,0	22,5	22,8
Precipitación (mm/mes)	19,4	200,6	41,3	180,3	229,3	325,5
Humedad relativa diaria (%)	85,6	85,3	81,6	85,2	89,9	88,4
Radiación solar (us/cm2/día)	15,3	16,0	21,7	17,7	14,1	16,0
Brillo solar (hr)	4,54	4,80	7,29	4,92	3,13	3,94

3.2. Material experimental usado en invernadero.

Los materiales utilizados en las pruebas de invernadero fueron los siguientes: Dos suelos, los cuales pertenecen a la Serie Instituto del CATIE, clasificados como Isohyperthermic, halloysitic Typic Humitropept (Aguirre, 1971). El cultivar de tomate fué Dina guayabo, originario de Panamá y mejorado por su buena adaptación al trópico húmedo costarricense. Como fuentes de Ca se usaron el carbonato, fosfato (0-46-0) y nitrato. Para la inoculación se usaron esporas de *A. solani* y cámara húmeda.

3.3. Metodología para el aislamiento de *A. solani*

Se utilizaron muestras frescas de plantas y frutos de tomate con síntomas claros de tizón temprano, recolectados en el campo. Se seleccionaron las hojas más representativas infectadas de las plantas de tomate; se lavaron con agua corriente durante 5 min. Se tomaron pequeños trocitos del tejido entre la parte sana y la enferma; los mismos fueron sumergidos en NaClO al 1 % durante 30 segundos; se pasaron dos veces en vidrios Siracusa con agua destilada.

Luego se secaron en un papel filtro; con el uso de una pinza estéril, se tomaron los trocitos de tejido y se colocaron en un plato de Petri con un medio de cultivo agar-agua (39 gramos de agar, 1 litro de agua).

Posteriormente se transfirió el material de siembra a un medio de cultivo jugo V-8, compuesto por 200 ml de jugo Campbell's Soup Company, 2,5 g de agar y 800 ml de agua

destilada, autoclavado a 121 °C durante 15 min. Una vez hecha la siembra en el medio de cultivo, las cajas de Petri que contenían el medio de cultivo fueron selladas y colocadas a temperatura ambiente hasta que el hongo se desarrollara por completo.

3.3.1. Esporulación del hongo

La inducción de esporulación del hongo se llevo a cabo mediante el método de luz ultravioleta combinado con el método de Dhingra y Sinclair (1985), y consistió en lo siguiente: -Los aislamientos de *A. solani* obtenidos en medio de cultivo de jugo V-B fueron colocados bajo un chorro suave de agua durante 24 horas con la finalidad de que se lavara todo lo que estuviera bien adherido al medio de cultivo.

Después de las 24 horas se eliminó toda el agua de las cajas y se expusieron por un período de 12 h a luz ultravioleta y 12 h en la oscuridad. Este tratamiento se mantuvo durante 3 días. Una vez que las esporas del hongo presentaron suficiente desarrollo, fueron cosechadas, lavando la superficie del medio con agua destilada, utilizando una pipeta y colectendolas en un vaso de precipitado, para luego preservarlas en el refrigerador.

Para obtener la suspensión a la concentración requerida, el inóculo se centrifugó en el momento de la inoculación a 3000 rpm durante 20 min. Posteriormente, se realizó el conteo de las esporas de *A. solani* usando un hematocímetro.

3.4. Manejo del experimento

3.4.1. Tratamientos

Los tratamientos utilizados correspondieron a las diferentes fuentes y niveles de Ca (Carbonato, Nitrato y Fosfato de Ca). Se utilizaron dos tipos de suelo previamente caracterizados y desinfectados con bromuro de metilo en dosis de 1 lb./m³; los datos correspondientes a dichos análisis aparecen en el cuadro 2.

Para determinar el contenido de nutrimento en las hojas de tomate, se realizaron los análisis de tejido vegetal, los cuales se hicieron en el laboratorio de suelo del CATIE, basados en la metodología propuesta por Muller (1969).

Los elementos que se determinaron mediante estos análisis fueron: N, P, Ca, Mg, K, (%).

Se utilizó una selección del cultivar comercial de tomate "Dina Guayabo" de crecimiento determinado; caracterizada como una variedad susceptible a la enfermedad. Los tratamientos ya mencionado, fueron aplicados al suelo días antes de la siembra, para dar oportunidad de que fuera absorbido por el suelo. En el caso del CaCO₃ esto se hizo de la siguiente manera: al suelo ya depositado en maceta de 2 Kg, se le adicionaron los niveles de Ca correspondientes (0, 1,2, 2,4, y 3,6 g de Ca/maceta de 2 Kg), revolviendo el suelo con el tratamiento en una bolsa plastica, hasta que el Ca se distribuyera u homogenizara con el suelo. Luego se dejó aplicado por un periodo de 20 días antes de la siembra.

En cuanto al nitrato de Ca se aplicó cuatro días antes de la siembra. El fosfato (0-46-0) al igual que el carbonato se aplicó al suelo ya depositado en las macetas plásticas igual que el carbonato. El nitrato se aplicó en forma de solución disuelto en agua. La aplicación foliar de nitrato de Ca se hizo en los estados de prefloración y floración del cultivo. Los niveles utilizados para aplicación foliar fueron: 0, 8, 16, y 24 g/l de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Fertilización: a los 20 días después de la siembra, se hizo una fertilización común del fertilizante compuesto 10 - 30 - 10, en dosis de 150 kg/ha y a los 40 días se aplicó urea (46 % de N) a razón de 200 kg/ha.

Control de Insectos: para combatir la presencia de la mosca blanca *Bemisia tabaci*, se hizo aplicación de malathión, haciendo dos aplicaciones a los 30 y 45 días después de la siembra, a una dosis de 2 cc/l.

Cuadro 2. Análisis de los Suelos usados en el experimento, efectuado antes de la siembra del tomate.

Suelo	pH H ₂ O	Ca	Mg Cmol(+)L-1	K	Ac.Int	M.O.	P	S	Cu	Zn	Mn mg L-1
Montaña	4,6	2,9	1,0	0,4	1,1	43	10	60	29	3,4	38
Cabiria	6,5	15,0	3,3	1,2	0,2	88	56	20	37	30,0	80

Análisis de Textura

Suelos	% Arena	% Limo	% Arcilla	Textura
Montaña	24	30	46	Arcilloso
Cabiria	34	28	38	Fco-Arcilloso

Combate de enfermedades: en el caso de los ensayos 2 y 3, a los 40 días después de la siembra la presencia de *Phytophthora infestans*, y *Cladosporium sp.*, afectaron algunas hojas. El *Phytophthora* fué totalmente controlada con aplicaciones de Ridomil en dosis de 2,7 g/l de ingrediente activo.

Las aplicaciones se hicieron a los 40, 48 y 55 días después de la siembra, de igual manera se hicieron aplicaciones de mancozeb para el control de *Cladosporium* el cual fué poco controlado.

3.4.2. Inoculación

Antes del establecimiento del ensayo se hizo una prueba para seleccionar el método de inoculación más apropiado para *A. solani*.

La prueba consistió en: -primero inocular plantas de tomate poniendo una gota de la suspensión del inóculo de *A. solani* en la hoja de tomate; -segundo poner un disco de papel de filtro impregnado de la suspensión del inóculo.

A pesar de que no hubo diferencias significativas entre los dos métodos de inoculación usados, se seleccionó el método de disco porque se considera más seguro para el manejo de las plantas inoculadas.

Las plantas fueron inoculadas a los 60 días después de la siembra, con una suspensión de 8,000 conidias/ml de *A. solani*, las cuales se obtuvieron mediante el método ya mencionado.

La inoculación se realizó colocando un disco de papel filtro impregnado de la suspensión del patógeno, en el penúltimo trifolio de las hojas bajas y penúltimo de las hojas superiores de la planta

Las plantas fueron colocadas sobre las mesas y sobre éstas se armó una cámara húmeda constituida por un armazón de madera, sobre el cual se puso un plástico transparente y un humidificador. El plástico fué retirado todas las mañanas para permitir aireación y colocado nuevamente por las tardes, para crear un ambiente de humedad. Esto se hizo durante 5 días consecutivos después de la inoculación.

3.4.3 Variables evaluadas.

Las variables evaluadas fueron la severidad del tizón temprano, la tasa de desarrollo de la enfermedad y el pH del suelo. La severidad se determinó por el tamaño de la lesión en mm^2 . La evaluación en las hojas se realizó los días 5, 7, 9 y 11 después de la inoculación.

Se tomaron dos diámetros a la mancha producida por *A. solani* en las hojas, con estos se calculó el área, para ver que porcentaje de las hojas resultó afectado, con base en el índice de área foliar.

En cuanto a la evaluación de la acidez, se midió el pH del suelo, y del suelo más fuentes. Esto se hizo antes y después de la aplicación de los tratamientos.

3.4.4. Descripción del ensayo.

Para mayor facilidad y manejo de los datos, el ensayo se dividió en tres etapas.

3.4.4.1 Primera etapa del ensayo.

Aplicación foliar de nitrato de calcio.

En esta se procedió a hacer aplicaciones al follaje utilizando como fuente ó enmienda el nitrato de Ca.

La aplicación de la fuente al follaje se hizo en los estados de prefloración y floración del cultivo. Los tratamientos utilizados fueron el resultado de la combinación estados fenológicos x niveles de aplicación (0, 8, 16, 24 g/l de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) x posiciones de las hojas.

El diseño experimental fué parcelas subsubdivididas con distribución en bloques al azar con 3 repeticiones y arreglo factorial $2 \times 4 \times 2$, donde el primer factor representa las fechas de aplicación, el segundo los niveles de las fuentes, y el tercero las posiciones de las hojas.

3.4.4.2. Segunda etapa del ensayo.

Aplicación de fuentes de Ca en suelo de baja fertilidad.

Esta parte consistió en hacer aplicaciones al suelo utilizando 3 fuentes de Ca (carbonato, nitrato y fosfato de Ca), los cuales fueron aplicados a 4 niveles diferentes,

(0, 1,2; 2,4; 3,6 g de Ca/maceta de 2 Kg de suelo).

Los tratamientos fueron aplicados en el estado de floración de las plantas, y consistieron en la combinación de

las 3 fuentes x 4 niveles x 2 posiciones para un total de 24 tratamientos por 3 repeticiones. El diseño fué en parcelas subsubdivididas con distribución en bloques al azar con 3 repeticiones y arreglo factorial 3 x 4 donde el primer factor representa los tipos de fuentes y el segundo factor los niveles de aplicación de las fuentes. Los bloques fueron colocados sobre mesas de madera en el invernadero. La toma de datos de severidad se hizo para dos posiciones de las hojas en cada planta, las que se consideraron como las subparcelas.

3.4.4.3. Tercera etapa del ensayo.

Aplicación de fuentes de Ca en un suelo fértil

En esta etapa se utilizaron como fuentes las mismas que se utilizaron en la segunda etapa (carbonato, nitrato y fosfato de calcio), pero ésta vez fueron aplicadas en otro tipo de suelo; en este caso se utilizó un suelo en buenas condiciones de fertilidad, el cual fué previamente caracterizado y desinfectado con bromuro de metilo en dosis de 1 lb/m^3 , para determinar la relación existente entre los dos suelo con el efecto del encalamiento sobre la severidad del tizón temprano en tomate.

