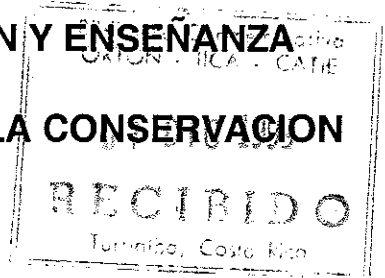


CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACION
ESCUELA DE POSGRADO



**MANEJO DE *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith CON ENMIENDAS Y
MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS EN TOMATE**

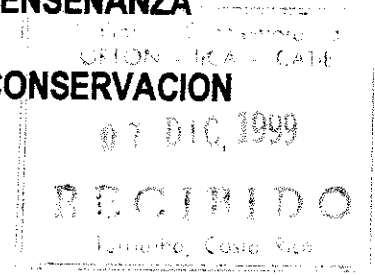
POR

JORGE ULISES DIAZ BLANDON

CATIE

Turrialba, Costa Rica
1999

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACIÓN
ESCUELA DE POSTGRADO



**MANEJO DE *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith CON ENMIENDAS Y
MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS EN TOMATE**

**Tesis sometida a la consideración de la Escuela de Postgrado, Programa de
Enseñanza para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical
de Investigación y Enseñanza como requisito parcial para optar al grado de:**

Magister Scientiae

Por


Jorge Ulises Díaz Blandón

**Turrialba, Costa Rica
1999**

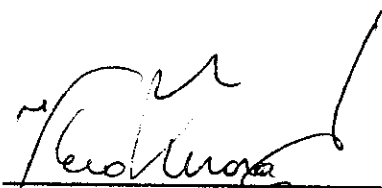
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Dirección de la Escuela de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

FIRMANTES:



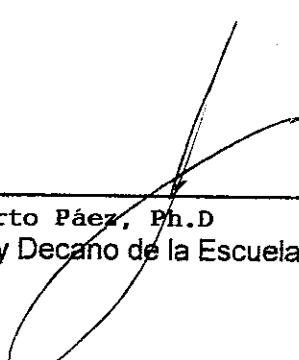
Elkin Bustamante, Ph.D.
Consejero Principal



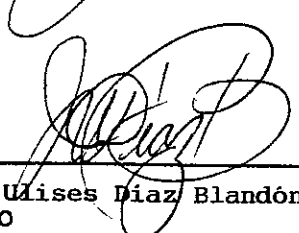
Vera Sánchez G., Ph.D.
Miembro Comité Consejero



Andrea Schlönvoigt, Ph.D.
Miembro Comité Consejero



Gilberto Páez, Ph.D.
Director y Decano de la Escuela de Posgrado



Jorge Uises Díaz Blandón
Candidato

DEDICATORIA

A la memoria de mi abuela Rita Blandón (q.e.p.d.)

A toda mi familia

A mis hijas Xochilt Alessandra e Ingrid Lorena

A Lorena López

A todo el pueblo de Nicaragua ...

AGRADECIMIENTOS

Al Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) y al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) por el financiamiento de mis estudios de maestría.

A Don Elkin Bustamante, Ph.D., Vera Sánchez, Ph.D., Andrea Schlönvoigt, Ph.D., por sus sugerencias y sabios consejos que indudablemente fueron determinantes para una culminación exitosa de este trabajo de investigación.

A Galileo Rivas, MSc., por su contribución en la etapa inicial de la investigación.

A Don Gilberto Páez, Ph.D., por sus sugerencias para mejorar el trabajo.

Al Sr. Johnny Pérez por su ayuda en el procesamiento de los datos.

Al Sr. Arturo Gamboa por su valiosa colaboración en las tareas de laboratorio y de campo.

A los obreros que me ayudaron en las actividades de campo.

A las personas del Area de Agricultura Tropical que estuvieron dispuestas a brindar su colaboración.

A todo el personal de la Escuela de Postgrado.

A todo el personal de la Biblioteca Orton por su excelente ayuda en la búsqueda de la información.

A todo el personal docente que participó en el Programa de Maestría de Agricultura Ecológica.

DIAZ BLANDON, J.U. 1999. Manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith con enmiendas y microorganismos antagonistas en tomate. Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. CATIE. 111 p.

Palabras claves: marchitez bacteriana, microorganismos antagonistas, enmiendas, incidencia, severidad, ABCPE, biomasa, *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus cereus*, *Glomus occultum*, bacterización, patogenicidad, tomate.

RESUMEN

La marchitez bacteriana, causada por *Pseudomonas solanacearum* y más recientemente conocida como *Burkholderia* o *Ralstonia solanacearum*, es una enfermedad predominantemente de las regiones tropicales, subtropicales y de regiones cálidas de las zonas templadas. El patógeno tiene un amplio y aún expansible ámbito de hospedantes que incluye más de 450 especies de plantas distribuidas en 50 familias. Varias estrategias han sido desarrolladas para el control de la marchitez bacteriana, pero muchas están limitadas para una aplicación general, siendo frecuentemente cultivo-específicas o sitio-específicas, o están severamente limitadas para su aplicación por condiciones socio-económicas.

El objetivo fundamental de este estudio fue el de evaluar el efecto de enmiendas y microorganismos antagonistas sobre la marchitez bacteriana en el campo y en invernadero. Las enmiendas utilizadas fueron compost comercial y cal dolomítica. Los microorganismos antagonistas fueron *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus cereus* y *Glomus occultum*. Se realizaron tres experimentos, uno de campo y dos de invernadero. Para los tres experimentos se utilizó un diseño de parcelas divididas con cuatro repeticiones para el experimento de campo y tres repeticiones para los experimentos de invernadero. En el campo, los tratamientos con y sin enmiendas (3) se ubicaron en las parcelas principales, dispuestas en bloques completamente al azar y los tratamientos con microorganismos antagonistas (8) se asignaron a las subparcelas. En el invernadero, los tratamientos sustratos con y sin enmiendas (3) se asignaron a las parcelas principales, mientras que los tratamientos con microorganismos antagonistas (9) se ubicaron en las subparcelas. Las variables de respuesta evaluadas en el campo fueron incidencia, severidad de la enfermedad y ABCPE. En el invernadero las variables fueron severidad de la enfermedad, ABCPE, altura, diámetro y biomasa de las plantas de tomate.