Las aplicaciones se hicieron en el estado de floración de las plantas. Los tratamientos consistieron en la combinación de fuentes x niveles x posiciones para un total de 24 tratamientos por 3 repeticiones. El diseño experimental utilizado fué un parcela sub-dividida con distribución en

bloques al azar con 3 repeticiones y arreglo factorial 3 x 4 x 2, donde el primer factor representa tipos de fuentes y el segundo factor los niveles de aplicación de las fuentes.

Al finalizar los ensayos 2 y 3, se compararon los dos suelos (suelo de baja fertilidad, y suelo fértil), para ver el efecto de las fuentes en cada uno de ellos, con relación a la severidad de la enfermedad.

3.4.4.4. Unidades Experimentales.

Para la totalidad del ensayo se utilizaron macetas plásticas de 2 Kg de capacidad, conteniendo cada una 2 Kg de suelo. En cada maceta se sembraron 5 plantas de tomate para dejar 2 plantas por maceta. La unidad experimental estuvo representada por 3 macetas para un total de 6 plantas de tomate por parcela experimental.

3.4.5. Análisis de la Información.

Con la finalidad de dar una distribución uniforme a los datos, el análisis de la información se realizó sobre datos transformados por la ecuación $\ln(Y) = \ln(y) + rt$.

Los datos transformados fueron analizados por medio de regresión lineal, con la cual se determinó la pendiente de la recta para cada uno de los tratamientos.

Es importante señalar que aunque *A. solani* es un patógeno policíclico, el modelo de ecuación utilizado corresponde a un patógeno monocíclico debido a que se trabajó bajo condiciones controladas para un sólo ciclo.

Los resultados de la información obtenida para la media de los tratamientos se analizaron a través de análisis de varianza factorial, para estudiar las interacciones y los efectos de los factores. Esto se hizo empleando el paquete estadístico SAS disponible en el centro de cómputo del CATIE.

4. RESULTADOS

4.1. Efecto de la aplicación foliar de nitrato de Ca sobre el control de *A solani* en tomate.

Las variables evaluadas fueron: severidad de *Alternaria solani*, expresado como tamaño de la lesión en mm²; tasa de desarrollo de la enfermedad (r).

Los factores analizados para éste ensayo, fueron: estados de las plantas (prefloración y floración), niveles de aplicación de Ca (0, 8, 16, y 24 g/l) y posiciones de las hojas inoculadas (hojas inferiores y superiores de las plantas).

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de varianza, se encontró que existe diferencias altamente significativas $P= 0.0001$, para las posiciones, en relación al grado de severidad expresado como el tamaño de la lesión en mm² en cada una de las hojas inoculadas, según lecturas realizadas cada dos días a partir del quinto día después de la inoculación. Este resultado fué consistente para las cuatro fechas (5, 7, 9 y 11 días después de la inoculación), en relación a las dos posiciones. La posición que resultó con menor tamaño de lesión correspondió a las hojas superiores (Fig. 1). También hubo diferencias significativas $P= 0.0038$, para las posiciones con respecto a la tasa de desarrollo de la enfermedad (r) (Fig. 2).

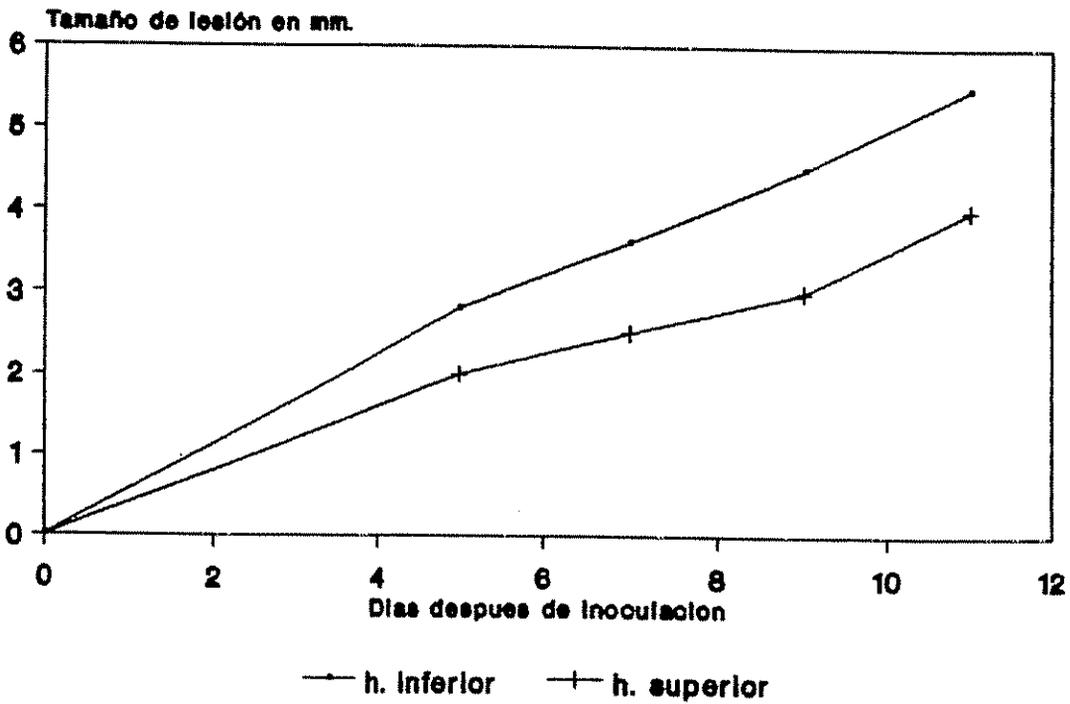


Fig. 1. Severidad de tizón temprano en tomate en función al tiempo. Comparación de dos posiciones de las hojas.

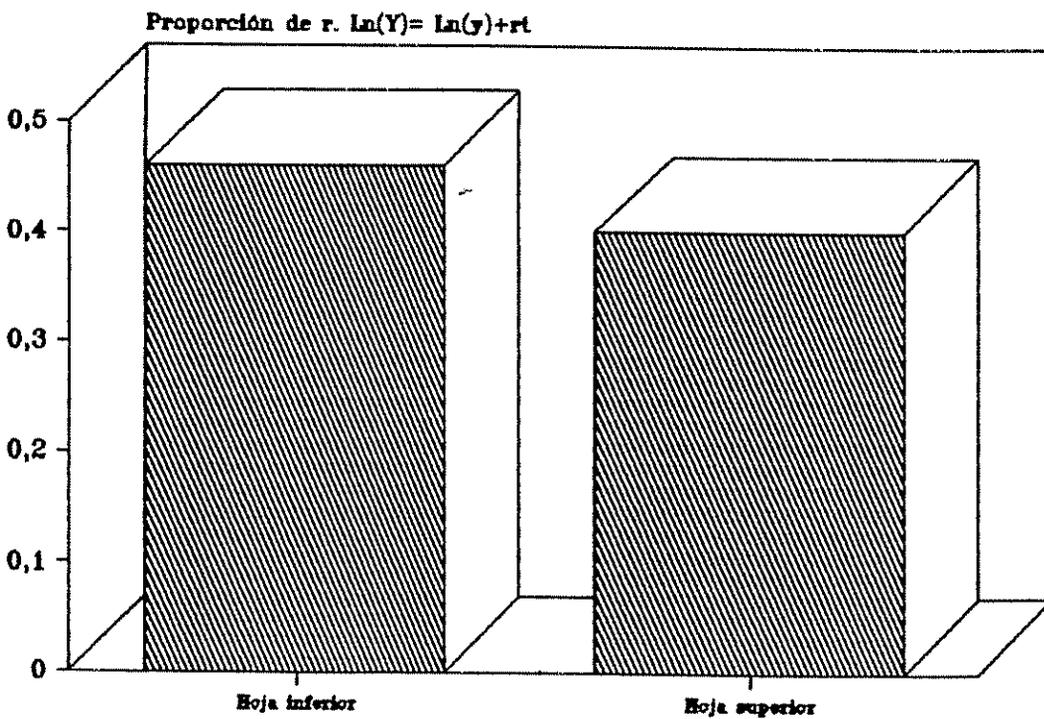


Fig. 2. Desarrollo de la enfermedad para las posiciones de de las hojas en la planta.

La tasa de desarrollo (r), presentó diferencias significativas $P=0.0241$, para la interacción estado*posición, en la cual se pudo observar una diferencia de comportamiento entre las posiciones con relación a los estados.

En el estado de prefloración, las hojas inferiores presentaron mayor desarrollo de la lesión que las hojas superiores, mientras que para el estado de floración, no se observó diferencia de comportamiento entre las posiciones, ya que el patógeno se comportó de igual manera en las hojas inferiores como en las superiores (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedios para la interacción estado*posición sobre la tasa desarrollo de la enfermedad (r), respecto a la aplicación foliar de nitrato de Ca.

Estado	Posición	* (r)
Prefloración	H. superior	0,36
Prefloración	H. inferior	0,46
Floración	H. superior	0,41
Floración	H. inferior	0,42

* (Promedios de datos transformados $\ln(Y) = \ln(y) + rt$)

En cuanto a la interacción estado*nivel*posición, (EST*NIV*POS), para la tasa de desarrollo (r), se encontró que el mayor desarrollo de la enfermedad se presentó para el estado de prefloración, hoja inferior, correspondiente a los testigos, en tanto que los demás tratamientos, tuvieron un

comportamiento similar, ya que no presentaron diferencias significativas. Al analizar la interacción mediante el método de regresiones, se pudo observar que para el estado de floración, hoja inferior, el comportamiento de la enfermedad presentó una relación lineal, pues a medida que se aumentaron los niveles de calcio disminuyó la tasa de desarrollo (r), pero hasta cierto punto, ya que a partir del nivel 3 (16 g/l), la curva comienza a aumentar (Fig. 3).

La ecuación de regresión que mejor explica esta relación es la siguiente: $r = 0,4683 - 0,0067 \text{ NC} + 0,002 \text{ NC}^2$.

* NC = nitrato de calcio (g/l).

4.2. Efecto del Carbonato, Nitrato, y Fosfato de calcio aplicados en un suelo de baja fertilidad.

Las variables evaluadas y la metodología utilizada fueron las mismas que en el ensayo 1. Los factores analizados fueron: fuentes (FUE), niveles (NIV) y posiciones (POS).

Al realizar los análisis de varianza, se encontró que para la severidad de *A. solani*, así como para la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), existe diferencias altamente significativas, entre las posiciones, hoja superior e inferior. En ambos casos la lesión fué menor para las hojas inferiores (Fig. 4).

En cuanto a la variable tamaño, a los nueve días después de la inoculación, se observó diferencias significativas, para la interacción fuente*posición.

La interacción fué analizada mediante comparación de medias, y se encontró que existe una diferencia de comportamiento entre las fuentes según las posiciones (Cuadro 4). Esta diferencia de comportamiento entre las fuentes según las posiciones es sustentada en la significancia de la interacción en el ANDEVA, ($P= 0.028$).

En las hojas superiores el nitrato de Ca dió un tamaño de lesión menor al de las demás fuentes (carbonato y fosfato de Ca). Mientras que para las hojas inferiores, la fuente fosfato de Ca fué la que mostró menor tamaño de lesión, el carbonato y el nitrato de Ca se comportaron en forma similar respecto a esta posición, ya que no mostraron diferencias significativas.

Cuadro 4. Promedios para el tamaño de lesión respecto a la interacción fuente*posición a los nueve días después de la inoculación (ensayo 2)

Fuentes	Posiciones	Tamaño lesión (mm ²)
H. Superior	Carbonato de Ca	3,9
	Nitrato de Ca	3,6
	Fosfato de Ca	3,9
H. Inferior	Carbonato de Ca	4,8
	Nitrato de Ca	4,8
	Fosfato de Ca	4,5

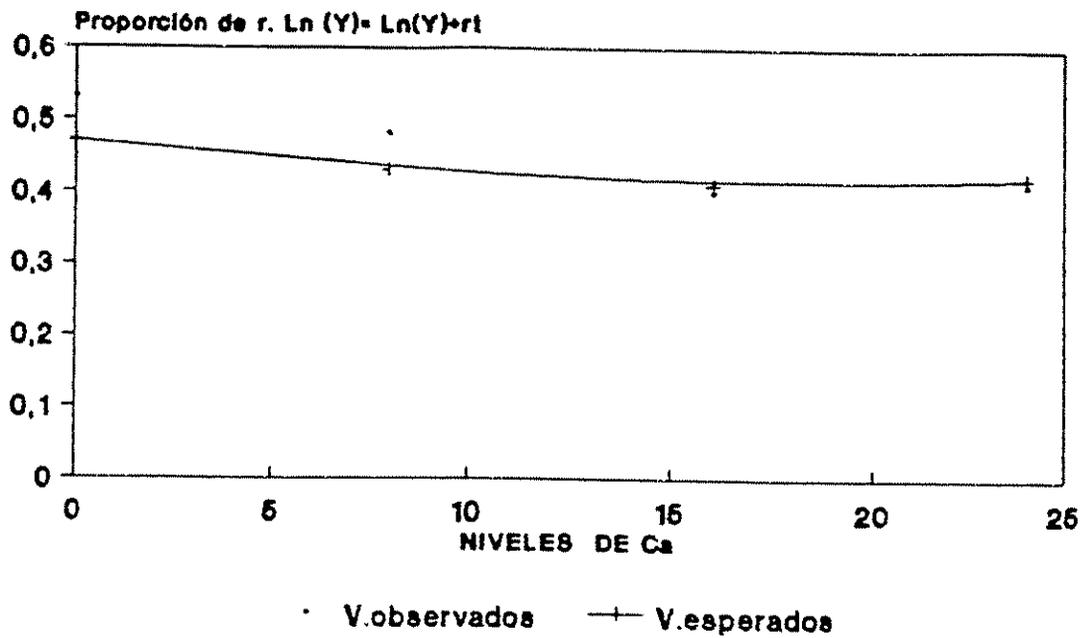


Fig 3. Desarrollo de *A. solani* en tomate en función a la aplicación foliar de cuatro niveles de calcio (n/l)

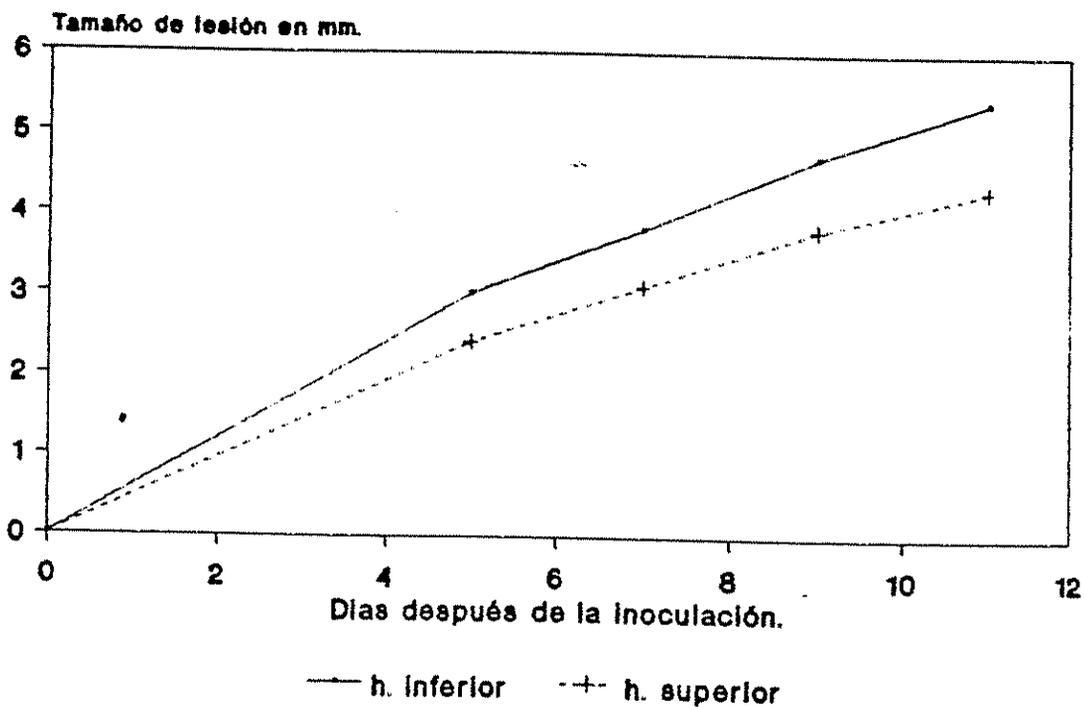


Fig.4. Severidad del tizón temprano en tomate en función del tiempo. Comparación de dos posiciones de las hojas

Con respecto al tamaño de lesión, a los 11 días después de la inoculación, según los análisis de varianza existe diferencia significativa para la interacción fuente*nivel (FUE*NIV), $P= 0.0367$.

Esta interacción fue analizada mediante regresión lineal, cuadrática y cúbica, y no fue posible encontrar el modelo que explique el comportamiento de las fuentes con relación a los niveles.

Se procedió a la comparación de medias, y se encontró que la fuente nitrato de calcio aplicado a una dosis de 1,2 g de Ca por maceta produjo mayor tamaño de lesión, mientras que la misma fuente a una dosis de 2,4 g de Ca por de 2 kg de suelo, produjo el menor tamaño de lesión (Cuadro 5).

La interacción fuente*nivel*posición, también presentó diferencias significativas $P= 0,0145$ para la variable tamaño a los 11 días después de la inoculación. En éste caso tampoco fue posible encontrar el modelo que mejor se ajustara para explicar el comportamiento de los tratamientos.

A cada uno de los factores se le hizo separación de medias, y se determinó que el mayor tamaño de lesión se produjo en las hojas inferiores, con la fuente fosfato de calcio aplicado a una dosis de 2,4 g por maceta; mientras que el menor tamaño se presentó para las hojas superiores, cuando se aplicó nitrato de calcio a una dosis de 2,4 g por maceta.

Cuadro 5. Promedios para los niveles de nitrato de calcio aplicados al suelo sobre el control de *A. solani* en tomate, a los 71 días después de la siembra.

Niveles de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Tamaño lesión (mm^2)
1 (0 g/maceta)	5,20 AB
2 (1,2 g/mac)	5,98 A
3 (2,4 g/mac)	4,53 B
4 (3,6 g/mac)	4,68 B

(Promedios de datos transformados $\text{Ln } Y = \text{Ln}(y) + \text{rt}$)

Promedios con iguales letras no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey (5 %).

4.3 Efecto de carbonato, nitrato, y fosfato de Ca aplicados a un suelo fértil.

Las variables evaluadas y la metodología utilizada fueron las mismas que en el ensayo 1 y 2. Los factores analizados fueron fuentes, niveles y posiciones. De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de varianza, no hubo efecto de los tratamientos en ninguna de las variables evaluadas. Con respecto al tamaño de lesión, resultó una interacción nivel*posición, con significancia $P = 0.0088$, para la fecha 1 (5 días después de la inoculación), y $P = 0.0255$ (7 días después de la inoculación). Mediante comparación de medias se observó que el comportamiento de la enfermedad para ambas fechas fué similar. Hojas inferiores mostraron tamaño de lesión sinificavamente mayor que las hojas superiores con

relación a los diferentes niveles de Ca. En las fechas 1 y 2 solo hubo diferencia significativa para la interacción N*P, en donde las hojas superiores resultaron con menor tamaño de lesión que las inferiores. El modelo que mejor explica el comportamiento de las posiciones según los niveles, corresponde a las siguientes ecuaciones

$$* Y = 0,1975 + 1,2909 NC - 0,2478 NC^2 \quad \text{para la fecha 1}$$

$$* Y = 0,9687 + 0,9556 NC - 0,1843 NC^2 \quad \text{para la fecha 2}$$

* NC = Niveles de Ca

Al hacer la comparación entre los dos suelos usados se encontró diferencias significativas $P=0.0001$ para el tamaño de la lesión; encontrándose que el tamaño de lesión fue mayor cuando se usó un suelo de baja fertilidad en comparación a un suelo fértil (Fig. 5).

4.4. Análisis foliar

Para determinar la concentración de Ca en las hojas y el efecto de éste sobre la disponibilidad de algunos elementos, se realizaron análisis de varianza para interpretar los resultados de análisis de tejido foliar obtenidos en el laboratorio de suelos del CATIE. Los resultados fueron los siguientes: hubo diferencia altamente significativa para la fuente de variación Ca con respecto a los diferentes niveles de nitrato de Ca aplicados al follaje. Según la ecuación de regresión el modelo que mejor explica el comportamiento del Ca, P y N en las hojas corresponde a una respuesta lineal (Fig. 6, 7, y 8).