Los tratamientos *G.occultum*, *P.cepacia* y *P.cepacia+B.cereus+G.occultum* mostraron tendencia a reducir la incidencia y la severidad de la enfermedad en las parcelas con enmiendas en el experimento de campo. En el Experimento I de invernadero se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para las variables altura, diámetro y biomasa de las plantas tanto en los efectos principales como en las interacciones. Para la variable severidad y ABCPE hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) solamente en los tratamientos sustratos con y sin enmiendas. En el Experimento II de invernadero hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para la variable biomasa en los tratamientos sustratos con y sin enmiendas y en los tratamientos con los microorganismos antagonistas. Para las variables altura, diámetro, severidad y ABCPE diferencias significativas ($p \leq 0.05$) solamente se observaron en los tratamientos sustratos con y sin enmiendas.

En el campo, las poblaciones de *P.solanacearum* fueron reducidas significativamente ($p \leq 0.05$) ocho meses después de la aplicación de las enmiendas. El compost comercial utilizado en este estudio no redujo significativamente la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en el campo. Los microorganismos *B.cereus* y *G.occultum* mostraron tendencia a disminuir la severidad de la marchitez bacteriana en los dos experimentos de invernadero. El hongo micorrízico vesículo-arbuscular *G.occultum* mostró ser un buen promotor del crecimiento de las plantas de tomate aún en presencia de *P.solanacearum*. En trabajos posteriores es recomendable realizar pruebas para determinar la habilidad de los microorganismos antagonistas utilizados en este estudio para colonizar la rizosfera y la planta misma de tomate. Además, se recomienda combinar cal dolomítica y compost para evaluar su efecto sobre la incidencia, la severidad y las poblaciones de *P.solanacearum* en condiciones de campo e invernadero.

DIAZ BLANDON, J.U. 1999. Management of *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith with soil amendments and antagonistic microorganisms in tomato. Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. CATIE. 111 p.

Key words: bacterial wilt, antagonistic microorganisms, soil amendments, incidence, severity, AUDPC, biomass, *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus cereus*, *Glomus occultum*, bacterization, pathogenicity, tomato.

SUMMARY

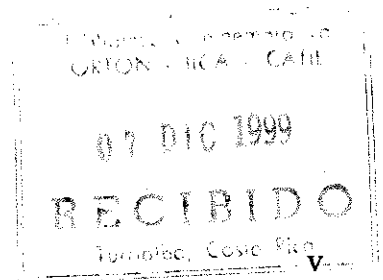
Bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* and, more recently known as *Burkholderia* or *Ralstonia solanacearum*, is predominantly a disease of the tropical, subtropical and warm temperate regions. The pathogen has a wide and still expanding host range that includes over 450 plant species distributed in more than 50 families. Various strategies have been developed for the control of bacterial wilt, but many are limited in general application, being often crop- or site-specific, or severely limited in application by socioeconomic conditions.

The main purpose of this study was to evaluate the effect of soil amendments and antagonist microorganisms on bacterial wilt in field and greenhouse conditions. Compost and dolomitic lime were used as soil amendments. *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus cereus* and *Glomus occultum* were used as antagonistic microorganisms. Three experiments were conducted, a field experiment and two greenhouse experiments. A split-plot design with four replications (field experiment) or three replications (greenhouse experiments) was used. The treatments (3) with and without soil amendments were assigned to main plots, which were arranged as a randomized complete block, and the treatments with antagonistic microorganisms (8) were assigned to subplots in the field experiment. The treatments substrates (3) with and without amendments were assigned to main plots, while the treatments with antagonistic microorganisms (9) were assigned to subplots in the greenhouse experiments. The response variables in the field were disease incidence and severity and AUDPC. In the greenhouse the variables evaluated were disease severity, AUDPC, height, diameter and biomass of the tomato plants.

The treatments *G.occultum*, *P.cepacia*+*B.cereus*, *P.cepacia*+*B.cereus*+*G.occultum* tended to reduce disease incidence and severity in amended plots. There were significant differences ($p \leq 0.05$) for the variables height, diameter and biomass of the plants among main effects and their interactions in the Experiment I under greenhouse conditions. In the same experiment, there were significant differences ($p \leq 0.05$) only among the treatments substrates with and without amendments. In Experiment II under greenhouse conditions there were significant differences ($p \leq 0.05$) for the variable plant biomass in the treatments substrates with and without amendments and in the treatments with antagonist microorganisms. For the variables height and diameter of the plants, disease severity and AUDPC, there were significant differences ($p \leq 0.05$) only among the treatments with and without amendments.

Under field conditions, soilborne populations of *P.solanacearum* were significantly ($p \leq 0.05$) reduced eight months after amending the soil. Commercial compost used in this study did not reduce significantly the disease incidence and severity of bacterial wilt. *B.cereus* and *G.occultum* showed tendency to lower disease severity of bacterial wilt in both greenhouse experiments. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *G.occultum* showed to be a good tomato plant growth-promoting, even though *P.solanacearum* was present. For further studies its necessary to do tests to determine the rhizosphere and plant colonization ability by the antagonistic microorganisms used in this study. Moreover, its recommendable to combine dolomit lime with compost to evaluate its effect on disease incidence and severity and soilborne populations of *P.solanacearum*.

INDICE GENERAL



RESUMEN	
SUMMARY	vi
INDICE GENERAL	vii
INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCION	1
1.1. El problema	1
1.2. OBJETIVOS	4
1.3. HIPOTESIS	5
II. REVISION DE LITERATURA	6
2.1. El cultivo de tomate	6
2.1.1. Origen, botánica y requerimientos ambientales	6
2.1.2. Fenología	7
2.2. El patógeno, <i>Pseudomonas solanacearum</i> E.F. Smith	8
2.2.1. Filogenia, hospedantes y distribución geográfica	8
2.2.2. Síntomas y ciclo biológico	10
2.2.2.1. Síntomas	10
2.2.2.2. Ciclo biológico	10
2.2.3. Interacciones patógeno-ambiente	11
2.2.4. Métodos de control de la marchitez bacteriana	12
III. MATERIALES Y METODOS	23
3.1. Localización de los experimentos	23
3.2. Material experimental	23
3.3. Procedimiento experimental	24
3.3.1. Experimento de campo	24
3.3.1.1. Diseño experimental	24
3.3.1.2. Manejo del experimento de campo	26
3.3.1.3. Muestreo de <i>P. solanacearum</i>	32
3.3.1.4. Variables evaluadas	32
3.3.1.5. Análisis estadístico	32

3.3.2. Experimentos de invernadero	33
3.3.2.1. Material experimental	33
3.3.2.2. Diseño experimental	33
3.3.2.3. Pruebas de patogenicidad de aislamientos de <i>P.solanacaerum</i>	35
3.3.2.4. Aplicación de los microorganismos antagonistas y manejo de los ensayos	36
3.3.2.4.1. Experimento I	36
3.3.2.4.2. Experimento II	38
3.3.2.5. Variables evaluadas	39
3.3.2.6. Análisis estadístico	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	41
4.1. Experimento de campo	41
4.2. Experimentos de invernadero	58
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	84
VI. LITERATURA CONSULTADA	87
VII. ANEXOS	103

INDICE DE CUADROS

No.	TITULO	PAGINA
1.	Distribución de los diferentes tratamientos en diseño de parcelas divididas del experimento de campo.	24
2.	Tratamientos sustratos y microbianos en diseño de parcelas divididas de los experimentos de invernadero (Experimento I y II).	34
3.	Resultados de los análisis de suelo realizados antes y después de la incorporación de compost y cal dolomítica en el Lote # 8 de la Estación Experimental "La Montaña" y su relación con el nivel crítico (NC).	41
4.	Principales géneros de nemátodos encontrados en las muestras de suelo del área experimental antes de la incorporación de las enmiendas.	43
5.	Principales géneros de nemátodos encontrados en las muestras de suelo del área experimental 16 semanas después de la incorporación de las enmiendas.	44
6.	Incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas con compost, cal dolomítica y sin enmiendas.	48
7.	Incidencia de la marchitez bacteriana en las subparcelas tratadas con microorganismos antagonistas.	49
8.	Valores del índice de severidad de la enfermedad (ISE) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en parcelas enmendadas con compost, cal dolomítica y en parcelas sin enmiendas.	49
9.	Valores del índice de severidad de la enfermedad (ISE) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en subparcelas tratadas con microorganismos antagonistas a <i>P. solanacearum</i> E.F.Smith.	50
10.	Comparación del efecto de los tratamientos sustratos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de las plantas.	60
11.	Influencia de los tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate.	61
12.	Comparación de la influencia de los tratamientos sustratos sobre la biomasa de plantas de tomate.	63

13. Influencia de los tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate. 64
14. Influencia de la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate. 65
15. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en sustratos con enmiendas y sin enmiendas e inoculados con una suspensión de 40 ml (6×10^8 ufc.ml⁻¹) de *P.solanacearum* E.F.Smith. 66
16. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en plantas de tomate tratadas con microorganismos antagonistas. 67
17. Comparación del efecto de los tratamientos sustratos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate. 70
18. Efecto de los tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate. 71
19. Comparación del efecto de los tratamientos sustratos sobre la biomasa de plantas de tomate. 73
20. Comparación del efecto de los tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate. 74
21. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en sustratos con enmiendas y sin enmiendas e inoculados con una suspensión de 20 ml (6×10^8 ufc.ml⁻¹) de *P.solanacearum* E.F.Smith. 76
22. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en plantas de tomate tratadas con microorganismos antagonistas. 77

INDICE DE FIGURAS

No.	TITULO	PAGINA
1.	Comportamiento de las poblaciones de <i>P. solanacearum</i> en parcelas con enmiendas de compost (40 t.ha ⁻¹), cal dolomítica (5 t.ha ⁻¹) y en parcelas sin enmiendas.	47
2.	Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate enmendadas con compost a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	52
3.	Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate enmendadas con cal dolomítica a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	52
4.	Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate sin enmiendas a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (Testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	53
5.	Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate tratadas con compost y microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	53
6.	Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate tratadas con cal dolomítica y microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	54
7.	Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate sin enmiendas y tratadas con microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (<i>Pseudomonas cepacia</i>); Bc (<i>Bacillus cereus</i>); Go (<i>Glomus occultum</i>).	54
8.	Relación entre la severidad de aislamientos de <i>P. solanacearum</i> E.F.Smith y el tiempo después de la inoculación de plantas de tomate. DDI (días después de la inoculación).	59
9.	Altura de plantas de tomate desarrolladas a partir de semillas bacterizadas con microorganismos antagonistas a <i>P. solanacearum</i> E.F.Smith sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y suelo sin enmiendas (SSE).	62
10.	Diámetro de plantas de tomate desarrolladas a partir de semillas bacterizadas con microorganismos antagonistas a <i>P. solanacearum</i> E.F.Smith sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y suelo sin enmiendas (SSE).	62

11. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate en sustratos con compost (CMP), con cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y en presencia de microorganismos antagonistas. 68
12. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate a los 6, 13, 20, 27 y 34 días después de la inoculación de los sustratos con 40 ml de una suspensión bacteriana de *P. solanacearum* a una concentración de 6×10^8 ufc.ml⁻¹. 69
13. Altura de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith. 72
14. Diámetro de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith. 72
15. Peso seco del follaje de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE), y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith. 75
16. Peso seco de raíces de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE), y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum*. 75
17. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate en sustratos con compost (CMP), con cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y en presencia de microorganismos antagonistas. 78
18. Evolución de la severidad de la marchitez bacteriana a los 17, 24, 31 y 37 días después de la inoculación de los sustratos con 20 ml de una suspensión bacteriana de *P. solanacearum* E.F.Smith a una concentración de 6×10^8 ufc.ml⁻¹. DDI (días después de la inoculación). 79

I INTRODUCCION

1.1. El problema

El tomate es un cultivo de altos riesgos fitosanitarios, especialmente por la incidencia y lo impredecible de las plagas. Asimismo, el alto costo de los insumos y la fluctuación de los precios del producto repercuten en su comercialización. Las enfermedades del tomate son causadas por factores parasitarios y no parasitarios. En las primeras se encuentran las enfermedades de mayor importancia económica causadas por hongos, bacterias y virus. Las no parasitarias (abióticas) se deben a condiciones críticas de humedad, sequía, temperatura, nutrimentos y fitotoxicidad (CATIE, 1990).

Una de las enfermedades que constituye un obstáculo serio a la producción de tomate en las áreas tropicales y subtropicales, incluyéndose dentro de este contexto la región centroamericana, es la marchitez bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith y más recientemente conocida como *Burkholderia solanacearum* o *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995). A escala mundial las pérdidas en rendimiento pueden alcanzar desde un 15 hasta un 95% (Javier, 1994). En Centroamérica se informa de pérdidas debido a la marchitez bacteriana del tomate que oscilan y alcanzan un 20-30% en Panamá, un 50% en Costa Rica y un 40% en El Salvador (CATIE, 1990).