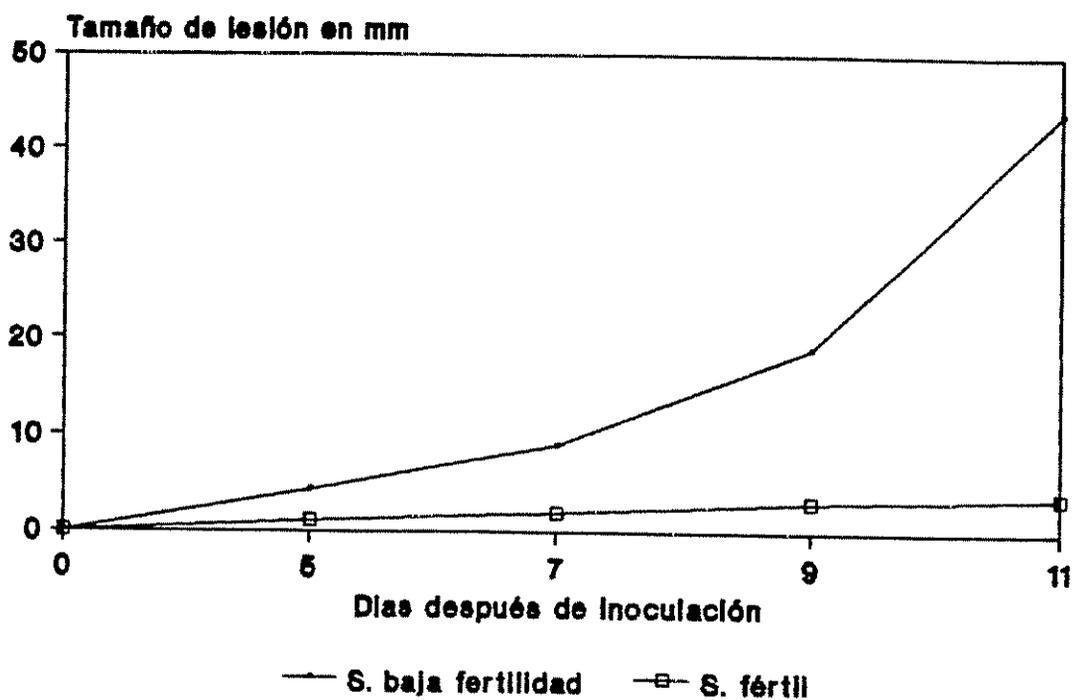


Fig.5. Severidad del tizón temprano en tomate. Comparación de dos tipos de suelo

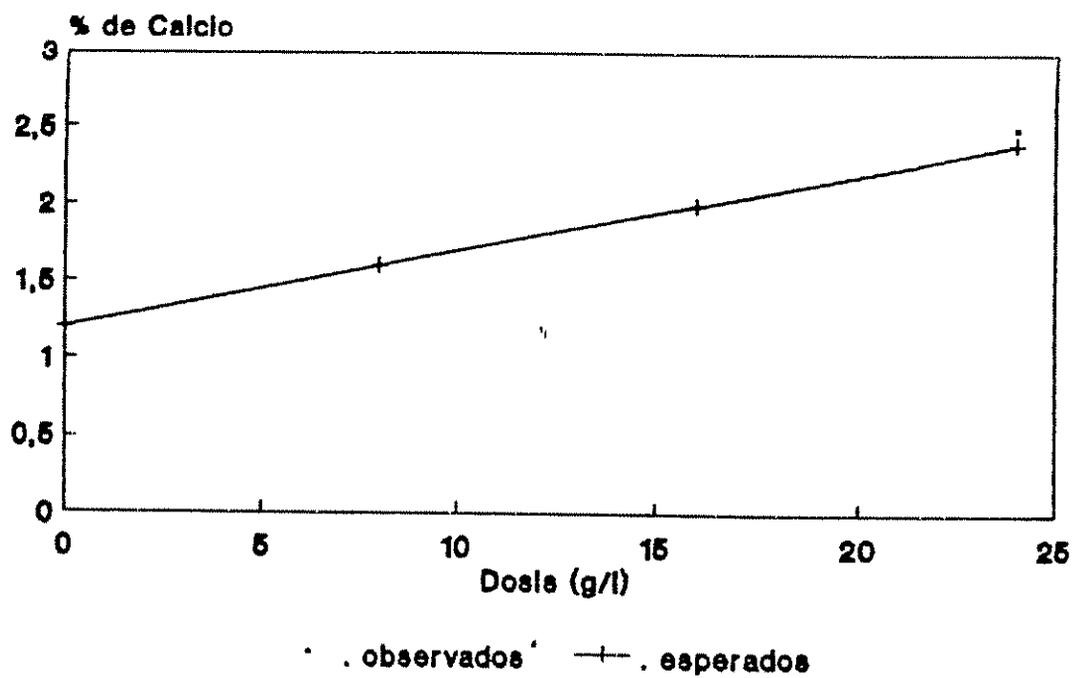
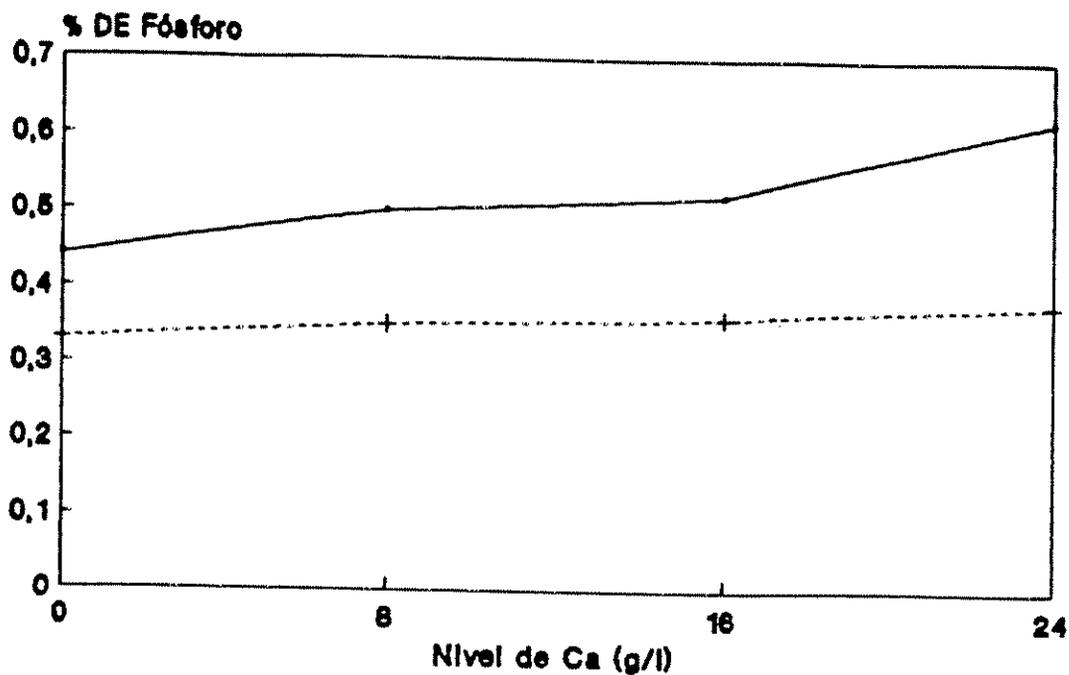
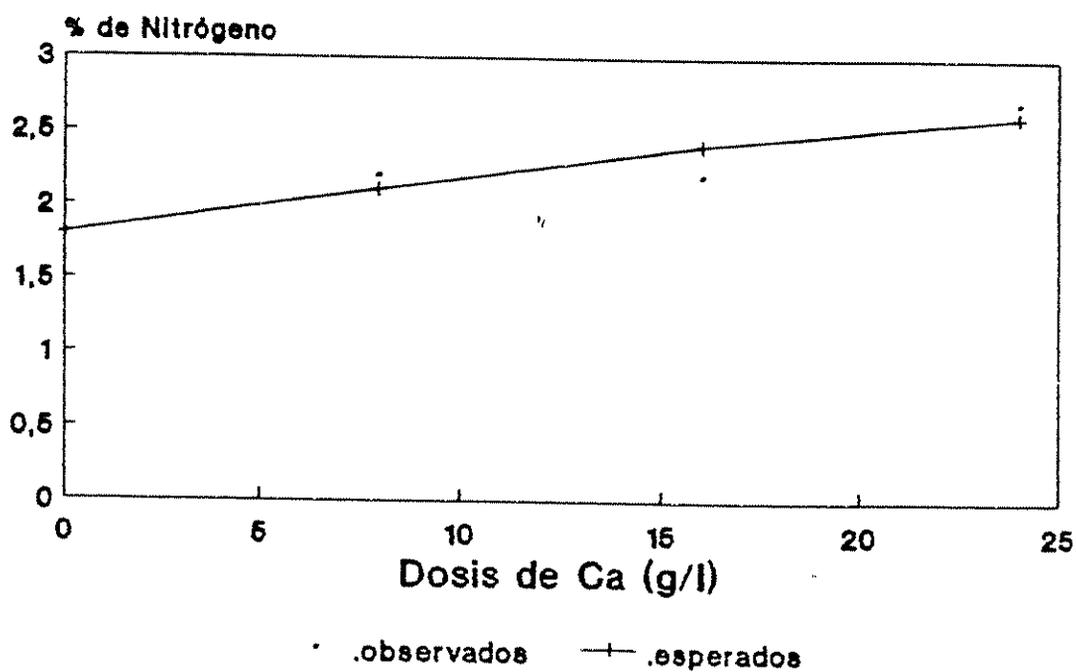


Fig 6. Contenido de Ca en hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de calcio



— PREFLORACION + FLORACION
 Fig. 7. Concentración de P en hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de Nitrato de Ca.



• observados + esperados
 Fig. 8. Contenido de Nitrógeno en hoja de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de calcio

Cuadro 6. Contenido de calcio en las hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de cuatro niveles de nitrato Ca.

Niveles	Dosis (g/l)	Ca (%)
1	0	1,2
2	8	1,6
3	16	2,0
4	24	2,5

El contenido de fósforo en las hojas también resultó significativo ($P= 0.0028$) en relación a los diferentes niveles de Ca (Cuadro 7 y fig.7).

Cuadro 7. promedios para el contenido de fósforo en las hojas de tomate, en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

Niveles	Dosis (g/l)	Fósforo (%)
1	0	0,40
2	8	0,40
3	16	0,46
4	24	0,50

La ecuación de regresión que mejor explica el comportamiento del calcio fosforo y nitrógeno en las hojas, corresponde a una respuesta lineal (Cuadro 8).

Cuadro 8. Modelo de regresión, para la concentración de fósforo, calcio y nitrógeno, en relación a la aplicación foliar de nitrato de Ca.

```

=====
                                MODELO
=====

* F F E 1 = 0,4400 + 0,0075 NC
* F F E 2 = 0,3327 + 0,0018 NC
* Ca = 1,2185 + 0,0511 NC
* N = 1,8160 + 0,0339 NC

=====

* F F E 1 = Fósforo foliar estado 1 (%)
* F F E 2 = Fósforo foliar estado 2 (%)
* Ca = Calcio (%)
* N = Nitrógeno (%)
* NC = Nitrato de calcio (g/l)

```

El contenido de nitrógeno en las hojas también tuvo una respuesta positiva en relación a la aplicación foliar de nitrato de calcio (Cuadro 9).

Cuadro 9. Promedios correspondientes al contenido de nitrógeno en las hojas de tomate en respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca.

Niveles	Dosis (g/l)	Nitrógeno (%)
1	0	1,8
2	8	2,2
3	16	2,2
4	24	2,7

Para la aplicación de fuentes a un suelo de baja fertilidad al igual que a otro fértil, el contenido de Ca en las hojas aumentó conforme se aumentaron los niveles de Ca. Fig. 9.

El contenido de nutrimento en las hojas, para los elementos P, N, K y Mg, no presentó diferencia significativa para las fuentes y los niveles de aplicación.

El contenido de fósforo en las hojas también aumentó conforme se aumentaron los niveles de Ca, pero este caso sólo se presentó cuando se aplicó nitrato de Ca al follaje.

Para la aplicación foliar de nitrato de Ca y de carbonato, nitrato y fosfato de Ca en un suelo de baja fertilidad y otro fértil, el contenido de Ca en las hojas aumentó progresivamente a medida que se aumentaron los niveles de Ca, como se puede observar en los cuadros 6 y 10.

En cuanto a la aplicación de fuentes de Ca al suelo, el contenido de N, P, K y Mg en las hojas, no presentó diferencias significativas, ya que se encontraban en concentración normal.

Cuadro 10. Promedio para el contenido de calcio en hojas de tomate en respuesta a cuatro niveles de Ca aplicados a un suelo no fértil y otro fértil.

Niveles	Dosis (g/maceta)	Contenido de Ca (%)	
		S. no fértil	S. fértil
1	0	1,1 A	2,7 C
2	1,2	1,5 AB	2,8 CB
3	2,4	1,6 AB	3,0 B
4	3,6	1,7 A	3,3 A

Medias con iguales letras no presentan diferencias significativas según Prueba de Tukey (5 %).

Cuadro 11. Efecto de la aplicación de diferentes fuentes y niveles de Ca sobre el pH en un suelo de baja fertilidad y un suelo fértil.

Fuentes	Dosis (g/l)	Acidez (pH en H ₂ O)	
		S. no fértil	S. fértil
Carbonato de Ca	0,0	4,7	6,5
	1,2	5,0	6,5
	2,4	5,4	6,7
	3,6	5,5	6,8
Nitrato de Ca	0,0	4,6	6,5
	1,2	4,8	6,6
	2,4	5,0	6,8
	3,6	5,6	7,1
Fosfato de Ca	0,0	4,6	6,4
	1,2	4,6	6,5
	2,4	5,1	6,8
	3,6	5,2	6,9

Como se puede observar en el Cuadro 11, fig. 10, a medida que se aumento el contenido de Ca en ambos suelos (S. no fértil, y S. fértil) hubo un incremento del pH, lo que produjo una reduccion del grado de acidez en dichos suelos.

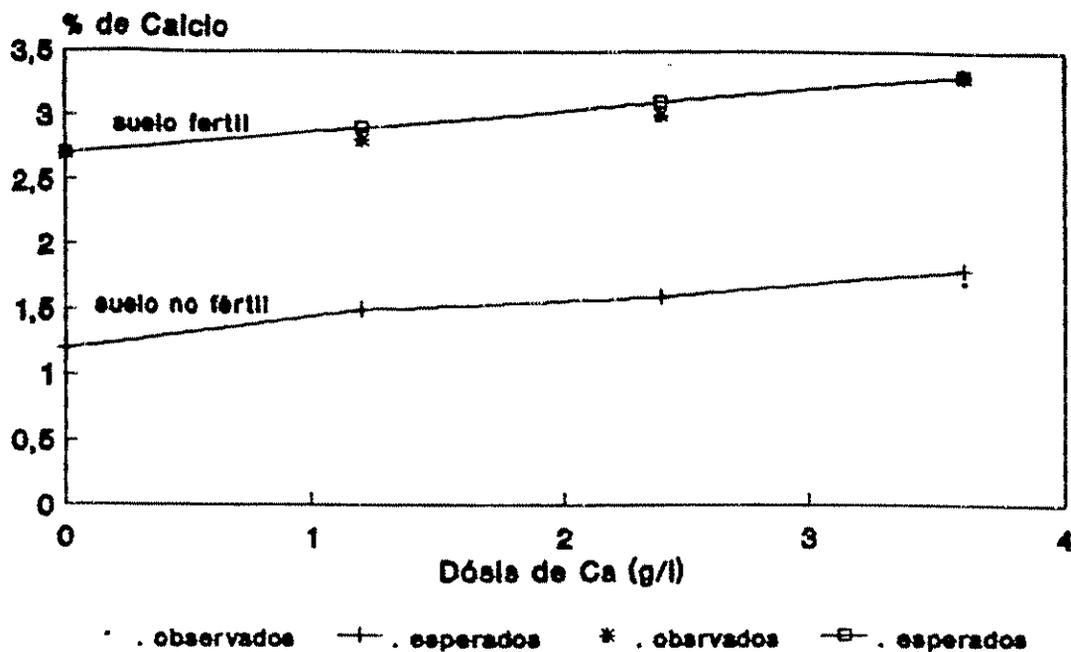


Fig 9. Contenido de Ca en hojas tomate en respuesta a la aplicación de Ca en un suelo no fértil y otro fértil.

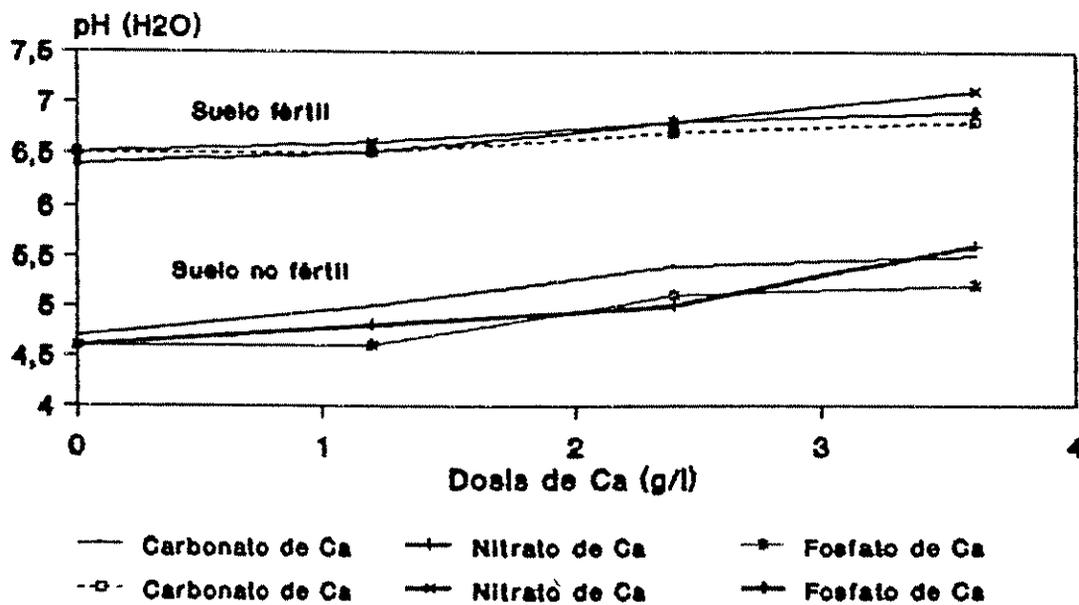


Fig 10. Efecto de la aplicación de Ca sobre el pH en un suelo de baja fertilidad y otro fértil.

5. DISCUSION DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos en ésta investigación es evidente que el Ca es un elemento que bajo ciertas condiciones tiene efectos importantes en la reducción del grado de severidad del tizón temprano (*A. solani*) en tomate cultivar "Dina Guayabo", evidencia basada en las observaciones realizadas cada dos días a partir del quinto día después de la inoculación del patógeno en las hojas.

Con relación a la aplicación foliar de nitrato de calcio, es importante señalar que para los estados de prefloración y floración se le hizo una modificación al método de inoculación ya que en el estado de prefloración se inocularon las hojas bajas de las plantas (h.inferiores), y debido al estado de deterioro en que se encontraban, se decidió cambiar de posición, tomando como hojas inferiores las hojas centrales de la planta en lugar de las hojas bajas. Sin embargo para las hojas superiores no se hizo ninguna modificación.

El promedio de los testigos para los estados no guarda ninguna similitud en cuanto a sus valores iniciales, ya que estos fueron muy diferentes, sin embargo el comportamiento de la enfermedad con respecto a la tasa de desarrollo fué el mismo. El estado de prefloración tuvo una media más baja que el estado de floración en cuanto al tamaño de lesión.

Bajo este resultado se concluye que el comportamiento de la enfermedad respecto a los estados, no se debió a la función del Ca, sino más bien al efecto de las condiciones iniciales de la inoculación en cada fecha, las cuales influyeron notoriamente sobre el tamaño inicial de la lesión, pero no en la tasa desarrollo de la enfermedad.

Para el estado de prefloración en las hojas inferiores se encontró una relación lineal con relación a los niveles de calcio, ya que a medida que se aumentaron los niveles de Ca hubo una disminución en la tasa de desarrollo de la enfermedad, pero a partir del tercer nivel (16 g/l de Ca) la curva comienza a subir nuevamente aumentando el tamaño de lesión.

El uso de las hojas centrales se tomó con base en los resultados obtenidos por Alas (1989), que indican que no hay diferencia cuando se usan hojas bajas en relación a hojas centrales.

Según análisis de varianza se observó que cuando los factores estado, niveles, y posiciones (Est*Niv*Pos) están asociados se obtienen resultados positivos sobre el desarrollo de la enfermedad. El menor desarrollo de lesión se obtuvo cuando se aplicó un nivel de Ca correspondiente a 16 g/l de nitrato de Ca. Estos resultados se relacionan con las dosis que generalmente se utilizan para hacer aplicaciones foliares de nitrato de Ca.

Engelhard (1989), reporta que al hacer aplicaciones de compuestos conteniendo calcio particularmente nitrato y sulfato de Ca sobre el control de *Sclerotium rolfsii* en tomate, se obtuvo una satisfactoria reducción de la enfermedad. También encontro que las aplicaciones de nitrato de calcio en tomate previa inoculación con *S. rolfsii* redujo el nivel de desarrollo de la enfermedad.

El mismo autor afirma que la fertilización con Ca reduce considerablemente la susceptibilidad del hospedero.

El efecto del nitrato de Ca se hizo notoriamente visible en las hojas superiores las cuales presentaron menor severidad y desarrollo de la lesión que las hojas inferiores.

Las afirmaciones de Kelman (1989) apoyan éstos resultados, cuando reporta que la aplicación de calcio afecta la suavidad de los tejidos y la integridad de la pared celular de algunos cultivos, como es el caso pepino y la papa. Las hojas jóvenes y en crecimiento activo tienen mayor grado de resistencia a la enfermedad, además la infección primaria aparece en el follaje más viejo cuando el cultivo se encuentra en la etapa próxima a la floración.

El incremento del nivel de calcio en los tejidos del huésped se presenta primeramente como pectato de calcio en la lámina media de la pared celular, lo cual podría convertir a los tejidos más tolerantes a la acción del patógeno y a la degradación enzimática. Por lo tanto se deja entender que el

efecto del nitrato de Ca sobre el control de la enfermedad, no se ejerce directamente sobre el patógeno, sino que se debe al efecto del nitrato que al aumentar la concentración de calcio en los tejidos vegetales, constituye una especie de barrera que hace que la planta presente cierto mecanismo de defensa ante el ataque del patógeno.

El Ca es esencial para la conversión de pectina a pectato de calcio en los tejidos de las plantas, y el pectato de calcio es resistente a la degradación por poligalaturonasa producida por algunos patógenos, además inhibe la actividad de la poligalaturonasa (Engelhard, 1989).

En cuanto a la aplicación de carbonato nitrato y fosfato de calcio como fuentes a un suelo ácido, no se observó diferencias estadísticamente significativas entre las fuentes, ni tampoco entre los diferentes niveles de calcio. No obstante cuando estos factores (FUE*NIV) estuvieron combinados se encontró efecto positivo sobre el tamaño de lesión causado por *A. solani*.

Al hacer la separación de medias, se encontró que el menor tamaño de lesión en las hojas de tomate se obtuvo con la aplicación de nitrato de calcio a una dosis de 2,4 g/maceta. De igual manera la interacción (FUE*POS), redujo significativamente el tamaño de lesión causado por *A. solani* en tomate. Se encontró que el menor tamaño de lesión se presentó para las hojas superiores cuando se usó nitrato de calcio como fuente al suelo aplicada a un suelo de baja fertilidad.

El carbonato y el fosfato de Ca tuvieron un comportamiento similar en las hojas superiores.

El menor tamaño de lesión para las hojas inferiores se obtuvo con la aplicación de fosfato de Ca. Tanto la severidad como la tasa de desarrollo del tizón temprano fué menor en las hojas superiores con relación a las hojas inferiores, las cuales presentaron mayor tamaño y desarrollo de lesión.