Varias estrategias han sido desarrolladas para el control de la marchitez bacteriana, pero algunas están limitadas a una aplicación local, siendo frecuentemente cultivo-específicas o sitio-específicas, o están severamente limitadas para su aplicación general por condiciones socioeconómicas. Además, las estrategias de control de la marchitez bacteriana en las regiones de clima templado donde solamente se presenta el biovar 2 de *P. solanacearum*, son muy diferentes de las estrategias utilizadas para el combate de la marchitez bacteriana en las tierras bajas del trópico, donde son endémicas las cepas con un ámbito de hospedantes más amplio. No existen soluciones universales, sino solamente los principios que pueden ser aplicados y adaptados en situaciones particulares. Aunque muchos cultivares en tomate han sido desarrollados con niveles útiles de resistencia, para ciertos

ambientes ha resultado difícil obtener cultivares con resistencia estable bajo condiciones de alta humedad y temperatura en las tierras bajas del trópico (Hayward, 1991).

Las prácticas agrícolas han sido usadas en un esquema general de manejo para el control de la marchitez bacteriana. Más específicamente, la rotación de cultivos en algunos casos es un método de control efectivo (Michel *et al.*, 1996), pero ha sido estudiada principalmente en ambientes no tropicales o en las tierras altas del trópico con tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) (Jackson y González, 1981; Melton y Powell, 1991).

Entre las opciones no químicas o convencionales para el manejo de la enfermedad se destacan el uso de enmiendas orgánicas y microorganismos antagonistas a *P. solanacearum*.

Los agentes usados para controlar biológicamente a la marchitez bacteriana incluyen rizobacterias antagonistas y mutantes avirulentos de *P. solanacearum* (Cartín y Wang, 1996; Ciampi-Panno *et al.*, 1989; Kempe y Sequeira, 1983; McLaughlin y Sequeira, 1988; Trigalet *et al.*, 1994). Estos antagonistas han sido aislados de varias fuentes, por ejemplo, suelos supresivos y la rizosfera de plantas hospedantes.

Las enmiendas orgánicas en forma de compost han demostrado tener un efecto supresivo sobre los patógenos de suelo (Hoitink *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1996). Por otro lado, los estudios acerca del potencial de los hongos micorrízicos para la protección de las plantas de la marchitez bacteriana son limitados. En las Filipinas, en un estudio llevado a cabo con estos hongos micorrízicos se encontró que el crecimiento y los rendimientos de tomate se incrementaron y se redujo la infección por *P. solanacearum* (Halos y Zorilla, 1979).

En el presente estudio que se llevó cabo durante un ciclo vegetativo del cultivo de tomate se hizo uso de enmiendas orgánicas como el compost y otro tipo de enmienda como la cal dolomítica, acompañadas por la introducción de microorganismos antagonistas (*Bacillus cereus* y *Pseudomonas cepacia*) y un hongo endomicorrízico (*Glomus occultum*), para el manejo del agente causal de la marchitez bacteriana. Este enfoque se encamina a encontrar

medidas ecológicas de control económica y socialmente sustentables. Estas medidas de control no deben ser tomadas como estrategias o tácticas aisladas y deben ser parte de un sistema integral que incluya no solamente otras medidas de carácter fitosanitario, sino también otras prácticas agronómicas como el manejo de la fertilización, el manejo del riego, drenaje, manejo del semillero y otras prácticas que se requieran para un exitoso establecimiento del cultivo en el campo.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de enmiendas (compost y cal dolomítica), rizobacterias (*Pseudomonas cepacia* Palleroni & Holmes y *Bacillus cereus* Frankland & Frankland A30) y un hongo endomicorrízico (*Glomus occultum*) sobre las poblaciones de *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith en condiciones de campo y de invernadero.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar un posible efecto supresivo del compost y la cal sobre las poblaciones del agente causal de la marchitez bacteriana en tomate.
- Determinar el efecto de bacterias antagonistas como *Bacillus cereus* A30 y *Pseudomonas cepacia* sobre las poblaciones de *P. solanacearum*.
- Evaluar las poblaciones de *Pseudomonas solanacearum* en diferentes períodos y bajo diferentes tratamientos en el campo.
- Evaluar la influencia que ejerce un hongo endomicorrízico, *Glomus occultum*, sobre el crecimiento de las plantas de tomate y la severidad de la enfermedad causada por *Pseudomonas solanacearum*.
- Relacionar la presencia de nemátodos fitoparásitos en el suelo y sistema radical con la incidencia y severidad de la marchitez bacteriana.
- Determinar el efecto sinérgico que ejercen sobre *P. solanacearum* la interacción de enmiendas y microorganismos antagonistas.

1.3. HIPÓTESIS

- Las enmiendas (compost y cal dolomítica) y los microorganismos antagonistas (las rizobacterias y el hongo endomicorrízico) contribuyen a la reducción de la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana.
- Las enmiendas y los microorganismos antagonistas reducen las poblaciones de *P. solanacearum* en el suelo.
- Los microorganismos antagonistas promueven el crecimiento y la producción de biomasa de las plantas de tomate.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. El cultivo de tomate

2.1.1. Origen, botánica y requerimientos ambientales

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. La planta puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, y el crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las variedades indeterminadas, pudiendo llegar, en estas últimas, a 10 m en un año (Rick, 1978). El tomate es una planta perenne y de diferente duración, según sus variedades. Sin embargo, las condiciones climatológicas la han convertido en una planta anual. Su centro de origen se localiza en la región de los Andes, integrada por Colombia, Bolivia, Chile y Perú, donde existe la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres (García Estrada, 1998).

La planta posee tallos herbáceos y ramificados, sus hojas son alternas, con bordes dentados y cubiertas por tricomas o pelos. La inflorescencia está compuesta por un racimo de cuatro a cinco flores amarillas, con cinco o más lóculos. El fruto es una baya dividida en dos o más secciones conteniendo las semillas, y cuando maduro es rojo o amarillo, los hay de diferentes formas (Chamorro Lapuerta, 1995).