Estos resultados coinciden con los reportes de la literatura en donde se afirma que las hojas jóvenes y en crecimiento activo tienen mayor grado de resistencia a la enfermedad y que la infección primaria aparece en el follaje más viejo cuando el cultivo se encuentra en la etapa próxima a la floración. El desarrollo de la enfermedad en las hojas inoculadas aumentó progresivamente a través del tiempo, lo que nos indica un desarrollo normal de la enfermedad.

Como se pudo observar el nitrato de calcio resulto ser la fuente que combinada con los factores mencionados obtuvo mejores resultados sobre el control de la enfermedad.

La efectividad del nitrato, sulfato y otras fuentes de calcio, sobre el crecimiento de algunos patógenos como en el caso del hongo *S. rolfssii*, está influenciada por ciertas condiciones tales como textura del suelo, humedad, pH, dosis y métodos de aplicación (Punja, 1982).

Es posible que éste comportamiento de las fuentes se deba a que como el Ca es un elemento de muy poca movilidad en la planta, el carbonato no haya sido la fuente que obtuvo

mejores resultados. En cambio el nitrato de Ca como fuente resultó con mejores efectos sobre la severidad de la enfermedad; quizás esto se debe a que los nitratos son elementos muy solubles y por tanto el calcio haya sido absorbido y redistribuido en las plantas con mayor facilidad cuando usamos como fuente el nitrato de Ca. Otra posible razón por la cual el carbonato de calcio como fuente no haya sido la mejor, es el tiempo de aplicación, el carbonato fue aplicado 20 días antes de la siembra para su incorporación al suelo y por ende a la planta, como recomiendan algunos autores. Sin embargo otros como Sánchez (1981), reportan que en algunos suelos ácidos las aplicaciones adecuadas de cal pueden tener efecto residual a largo plazo, y relativamente corto en otros.

Bonnet (1968), considera que se obtienen mejores resultados con las fuentes o enmiendas calizas, cuando se aplica la cal por lo menos, 6 meses antes de la siembra.

Otros investigadores, han encontrado resultados positivos en la aplicación de Ca en el control de enfermedades.

Mercadal (1989), encontró que el Ca tiene un importante efecto sobre la disminución de la marchitez bacterial en tomate causado por *P. solanacearum*.

Rodríguez (1989), reporta que las fertilizaciones de Ca, P, y N, así como la incorporación de materia orgánica disminuyen la incidencia y severidad de enfermedades bacteriales y de algunos hongos, entre los cuales se encuentra *A. solani*.

Huber (1980), señala la influencia del Ca sobre varias especies de patógenos, menciona que en el caso de *A. solani* depende del hospedero y de las condiciones ambientales.

Alas (1989), afirma que las plantas con niveles adecuado de fertilidad presentan tolerancia a *A. solani*, pero que cuando se adiciona Ca esta tolerancia es mayor.

Cuando se aplicaron las fuentes en un suelo con buena fertilidad, el efecto de éstas como tal no se hizo visible, ya que todos los tratamientos tuvieron un comportamiento similar. Esta aseveración coincide con las afirmaciones de Bonnet (1968), quien cita que encalar un suelo ácido hasta que alcance un pH alrededor de 6,5 es deseable para mantener en alto grado de disponibilidad la mayoría de los nutrientes requeridos por las plantas. En cambio la práctica de encalar los suelos hasta la neutralidad no es efectiva, ya que resulta en un descenso en la producción ocasionado por la deficiencia de micronutrientes y por disminución en la disponibilidad de fósforo. Al comparar los dos suelos utilizados, se encontró diferencias altamente significativas con relación al tamaño de lesión y la tasa de desarrollo de la enfermedad (r).

El suelo con alto grado de fertilidad (suelo de Cabiria), redujo significativamente la severidad y la tasa desarrollo de la enfermedad en comparación con el suelo de baja fertilidad (suelo de la montaña). Los niveles de infección del patógeno así como los niveles de fertilidad de suelo y las condiciones del suelo al tiempo de la aplicación, influyen marcadamente

en la respuesta de los compuestos de Ca sobre el control de la enfermedad (Engelhard, 1989).

El pH del suelo aumentó considerablemente con las aplicaciones de calcio, como se observa en el cuadro 2A. Esto se corresponde con uno de los efectos químicos de la cal, tal como la reducción de la acidéz del suelo. Millar (1951), afirma que la adición de cationes de calcio y magnesio, puede limitar la acidéz de suelo, y al mismo tiempo aportar elementos necesarios para el suelo. Reporta que el modo más efectivo y económico de regular el pH del suelo consiste en la aplicación de Ca.

Los análisis foliares se realizaron con el objetivo de conocer algunos aspectos nutricionales de la planta en los estados de prefloración y floración respectivamente. Además con el propósito de conocer de que manera el calcio influye en algunos nutrimentos de la planta. Para el ensayo 1 (aplicación de nitrato de Ca al follaje), se encontró que el contenido de P, N y Ca en las hojas aumentó considerablemente conforme a la aplicación foliar de cuatro niveles de nitrato de calcio. La concentración de fósforo en estado de prefloración fué mayor que en estado de floración. Los niveles 0 y 8 g/l de Ca no presentaron diferencias significativas entre sí, pero sí con respecto a los niveles 16 y 24 g/l de Ca que a su vez fueron iguales, teniendo éstos la mayor concentración de Ca (Fig. 7).

Estos resultados difieren de los obtenidos por Alas (1989), quien encontró que el contenido de fósforo en las hojas disminuyó al aumentar los niveles de Ca. Mercadal (1989) reportó que al hacer aplicaciones de Ca, el N, P, Ca y Mg se hallaban en una concentración normal en el tejido vegetal. Aunque los resultados obtenidos en este experimento difieren de los obtenidos por los autores mencionados, coinciden con los reporte de otros autores quienes señalan que entre los efectos químicos de la cal está una mejor asimilación de ciertos elementos por las plantas, entre ellos el P, Ca y Mg (Firman, 1958).

Black (1975) reporta que el encalado tiene efectos diferentes sobre la disponibilidad de P, dice que pequeñas aplicaciones con carbonato de calcio son a menudo beneficiosas, en cambio cantidades demasiado altas resultan perjudiciales sin que éste efecto sea permanente.

El beneficio consiste en que al subir el pH del Ca favorece la disponibilidad del P, sin embargo en cantidades excesiva es perjudicial. La concentración de N en el tejido vegetal aumentó en respuesta a las aplicaciones foliares de nitrato de Ca. Buckman (1966) reporta que uno de los efectos biológicos de la cal es incrementar la actividad de la materia orgánica y del nitrógeno en suelo de baja fertilidad.

El contenido de Ca en las hojas también aumentó con la aplicación de Ca. La respuesta de Ca en las hojas fué consistente tanto para la aplicación foliar así como también para la aplicación de fuentes de Ca al suelo.

CONCLUSIONES.

Al interpretar los resultados obtenidos en la investigación, se concluye que:

1. En respuesta a la aplicación foliar de nitrato de Ca, los estados de prefloración y floración tuvieron un comportamiento similar con relación a la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), ya que no hubo diferencias significativas.

2. La severidad y la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), fué menor en las hojas superiores que en las inferiores, tanto para la aplicación de Ca al follaje., como para las aplicaciones al suelo.

3. En suelo de baja fertilidad las aplicaciones de Ca disminuyeron la severidad y la tasa de desarrollo (r) del tizón temprano, independientemente de la fuente y del nivel aplicado.

4. En cuanto a la aplicación de Ca al suelo, el menor tamaño de lesión se produjo en las hojas superiores con la fuente nitrato de Ca, a razón de 2,4 g/maceta, y para las hojas inferiores con el fosfato de Ca a una dosis de 2,4 g/maceta.

5. Con relacion a la aplicación de fuentes de Ca en un suelo fértil, no hubo efecto de tratamiento.

6. La severidad y la tasa de desarrollo de la enfermedad (r) de la enfermedad es mayor en suelo de baja fertilidad que en un suelo con alto grado de fertilidad.

7. El nivel de Ca más apropiado para corregir la acidez en el suelo ácido, de baja fertilidad fué de 2,4 g/ 2 kg, de suelo.

8. En cuanto a los análisis de tejido vegetal, las plantas en estado de prefloración presentaron mayor contenido de fósforo que en estado de floración.

9. El contenido de Ca, P, y N en las hojas aumentó progresivamente conforme se aumentaron los niveles de aplicación de nitrato de Ca.

10. La concentración de Ca, P, y N en las hojas presentaron una respuesta lineal ante las aplicaciones de Ca; a medida que se aumentaron los niveles de Ca, se incremento el contenido de nutrimentos en los tejidos vegetales.

11. El contenido de Ca en las hojas también aumentó en respuesta a las aplicaciones de fuentes al suelo.

7. BIBLIOGRAFIA

- AGRIDOS, G.N. 1985 Fitopatología. (México). Limusa. Mexico. 756 p.
- AGUIRRE, V. 1971. Estudio de los suelos del área del Centro Tropical de Enseñanza, e investigación, IICA. Turrialba C.R. Tesis Mag.Sc. Turrialba, C.R. 139 p.
- ALAS, J. A. 1989. Efecto del calcio y fósforo sobre la severidad del tizón temprano (*A. solani*) en tomate (*L. esculentum*) Tesis Mag.Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 90 p.
- ALONSO P. ; PALMA R., 1985. Diagnóstico parasitológico preliminar de los principales cultivos en El Salvador. San Salvador, MIP-CENTA-CATIE. 23 p.*
- BARNETT, H. L; HUNTER, B.B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Minnesota, Burgess Publishing. 241 p.
- BEAR, F. E. 1958. Suelos y fertilizantes. Barcelona Omega. 443 p.
- BEDI, P.S.; DHIMAN, J.S. 1983. Influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the development of early blight of tomato. Indian Phytopathology (India) 36 (3): 546 - 548.
- BLACK, C. A. 1968. Relación suelo - planta. Trad. del inglés por Armando Rabuffetti. Buenos Aires, Hemisferio Sur. p 676 - 678.
- BONNET, J. A. 1968. La ciencia del suelo. Rio Piedras, P.R. 233 p.
- CASSERES, E. 1984. Producción de hortalizas. 3 ed. San José, C.R., IICA. p 71 - 105.

- CASTAÑO, J. 1987. Principios básicos de la fitopatología. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano.
- CASTILLO, T. J. 1987. Micología general. México D.F. Limusa. 191 p.
- CATIE. 1989 Informe T U 87-5 Proyecto MIP, Turrialba, Costa Rica. 8 p.
- . 1986. Inventario de plagas y enfermedades de Costa Rica. CATIE (C.R.). Serie técnica. Informe técnico no. 80. 25 p.
- . 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba, C. R. 138 p.
- CHASE, A. R.; POOLE, R. T. 1986. Effects of fertilizer rate on severity of *Alternaria* leaf spot of three plants in the araliaceae. Plant Disease (EE. UU.) 70(12): 1144-1145.
- DE LEON, G; GORDON, E. 1983. Dina RPS IDIAP, (Panamá). Boletín informativo no 3, 8 p.
- DEVLIN, R. M. 1975. Fisiología vegetal. 2 ed. Barcelona Omega. 468 p.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J. B. 1985. Basic plant pathology methods. Boca Ratón, Fla. CRC Press. 355 p.
- DIAZ-ROMEO, R.; HUNTER, A. 1982. Metodología de suelos, análisis químico de suelos y tejido vegetal y de Investigaciones en invernadero. CATIE (C.R.). Serie Materiales de Enseñanza No 12. 60 p.
- DICKINSON, C. H; LUCAS, J. A. 1987. Patología vegetal y patógenos de plantas. México, Limusa. 309 p.
- DONAHUE, R. L. et al 1981. Introducción a los Suelos y al crecimiento de las plantas. Colombia, Prentice. 624 p.

- ECHANDI, E. 1971. Manual de laboratorio para fitopatología general. México, Herrero Hermanos. 59 p.
- ENGELHARD, A. W. 1989. Management of diseases with macro and microelements soilborne plant pathogens St. Paul, Minnesota. 217 P.
- FAO. 1985. Manual para patólogos vegetales. Santiago, Chile. 438 p.
- FRENCH, E, HEBERT, T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, C. R., IICA 289 p.
- FRY, W. E. 1982. Principles of plant disease management. Orlando, Fla., Academic Press. 242 p.
- GALINDO, J. J. 1982. Epidemiology and control of web blight of beans in Costa Rica. Ph.D. Cornell, Cornell University. 141 p.
- GONZALEZ, L. C. 1989. Introducción a la fitopatología. San José, C.R., IICA. 148 p.
- GRAHAM, R.D. 1983. Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. Advances in Botanical Research (EE UU) 10: 221-278.
- HERNANDEZ, T. A.; MONTOYA, R. 1983. Epidemiología cuantitativa aplicada al análisis de algunas enfermedades de cultivos tropicales. Perú, IICA. 49 p.
- HUBER, D. M. 1980. The role of mineral nutrition in defense in plant disease. Ed. por J.G. Horsfall; E.B.Cowling. New York, Academic Press. p 381 - 406.
- JIMENEZ, O. F. 1988. Resumen acumulado de datos agroclimáticos. Turrialba, Costa Rica, CATIE.

- JONES, J.R. 1991. Plant analysis handbook A practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide. Athens, Georgia, Micro-Macro Publishing. P. 173 - 175.
- KASS, D. 1985. Respuesta del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L), a aplicaciones de caliza y fósforo en suelos con alto niveles de aluminio y manganeso en la zona Atlántica de Costa Rica. In reunión anual del PCCMCA (31, 1985, San Pedro, Honduras). Memoria. Honduras, Secretaría de Recursos Naturales. V.3, p 165-176.
- KELMAN, A.; McGUIRE, R.; TZENG, K. C. 1989. Reducing the severity of bacterial soft rot by increasing the concentration of calcium in potato tubers. In Soilborne plant pathogens. Management of diseases with macro and microelements. Ed by A.W. Engelhard. St. Paul, Minnesota. p 102-107
- KIKUCHI, S. 1990. Manual ilustrado de cultivo práctico de hortalizas. 2 ed. Bogotá, Colombia 113 p.
- KRANZ, J.; SCHIMUTTRER, H. 1982. Enfermedades plagas y malezas de los cultivos tropicales. 722 p
- LAURENCE, M. A. 1969. Enfermedades de hortalizas. Zaragoza, España, ACRIBIA. 174 p.
- LEON, G. H. M. 1982. Enfermedades de cultivos en el estado de Sinaloa. Sinaloa, México, SARH. p. 124 - 125.
- LITTLE, T.; HILLS J. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. México, Trillas D. F, Trillas. 269 p.
- MANNERS J.G. 1986 Introduccción a la fitopatología. México, D. F, Limusa. 245 p.

- MENGEL, K; KIRBKY, E. 1987. Principles of plant nutrition. 4 ed. Bern, Switzerland, International Potash Institute 685 p.
- MERCADAL, R. 1989. Incidencia a marchitez bacterial en el Cultivo de tomate (*L. esculentum* Mill) en respuesta a niveles de estiercol y cal en Turrialba, C.R. Mag. Sc. Turrialba, C.R, CATIE. 115 p.
- MONTERROSO, S., D.; 1986. Aspectos generales del desarrollo agricola y los principales problemas fitosanitarios de los cultivos en la República de Honduras (a nivel de reconocimiento). CATIE (Hond. Serie técnica. Informe técnico 12. 61 p.
- PUNJA, S. K; CARTER, J. D; CAMPBELL, G. M. et al. 1986. Effects of calcium and nitrogen fertilizers, fungicides and tillage practices on incidence of *Sclerotium rolfsii* on processing carrots. Plant Disease (EE.UU.) 70 (9) 819 - 824.
- RAO, D. V. 1986. Suppression of symptoms of American leaf spot of coffee with calcium hidroxide. Plant Disease (EE.UU.) 72 (8) 688 -690.
- RODRIGUEZ, C. A. 1980. Persistencia de *Pseudomonas solanacearum* en suelos naturalmente infectados en Turrialba. Costa Rica. Tesis Mag.Sc. Turrialba, Costa Rica, UCR/CATIE. P 87
- SANCHEZ, P. 1981. Suelos del Trópico: Características y manejo. Trad del inglés por Edilberto Camacho. San José, C.R., IICA. 634 p.
- SPIEGEL, M. R. 1969. Teoría y problemas de estadística. 875 problemas resueltos. Colombia,. 358 p.
- STEEL, R. G.; TORRIE, J. H. 1988. Bioestadística. Principios y procedimientos. México, 622 p.

- SWALLOW, W. H. 1984. Abuso y mal uso de procedimientos estadísticos de separación de promedios- Prueba de Duncan, Diferencia mínima significativa. Plant Disease EE.UU. 68: 919 - 921.
- THURSTON, H. D. 1989. Enfermedades de cultivos en el trópico. Traducido por J. J. Galindo. Turrialba, C.R. CATIE 230 p.
- VANDERPLANK, J. E. 1984. Disease resistance in plants. 2 ed. Orlando, Fla., Academic Press. p 113-116.
- VERNA, L. C.; HERRERO F. J. 1952. Micología. Sus aplicaciones a la medicina y a la industria. Buenos Aires. Arg., El Ateneo 740 p.
- WILLS, W. H; MOORE, L. D. 1969. Calcium nutrition and black shank of tobacco. Phytopathology. EE.UU. 59: 346 - 351.

B. A N E X O S

Cuadro 1A. Promedios alcanzado por los testigos para los estados, en cada una de las fechas evaluadas y para la tasa de desarrollo de la enfermedad (r).

* FECHA (DDI)	ESTADO	NIVEL (g/l)	(%)
1 (5)	Prefloración	1 (0)	3.7
1 (5)	Floración	1 (0)	1.4
2 (7)	Prefloración	1 (0)	4.3
2 (7)	Floración	1 (0)	2.1
3 (9)	Prefloración	1 (0)	5.3
3 (9)	Floración	1 (0)	3.2
4 (11)	Prefloración	1 (0)	6.4
4 (11)	Floración	1 (0)	3.8
r	Prefloración	1 (0)	0.44
r	Floración	1 (0)	0.42

* DDI = Días después de la inoculación

Cuadro 2A. Preparación de medios de cultivo para el crecimiento y aislamiento de *A. solani*.

MEDIO	INGREDIENTES	CONCENTRACION
1 Agar Agua (AA)	Agar	39 g
	Agua	1 g
2 Agar V-B	Jugo V-B	200 cc
	Carbonato de calcio	2 g
	Agar	20 g
	Agua	800 ml

(1) Es un medio útil para aislar ficomicetes.

(2) Es muy útil para la esporulación de muchos hongos.

Cuadro 3A. Análisis de varianza para tamaño de lesión,
5 días después de la inoculación, y respecto
a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

FV	G L	S C	C M	F C	Pr >F
REP	2	0.2880	0.1440	0.20	0.8332
EST	1	74.0274	74.0274	102.9	0.0096**
REP*EST (Error A)	2	1.4382	0.7191		
NIV	3	1.0048	0.3349	0.80	0.5167
EST*NIV	3	0.5870	0.1957	0.47	0.7099
REP*EST*NIV (Error B)	12	5.0115	0.4179	2.11	0.0819
POS	1	6.1661	6.1661	31.1	0.0001**
EST*POS	1	0.0260	0.0260	0.13	0.7218
NIV*POS	3	0.2271	0.0757	0.38	0.7673
EST*NIV*POS	3	0.6272	0.2090	1.06	0.3954
ERROR C	16	3.1696	0.1981		
=====					
TOTAL	47			C.V. = 18.19	
=====					

Cuadro 4A. Análisis de varianza para tamaño de lesión a los 7 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F V	G L	S C	C M	F C	Pr >F
REP	2	0.3839	0.1919	44.16	0.0221
EST	1	67.4073	67.4073	15507.9	0.0001 **
REP*EST (Error)	2	0.0087	0.0043		
NIV	3	0.4825	0.1608	0.49	0.4434
EST*NIV	3	0.8863	0.2954	0.89	0.4731
REP*EST*NIV (Error B)	12	3.9734	0.3311		
POS	1	8.9644	8.9644	52.5	0.0001 **
EST*POS	1	0.0798	0.0798	0.47	0.5040
NIV*POS	3	0.6051	0.2017	1.10	0.3479
EST*NIV*POS	3	0.2989	0.0997	0.58	0.6342
ERROR C	16	2.7310	0.1707		
TOTAL	47				C. V = 13.07

Cuadro 5A. Análisis de varianza para tamaño lesión a los 9 días después de inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F V	G L	S C	C M	F C	Pr >F
REP	2	0.5660	0.2830	2.67	0.2724
EST	1	54.8739	54.8739	517.87	0.0019**
REP*EST (Error A)	2	0.2119	0.1060		
NIV	3	1.3887	0.4629	2.21	0.1396
EST*NIV	3	0.5757	0.1919	0.92	0.4622
REP*EST*NIV (Error B)	12	2.513	0.2094	1.57	0.1964
POS	1	8.0690	8.0690	60.59	0.0001**
EST*POS	1	0.1615	0.1615	1.21	0.2871
NIV*POS	3	0.2307	0.0769	0.58	0.6381
EST*NIV*POS	3	0.3412	0.1137	0.85	0.4848
ERROR C	16	2.1309	0.1332		
TOTAL	47				C. V = 9.02

Cuadro 6A. Análisis de varianza para tamaño de lesión a los 11 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr>F
REP	2	0.1107	0.0554	0.02	0.9777
EST	1	76.4279	76.4279	31.4	0.0304 *
REP*EST (Error A)	2	4.8651	2.4325		
NIV	3	1.5068	0.5023	1.36	0.3005
EST*NIV	3	1.0737	0.3579	0.97	0.4377
REP*EST*NIV (Error B)	12	4.4165	0.3680		
POS	1	14.6369	14.6369	90.6	0.0001 **
EST*POS	1	1.1529	1.1529	7.13	0.0167 *
NIV*POS	3	0.2336	0.0779	0.48	0.6995
EST*NIV*POS	3	0.0597	0.1991	1.23	0.3307
ERROR C	16	2.5861	0.1616		
TOTAL	47				C.V= 8.24