El desarrollo de la planta depende de muchos factores, entre los que cabe mencionar la variedad, la iluminación, la temperatura, la nutrición, el suministro de agua y la concentración de CO₂, que actúan en un complejo entramado de interacciones. La planta se desarrolla bien en un amplio ámbito de latitudes, tipos de suelos, temperaturas y métodos de cultivo, y es moderadamente tolerante a la salinidad. Prefiere ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10°C, la escarcha, una iluminación diurna inferior a las 12 horas, un drenaje deficiente o un abonado nitrogenado excesivo le afectan desfavorablemente. La velocidad de elongación del tallo aumenta generalmente con la temperatura, dando lugar a tallos más delgados con una mayor proporción de tejido parenquimático y de agua. La temperatura nocturna óptima

para la elongación del tallo es de unos 30°C para las plantas jóvenes y de 13-18°C para las plantas más viejas. La velocidad de elongación del tallo disminuye a medida que la noche se hace más larga (Nuez *et al.*, 1995). La temperatura óptima para la germinación se encuentra entre los 20 y 25°C (Mobayen, 1980). La capacidad de germinación a temperaturas muy bajas (entre 8,5 y 12°C) y muy elevadas (35-37°C), depende mucho de la variedad (Nuez *et al.*, 1995).

Valores de radiación total diaria en torno a 0,85 MJ/m² son los umbrales considerados mínimos para la floración y cuajado, siendo preferible mayor iluminación en menor período de tiempo que iluminaciones más débiles durante más tiempo (Kinet, 1977).

2.1.2. Fenología

La diversidad de microclimas en los que se cultiva el tomate hace difícil una generalización de la fenología del cultivo. Sin embargo, dado que en este estudio se hará uso de una variedad de hábito determinado se expone a continuación en forma breve, el curso que sigue y la duración de cada una de las etapas en el desarrollo y la fenología de una variedad de ese tipo.

La plántula de tomate se mantiene en el semillero por 20 a 25 días. Luego del trasplante, el tomate continúa su etapa vegetativa por unos 30 a 35 días más y, a los 50 ó 60 días (30 a 35 días después de la siembra), inicia la floración. La etapa reproductiva, floración y fructificación se extiende por unos 32 a 40 días antes de la cosecha, la cual se inicia a los 62-75 días después de la siembra. Bajo condiciones de buena nutrición y buena sanidad del cultivo, se realizan hasta 6 ó 7 cortes, según la variedad, durante un período de 20 a 25 días. El ciclo total del cultivo, desde la siembra hasta el último corte, oscila entre los 82 y los 100 días (CATIE, 1990).

2.2. El patógeno, *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith

2.2.1. Filogenia, hospedantes y distribución geográfica

La especie (*Pseudomonas solanacearum*) abarca un conjunto diverso de poblaciones que han sido clasificadas en cinco razas y cinco biovarios sobre la base del ámbito de hospedantes y la utilización de fuente de carbono, respectivamente (Hayward, 1991). Los niveles de variabilidad genética difieren de manera significativa entre las tres principales razas (Cook y Sequeira, 1994). Estudios recientes llevados a cabo mediante el uso de técnicas moleculares indican que *P. solanacearum* ha evolucionado como dos distintos grupos, resultado de una separación geográfica: un grupo originado en Asia y Australia y el otro grupo originado en las Américas (Cook *et al.*, 1989; Gillings *et al.*, 1993; Seal *et al.*, 1992; Seal *et al.*, 1993). La presencia de grupos infraespecíficos fuera de su centro de origen probablemente ha sido el resultado de la actividad humana (Smith *et al.*, 1995). Esto es particularmente verdadero por la presencia de las razas 2 y 3 fuera de América Central y Sudamérica respectivamente (Cook *et al.*, 1989).

Las técnicas modernas de biología molecular posibilitan la construcción de dendogramas que representan las relaciones evolutivas a diferentes niveles. Sobre la base del análisis de secuencia del fragmento 16S de ARN ribosómico se ha determinado que, al más alto nivel, *P. solanacearum* es un miembro de la Subdivisión *Beta-Proteobacteria* de la Clase *Proteobacteria* (Stackebrandt *et al.*, 1988).

La marchitez bacteriana es una enfermedad predominantemente de las regiones tropicales, subtropicales y regiones cálidas en los países de clima templado. El ámbito de temperatura óptima para el patógeno es 25-35°C. La enfermedad raramente se presenta en áreas donde la temperatura media mensual es menor de 10°C (Persley, 1986).

El patógeno *P. solanacearum* tiene un amplio y aún expansible ámbito de hospedantes que incluye cientos de especies (arriba de 450) susceptibles en al menos 50 diferentes familias de plantas (Kelman *et al.*, 1994). Algunos de los hospedantes económicamente

importantes son la papa, tomate, maní, banano, chile, berenjena, tabaco y oliva (Buddenhagen y Kelman, 1964; Hayward, 1991; Prior *et al.*, 1998).

Las cepas de *P. solanacearum* difieren en su ámbito de hospedantes, distribución geográfica, patogenicidad, relaciones epidemiológicas y propiedades fisiológicas (Buddenhagen y Kelman, 1964; Palleroni y Doudoroff, 1971). Sobre la base de las características antes mencionadas las cepas del patógeno se han dividido en 5 biovars y 5 razas (Buddenhagen y Kelman, 1964; Hayward, 1991; He *et al.*, 1983). En tomate, las razas 1 y 3 de *P. solanacearum* son las responsables de producir la enfermedad (Bustamante, 1994; Hayward, 1991). En banano y plátano, la raza 2 del patógeno produce la enfermedad conocida como "Moko" en América Central, México y algunas regiones norteñas de Sudamérica (Sequeira, 1958; Thwaites *et al.*, 1999).

Hay muchas anomalías aparentes en la distribución de la marchitez bacteriana en ciertos hospedantes. Por ejemplo, la enfermedad en camote (*Ipomoea batata*) ha sido reportada solamente en algunas regiones de China, y únicamente a partir de 1950 (He, 1986; He *et al.*, 1983). La marchitez bacteriana de la yuca (*Manihot esculenta*) está confinada a Indonesia, aún cuando esta planta es cultivada en países donde la marchitez bacteriana es endémica; *Eucalyptus* es afectado solamente en Brazil y China pero no en Australia. En China se reportan daños severos de esta enfermedad sobre la planta de cacahuete (*Arachis hypogaea*), pero no se reporta sobre este mismo hospedante en otras partes del mundo. Las razones para estas diferencias no son del todo obvias, pero se presume que, cepas específicas patogénicas a ciertos hospedantes pueden haber evolucionado solamente en ciertas partes del mundo, o esos hospedantes pueden ser susceptibles solamente donde coincide un número de factores ambientales conductivos a la expresión de la enfermedad, tales como el régimen de temperatura, la precipitación, el tipo de suelo, el potencial de inóculo y otros factores biológicos del suelo tales como las poblaciones de nemátodos (Hayward, 1991). La interacción sinérgica entre los nemátodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) y *P. solanacearum* en una gran variedad de hospedantes es ampliamente reconocida (Jatala *et al.*, 1988; Suatmadji, 1986).