Cuadro 7A. Análisis de varianza para la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), con respecto a la aplicación de foliar de nitrato de calcio.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr >F
REP	2	0.0021	0.0011	0.01	0.9916
EST	1	0.0004	0.0004	0.00	0.9612
REP*EST (Error A)	2	0.2498	0.1249		
NIV	3	0.0092	0.0031	0.47	0.7113
EST*NIV	3	0.0089	0.0029	0.45	0.7211
REP*EST*NIV (Error B)	12	0.0794	0.0066		
POS	1	0.0375	0.3753	11.4	0.0038**
EST*POS	1	0.0204	0.0204	6.21	0.2410
NIV*POS	3	0.0094	0.0031	0.96	0.4374
EST*NIV*POS	3	0.0407	0.0136	4.14	0.0239 *
ERROR C	16	0.0526	0.0033		
TOTAL	47			C.V = 14	

Cuadro 8A. Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 5 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes a un suelo ácido

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	0.7461	0.3731	2.51	0.1968
FUE	2	1.2059	0.6029	4.05	0.1092
REP*FUE (Error A)	4	0.5950	0.1488		
NIV	3	1.2613	0.4204	1.47	0.2484
FUE*NIV	6	2.6505	0.4418	1.54	0.2074
REP*FUE*NIV (Error B)	18	8.3325	0.4629		
POS	1	7.2792	7.2792	25.41	0.0001 **
FUE*POS	2	0.1622	0.0811	0.28	0.7559
NIV*POS	3	0.6500	0.2167	0.76	0.5296
FUE*NIV*POS	6	1.8893	0.3149	1.10	0.3915
ERROR C	24	6.8759	0.2865		
TOTAL	71			C.V = 19.94	

Cuadro 9A. Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 7 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes a un suelo no fértil.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr> F
REP	2	0.0054	0.0027	0.02	0.9835
FUE	2	0.0417	0.0209	0.13	0.8816
REP*FUE (Error A)	4	0.6417	0.1604		
NIV	3	0.5783	0.1928	0.94	0.4431
FUE*NIV	6	0.3304	0.2217	1.08	0.4116
REP*FUE*NIV (Error B)	18	3.7016	0.2056	3.67	0.0017**
POS	1	9.2921	9.2921	165.98	0.0001**
FUE*POS	2	0.1897	0.0949	1.6	0.2050
NIV*POS	3	0.0641	0.0214	0.38	0.7672
FUE*NIV*POS	6	0.6633	0.1106	1.97	0.1093
ERROR C	24	1.3436	0.0560		
TOTAL	71				C.V = 7.00

Cuadro 10A. Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 9 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes al suelo no fértil.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr >F
REP	2	0.1393	0.0696	0.16	0.8576
FUE	2	0.3329	0.1645	0.38	0.7053
REP*FUE (Error A)	4	1.7451	0.4363		
NIV	3	0.0311	0.1036	0.27	0.8441
FUE*NIV	6	2.1557	0.3593	0.95	0.4871
REP*FUE*NIV (Error B)	18	6.8329	0.3796		
POS	1	14.4536	14.4536	143	0.000**
FUE*POS	2	0.8405	0.42024	4.17	0.028**
NIV*POS	3	0.0759	0.0253	0.25	0.8599
FUE*NIV*POS	6	0.7090	0.1182	1.17	0.3538
ERROR C	24	2.4200	0.1008		
TOTAL	71			C.V = 7.47	

Cuadro 11A. Análisis de varianza para el tamaño de lesión a los 11 días después de la inoculación respecto a la aplicación de fuentes a un suelo no fértil.

F V	G.L	S C	C M	F C	Pr >F
REP	2	0.0033	0.0017	0.0	0.9966
FUE	2	0.3099	0.1549	0.31	0.7467
REP*FUE (Error A)	4	1.9707	0.4927		
NIV	3	0.3136	0.1045	0.43	0.7319
FUE*NIV	6	4.2095	0.7016	2.91	0.0367*
REP*FUE*NIV 1B (Error B)		4.3446	0.2414		
POS	1	23.3012	23.3012	157	0.0001 **
FUE*POS	2	0.5687	0.2843	1.93	1.1674
NIV*POS	3	0.3990	0.1303	0.9	0.454
FUE*NIV*POS	6	3.0010	0.5002	3.39	0.145
ERROR C	24	0.5408	0.1475		
TOTAL	71				C.V.= 7.85

Cuadro 12A. Análisis de varianza para la tasa de desarrollo (r), con respecto a la aplicación de fuentes de Ca suelo de baja fertilidad.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr >F
REP	2	0.0103	0.0051	0.54	0.6215
FUE	2	0.0637	0.0318	3.33	0.1406
REP*FUE (Error A)	4	0.0382	0.0096		
NIV	3	0.0473	0.0158	1.32	0.2994
FUE*NIV	6	0.0912	0.0152	1.27	0.3185
REP*FUE*NIV	18	0.2152	0.0120	0.94	0.5485
POS	1	0.1275	0.1275	10.00	0.0042**
FUE*POS	2	0.0068	0.0033	0.27	0.7690
NIV*POS	3	0.0069	0.0023	0.18	0.9081
FUE*NIV*POS	6	0.1412	0.0235	1.85	0.1323
ERROR C	24	0.3058	0.0127		
TOTAL	71			C.V = 30.29	

Cuadro 13A. Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 5 días después de la inoculación respecto a la aplicación fuentes a un suelo fértil.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	28.4887	14.2444	13.59	0.0165*
FUE	2	2.8611	1.4306	1.36	0.3533
REP*FUE (Error A)	4	4.1930	1.0482		
NIV	3	1.8283	0.6094	1.11	0.3726
FUE*NIV	6	2.7999	0.4667	0.85	0.5508
REP*FUE* NIV (Error B)	18	9.9202	0.5511		
POS	1	0.4633	0.4634	2.60	0.1196
FUE*POS	2	0.0829	0.0415	0.23	0.7938
NIV*POS	3	2.5970	0.8657	4.87	0.0088**
FUE*NIV*POS	6	0.7445	0.1241	0.70	0.6541
ERROR C	24	4.2696	0.1779		
TOTAL	71				C.V = 38.66

Cuadro 14A. Análisis de varianza para el tamaño de lesión, los 7 días después de la inoculación y con respecto a la aplicación de fuentes al suelo fértil.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	21.6202	1.0810	10.3	0.0262 *
FUE	2	4.4371	2.2185	2.12	0.2351
REP*FUE (Error A)	4	4.1766	1.0442		
NIV	3	0.6921	0.2307	1.84	0.1672
FUE*NIV	6	2.1955	0.3659	0.92	0.5005
REP*FUE*NIV (Error B)	18	7.1225	0.3957		
POS	1	0.3229	0.3229	2.57	0.1218
FUE*POS	2	0.0672	0.0336	0.27	0.7674
NIV*POS	3	1.3940	0.4647	3.7	0.0255 *
FUE*NIV*POS	6	0.4385	0.0731	0.58	0.7408
ERROR C	24	3.0124	0.1255		
TOTAL	71			C.V. = 18.56	

Cuadro 15A. Análisis de varianza para el tamaño de lesión
9 días después de la inoculación respecto a la
la aplicación de fuentes a un suelo fértil

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	12.5498	6.2749	12.18	0.0199*
FUE	2	2.0418	1.0209	1.98	0.2523
REP*FUE (Error A)	4	2.0608	0.5152		
NIV	3	0.5855	0.1952	0.82	0.5010
FUE*NIV	6	0.9628	0.1605	0.67	0.6736
REP*FUE*NIV (Error B)	18	4.2980	0.2388		
POS	1	0.0253	0.0253	0.50	0.4881
FUE*POS	2	0.0379	0.0190	0.37	0.6932
NIV*POS	3	0.3212	0.1071	2.10	0.1268
FUE*NIV*POS	6	0.5791	0.0965	1.89	0.1234
ERROR C	24	1.2246	0.0510		
TOTAL	71				C.V = 8.08

Cuadro 16A. Análisis de varianza para el tamaño de la lesión a los 11 días después de la inoculación, respecto a la aplicación de fuentes de Ca al suelo fértil

F.V..	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr> F
R	2	0.1087	5.0544	19.1	0.009**
FUE	2	0.5075	0.2537	0.96	0.4569
REP*FUE (Error A)	4	1.0587	0.2647		
NIV	3	0.2382	0.0794	0.45	0.7229
FUE*NIV	6	1.1935	0.1989	1.12	0.3907
REP*FUE*POS (Error B)	18	3.2023	0.1779		
POS	1	0.0546	0.05446	1.01	0.3240
FUE*POS	2	0.0645	0.0318	0.59	0.5622
NIV*POS	3	0.4661	0.1554	2.88	0.0566
FUE*NIV*POS	6	0.1384	0.0231	0.43	0.8527
ERROR	24	1.225	0.0539		
TOTAL	71				C.V = 6.36

Cuadro 17A. Análisis de varianza para la tasa de desarrollo de la enfermedad (r), respecto a la aplicación de fuentes de Ca en un suelo fértil.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr.>F
REP	2	0.1441	0.0720	7.29	0.0463*
FUE	2	0.0330	0.0165	1.67	0.2973
REP*FUE (Error A)	4	0.0395	0.0098		
NIV	3	0.0391	0.0103	0.95	0.4352
FUE*NIV	6	0.0572	0.0095	0.88	0.5270
REP*FUE*NIV (Error B)	18	0.1943	0.0108	2.13	0.042**
POS	1	0.0077	0.0077	1.51	0.2304
FUE*POS	2	0.0076	0.0038	0.75	0.4828
NIV*POS	3	0.0345	0.0115	2.27	0.1057
FUE*NIV*POS	6	0.0258	0.0043	0.85	0.5439
ERROR C	2				
TOTAL	71				C.V = 16.61

Cuadro 18A. Análisis de varianza correspondiente al tamaño de lesión para los dos suelos usados (suelo no fértil y suelo fértil).

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr >F
SUELO	1	55.80	55.80	151.8	0.0001 **
REP (SUELO)	4	10.11	2.53	6.9	0.0001.**
FUE	2	0.43	0.21	0.6	0.567
FUE*SUELO	2	0.396	0.198	0.54	0.585
REP*FUE(SUELO)	8	3.03	0.379	1.03	0.4172
ERROR	126				
C.V = 14.19					

Cuadro 19A. Análisis de varianza para la fuente de variación Ca, respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	0.0049	0.0024	0.02	0.9811
EST	1	0.1450	0.0145	0.11	0.768
REP*EST (Error A)	2	0.2550	0.1276		
NIV	3	5.0362	1.6788	30.5	0.0001 **
EST*NIV (Error B)	3	0.3661	0.1220	2.22	0.1382
ERROR C	12	0.6592	0.0549		
C.V.= 12.79					

Cuadro 20A. Análisis de varianza para la fuente de variación fósforo, respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F.V	G L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	0.0042	0.0021	13.4	0.069**
EST	1	0.1855	0.1855	1203	0.0008**
REP*EST (Error A)	2	0.0003	0.0002		
NIV	3	0.0484	0.0161	8.38	0.0028**
EST*NIV (Error B)	3	0.0226	0.0075	3.92	367
ERRDR C	12	0.0231	0.0019		

C. V. = 9.93

Cuadro 21A. Análisis de varianza para la fuente de variación nitrógeno, con respecto a la aplicación foliar de nitrato de calcio.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.C	Pr > F
REP	2	0.0390	0.0195	0.19	0.8413
EST	1	9.1760	9.1760	229.7	0.0111*
REP*EST (Error A)	2	0.2069	0.1034		
NIV	3	2.3580	0.7860	19.66	0.0001 **
EST*NIV (Error B)	3	0.3511	0.1170	2.93	0.0770

C.V = 8.99