2.2.2. Síntomas y ciclo biológico

2.2.2.1. Síntomas

Los síntomas de la marchitez bacteriana en las solanáceas aparecen como una marchitez repentina. En el cultivo de tomate las plantas jóvenes infectadas mueren con rapidez (iniciando en estado de 5 a 8 hojas). Las plantas adultas pueden presentar inicialmente un debilitamiento y manchado de sus hojas, caída de éstas o marchitamiento de un solo lado y atrofia antes de que mueran completamente. Se puede producir un desarrollo excesivo de raíces adventicias, los tejidos vasculares del tallo, raíces y tubérculos se ponen de color pardo y al observarlos en cortes transversales dejan ver un exudado bacteriano de color blanquecino. Es muy común observar pústulas bacterianas en torno a los haces vasculares de la médula y corteza, lo cual hace que las raíces a menudo se pudran y desintegren cuando la planta se marchita permanentemente (Agrios, 1996; Bustamante, 1994).

2.2.2.2. Ciclo biológico

El patógeno, *P. solanacearum*, es un habitante natural del suelo: entra a las raíces de las plantas hospedantes a través de heridas o puntos de emergencia de las raíces laterales, coloniza la corteza de la raíz, y subsecuentemente invade los vasos en desarrollo del xilema (Vasse *et al.*, 1995; Wallis y Truter, 1978). Una vez establecido en el xilema, el patógeno se disemina rápidamente a través de toda la planta, induciendo amarillamiento, retardo en el crecimiento, marchitamiento, necrosis y la muerte de la planta (Tans-Kersten *et al.*, 1998).

La diseminación del patógeno puede ocurrir a través de tubérculos de papa con infección latente (Hayward, 1991), cormos de banano (Buddenhagen, 1986), semilla botánica (verdadera) (Hayward, 1991; Machmud y Middleton, 1990; Shakya, 1993; Zhang *et al.*, 1993), plantas transplantadas (Gitaitis *et al.*, 1992; Vaughan, 1944), transmisión de insectos específicamente para la enfermedad conocida como "Moko" del banano (Buddenhagen y Elsasser, 1962), transmisión mecánica mediante la poda de tomate (McCarter y Jaworsky, 1969), herramientas de poda como en el caso de la enfermedad

“Moko” del banano (Sequeira, 1958), heridas causadas a las raíces durante las labores agrícolas (Kelman, 1953), nemátodos agalladores (Johnson y Powell, 1969; Kelman, 1953; Lucas *et al.*, 1955; Pitcher, 1963), transmisión de raíz a raíz como resultado de la liberación de las bacterias en el suelo a partir de raíces enfermas en las cercanías de raíces sanas de plantas vecinas (Kelman y Sequeira, 1965).

2.2.3. Interacciones patógeno-ambiente

La temperatura es el más importante factor que afecta la interacción hoppedante-patógeno así como también la supervivencia en el suelo. En general, el incremento de la temperatura ambiental entre 30-35° C, aumenta la incidencia y la tasa de diseminación de la marchitez bacteriana sobre hospedantes como el tomate. Las plantas resistentes a una temperatura moderada pueden llegar a ser susceptibles a una temperatura más alta. La resistencia es temperatura-sensible y raza-específica (Krausz y Thurston, 1975; Mew y Ho, 1977; Tung *et al.*, 1990). No está claro todavía si esto es principalmente una función de factores de virulencia expresada únicamente de forma completa a altas temperaturas o principalmente un efecto de falta de expresión de genes de resistencia en el hospedante a altas temperaturas (Tung *et al.*, 1990).

Las acumulaciones de alta humedad en el suelo como resultado de un manto freático alto o fuertes precipitaciones, usualmente favorecen el desarrollo de la marchitez bacteriana. La supervivencia del patógeno es mayor en suelos húmedos pero bien drenados, mientras que su supervivencia es adversamente afectada por la desecación o la inundación del suelo. Esta conclusión ha sido apoyada mediante estudios de supervivencia bajo condiciones de humedad controlada del suelo (Nesmith y Jenkins, 1985).

Algunos suelos son conductivos a la marchitez bacteriana y otros son supresivos. Algunos suelos en áreas donde la marchitez, de otro modo, es endémica nunca han presentado la enfermedad; y en algunas áreas donde la enfermedad ha sido introducida hay reportes contrastantes sobre la persistencia de la bacteria en el suelo (McCarter, 1976; Nesmith y Jenkins, 1983; Nesmith y Jenkins, 1985). Se requiere de una investigación más

sistemática de los suelos en los cuales la marchitez bacteriana no se presenta, o en los cuales la enfermedad no persiste una vez introducida. Una descripción detallada de estos suelos asistirá en el análisis del complejo de factores físicos, químicos y biológicos involucrados en la supresión de la enfermedad. En general, la información que está disponible está dispersa, es fragmentaria y algunas veces contradictoria (Hayward, 1991).

2.2.4. Métodos de control de la marchitez bacteriana

2.2.4.1. Control químico

Los productos químicos comerciales, incluyendo antibióticos, fertilizantes y fungicidas, han sido probados sin mucho éxito. Los fumigantes tales como la cloropicrina han sido probados para el control de la enfermedad en el cultivo de tomate (Enfinger *et al.*, 1979), pero en general la fumigación no es económica ni ecológicamente factible para su aplicación en grandes áreas de terreno. Un bactericida experimental, Terlai, ha sido reportado ser efectivo en la reducción de la marchitez bacteriana en experimentos de cultivo en macetas (Hartman *et al.*, 1993). En Panamá, Cuéllar y Toler (1957) probaron fumigantes y antibióticos en el combate de esta enfermedad, pero los tratamientos no dieron buen resultado. Galindo y Fuentes (1959) recomiendan desinfectar las herramientas agrícolas con bicloruro de mercurio 1:1,000 o con formalina cuando se sospecha o se ha confirmado la presencia de la bacteria.

2.2.4.2. Resistencia genética

Aunque muchos cultivares en tomate han sido desarrollados con niveles útiles de resistencia para ciertos ambientes ha resultado difícil obtener cultivares con resistencia estable bajo condiciones de alta temperatura y alta humedad en las tierras bajas del trópico (Hayward, 1991). Por otro lado, ha sido difícil obtener cultivares de tomate que combinen una alta resistencia a la marchitez bacteriana y buenas características hortícolas (Scott *et al.*, 1993; Sonoda *et al.*, 1979). Uno de los principales problemas encontrados en el despliegue de resistencia es la especificidad de sitio de la resistencia. Una evaluación

mundial de campo en once países de un conjunto de 35 fuentes de resistencia a la marchitez bacteriana en tomate, demostró claramente la existencia de resistencia sitio-específica en la mayoría de las fuentes (Wang *et al.*, 1998). La especificidad de sitio puede estar relacionada a la dependencia de la resistencia de condiciones ambientales, especialmente de la temperatura (Krausz y Thurston, 1975; Mew y Ho, 1977; Sonoda, 1978) y de la variabilidad entre cepas de *P. solanacearum* (McLaughlin y Sequeira, 1989; Prior *et al.*, 1990). Un mejor entendimiento de la variación en las poblaciones del patógeno es la clave para un mejoramiento exitoso y el desarrollo de resistencia en la planta hospedante (Leung *et al.*, 1993; Milgroom y Fry, 1997). En este mismo orden, los estudios de genética poblacional del patógeno pueden suministrar un mejor entendimiento de la naturaleza sitio-específica de la resistencia a la marchitez bacteriana en tomate (Jaunet y Wang, 1999).

Las técnicas de ingeniería genética están siendo usadas para la introducción de lisozimas, cecropinas y otras potentes proteínas antibacterianas derivadas de insectos, como una manera de aumentar la resistencia a la marchitez bacteriana (específicamente en papa) y a otras enfermedades bacterianas. En un estudio reciente Zhanyuan *et al.* (1998) usaron un sistema de transferencia de ADN mediado por *Agrobacterium*, para expresar el gene *Lactoferrina* humano (glicoproteína que contiene Fe) en plantas transgénicas de tabaco para investigar su relación con la resistencia a *P. solanacearum*. La cuantificación de la expresión de la proteína mediante la técnica ELISA reveló una relación positiva significativa entre los niveles de la expresión del gen Lactoferrina y los niveles de resistencia a la enfermedad. Esto podría ser útil para determinar, si este aumento de la resistencia a la enfermedad causada por la bacteria, puede ser logrado al incorporar este gen de mamífero o una corta secuencia sintética de ADN codificando lactoferrina, en otras plantas cultivadas económicamente importantes, usando la técnica de transformación de plantas.

2.2.4.3. Control cultural

En la Guayana Inglesa, Madramootoo (1957) logró combatir la marchitez bacteriana injertando tomate sobre especies silvestres como *Solanum demerarensis* y *Solanum*

juripeba. Además encontró que los injertos producen bien y la cosecha se inicia de las once a las doce semanas. Sin embargo, el injerto es una práctica que consume mucho tiempo y mano de obra, por lo que hay una urgente necesidad de desarrollar nuevos cultivares altamente resistentes (Monma *et al.*, 1997).

En algunos países en desarrollo, donde el uso de semilla limpia y rotaciones de cultivo largas no son soluciones prácticas al problema de la marchitez bacteriana, la mezcla de cultivos ha sido usada como un medio para reducir las poblaciones del patógeno presentes en el suelo y su transmisión de raíz a raíz (Ciampi-Panno *et al.*, 1989; Iqbal y Kumar, 1986; Kloos *et al.*, 1987). Ejemplos de sistemas de cultivos que han reducido la incidencia de la marchitez incluyen la rotación con maíz donde la población de *P. solanacearum* declinó rápidamente en campos de papa infectados en Perú (Elphinstone y Aley, 1993). Elphinstone (1989) observó un retardo en la iniciación de la marchitez bacteriana cuando se transplantó tomate a parcelas de campo previamente cultivadas con maíz. En cambio, el mismo autor señala que en parcelas donde anteriormente fueron cultivadas con caupí, se incrementó la incidencia de la marchitez. En un experimento de campo llevado a cabo por Michel *et al.* (1996) para evaluar las poblaciones de *P. solanacearum* en suelo dejado en barbecho, en cultivos de caupí, berenjena y arroz rotados con tomate, encontraron que, las poblaciones de la bacteria decrecieron después de caupí y arroz, pero no después de berenjena. Además estos mismos autores encontraron que las poblaciones bacterianas decrecieron en el suelo en barbecho, indicando que se requiere una planta hospedante compatible para mantener la población bacteriana.

En China, el cultivo de arroz durante tres años consecutivos redujo la incidencia de la marchitez bacteriana en cacahuete (maní) de 83% a 1.5% (Wang *et al.*, 1983). En la India, la rotación con maíz fue efectiva en reducir la marchitez en berenjena y tomate (Sohi *et al.*, 1981). En Indonesia, Machmud (1993) reporta que una rotación de dos años con un cultivo no hospedante, tal como arroz o maíz, fue suficiente para controlar la marchitez, y que rotaciones más largas resultaron en un mejor control. En otro orden, se reportan ejemplos de inundación asociada con la producción de arroz que ha disminuido la incidencia de la marchitez bacteriana (Tung, 1986; He, 1990; Machmud, 1993).

La mezcla de cultivos o cultivos intercalados como un medio de controlar la marchitez bacteriana ha sido investigado en el cultivo de la papa (Autrique y Potts, 1987; Kloos *et al.*, 1987). Michel *et al.* (1997), al sembrar tomate mezclado con *Vigna unguiculata* encontraron que se redujo significativamente la marchitez bacteriana en comparación con el cultivo de tomate sembrado solo. Estos mismos autores también reportan que la población de *P. solanacearum* en el suelo no fue afectada al mezclar tomate con *Vigna unguiculata*, *Glycine max* y *Allium fistulosum*.

2.2.4.4. Uso de enmiendas

En China, Japón y otras partes de Oriente, los composts han sido usados en la agricultura con efectos benéficos por muchos años. Durante las dos pasadas décadas muchos reportes han discutido los efectos supresivos de los composts a un buen número de fitopatógenos del suelo. Sin embargo, no todos los tipos de composts son utilizados con éxito. El tipo de compost y el nivel de madurez, así como también el método de compostaje, afectan la supresión de una enfermedad en particular (Hoitink y Fahy, 1986).

El uso de composts para el control de enfermedades ha sido estudiado y algunos mecanismos – factores químicos, físicos y biológicos – de supresividad de enfermedades han sido descritos (Hoitink y Fahy, 1986). La mayoría de estos estudios fueron conducidos en medios recipientes enmendados con composts en invernaderos (Chen *et al.*, 1988a; Chen *et al.*, 1988b; Kwok *et al.*, 1987; Nelson *et al.*, 1983). Los estudios de campo con composts han estado dirigidos al control de malezas (Roe *et al.*, 1993) y producción de plantas (Ozores-Hampton *et al.*, 1994; Roe *et al.*, 1994), y solamente observaciones limitadas han sido hechas de enfermedades del suelo de hortalizas en el campo (Logsdon, 1993; Mannion *et al.*, 1994).

El uso de enmiendas fue efectivo en el control de la marchitez bacteriana en experimentos con plantas cultivadas en macetas (Chang y Hsu, 1988; Hsu y Chang, 1989) y en el campo (Hartman y Yang, 1990; Elphinstone y Aley, 1993).

Chellemi *et al.* (1992) en un experimento en invernadero en el que evaluaron la supresión de la marchitez bacteriana del tomate mediante varios tipos de enmiendas orgánicas compostadas, encontraron que éstas pueden reducir la incidencia de la enfermedad, pero los niveles de reducción van a ser variables y dependerán de las propiedades del suelo de un sitio específico. Hernández Garboza (1997) evaluó el uso de enmiendas orgánicas para el control de la marchitez bacteriana en tomate en condiciones de invernadero y concluyó que, las plantas tratadas con los composts o abonos orgánicos fermentados presentaron los mayores valores de diámetro del tallo, y peso seco de la parte aérea de las plantas, así como también estas plantas presentaron los menores grados de severidad de la marchitez bacteriana.

Michel *et al.* (1997), evaluó el efecto de una enmienda conteniendo urea y CaO para determinar si esta reducía las poblaciones de *P. solanacearum* y la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate concluyen que, efectivamente este tipo de enmienda (200 kg N-Urea + 5000 kg CaO/Ha) redujo las poblaciones de la bacteria hasta niveles no detectables cuatro semanas después de la aplicación. Sin embargo, también se observó la generación de sustancias con efectos tóxicos sobre las plantas después de haber aplicado estos dos componentes de la enmienda. Este efecto tóxico, los autores lo atribuyen a altas concentraciones de amoníaco que pudieron haberse generado al elevarse el pH cuando se aplicó la enmienda al suelo.

Mercadal Tejada (1989) evaluó la incidencia de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate en respuesta a niveles de estiércol y cal, encontró que la cal incorporada al suelo a razón de 2 T.ha⁻¹ disminuyó la incidencia de la marchitez bacteriana, mientras que el estiércol no tuvo un efecto positivo al no disminuir la incidencia de la enfermedad.

Lo anterior establece que, el uso de enmiendas constituye un elemento importante tanto para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, como para dotarlos de supresividad a ciertos patógenos, como es el caso de *P. solanacearum*. Al respecto, Hoitink *et al.* (1997) apuntan que los mecanismos de supresividad de los

composts hacia fitopatógenos se basan en la competencia, la antibiosis, el hiperparasitismo y la inducción de resistencia sistémica adquirida en la planta hospedante.

2.2.4.5. Control biológico

2.2.4.5.1. Rizobacterias como agentes de control biológico

El control biológico de fitopatógenos del suelo con bacterias ha sido estudiado como un enfoque alternativo o complementario a las medidas de control físico y químico por más de setenta años (Weller, 1988).

El advenimiento de los marcadores resistentes a antibióticos posibilitó la primera prueba directa que demostró que algunas cepas específicas de bacterias introducidas pueden establecerse en la zona radicular y sostener densidades poblacionales a través de toda la estación de crecimiento (Kloepper y Schroth, 1978; Kloepper *et al.*, 1980). Un grupo taxonómico tal como *Pseudomonas fluorescens* contiene numerosas cepas las cuales, aunque indistinguiblemente mediante pruebas bacteriológicas, varía marcadamente en la habilidad para colonizar raíces. El subconjunto de bacterias de la rizosfera que colonizan agresivamente las raíces fue denominado "rizobacterias" (Schroth y Hancock, 1982). El efecto de las rizobacterias sobre las plantas hospedantes puede ser deletéreo, neutral o benéfico (Bowen y Rovira, 1999). Las rizobacterias que ejercen efectos benéficos sobre el desarrollo de las plantas han sido llamadas "Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas" (RPCP) (Kloepper y Schroth, 1978).

El uso potencial de las RPCP's como agentes de control biológico fue demostrado en un trabajo inicial sobre los modos de acción de las RPCP's del grupo de *Pseudomonas fluorescentes* realizado en papa (Kloepper *et al.*, 1980). Kloepper (1983) al inocular semillas de papa con dos cepas de RPCP's del grupo *P. fluorescentes*, las cuales fueron responsables de incrementos significativos en los rendimientos en el campo, observó una reducción del ámbito de 95 a 100% en las poblaciones de *Erwinia carotovora* en las raíces en comparación con el tratamiento no inoculado con las RPCP's. Además la colonización

de las raíces por las RPCP's redujo el porcentaje de infección de tubérculos nuevos en un 28-92% en comparación con el tratamiento no inoculado. El control biológico de *E. carotovora* a través de cepas seleccionadas de *P. fluorescentes* colonizadoras de raíces fue confirmado por Colyer y Mount (1986) y Xu y Gross (1986a,b).

El control biológico está basado en el antagonismo microbiano, el cual puede ser directo (competencia y antibiosis) o indirecto (resistencia inducida de la planta hospedante). Las bacterias antagonistas a *P. solanacearum* han sido aisladas de varias fuentes (suelos supresivos y la rizosfera de plantas hospedantes). En adición a esto, cepas avirulentas de *P. solanacearum* pueden ser potenciales antagonistas de las cepas virulentas del patógeno, ya sea en inoculaciones mezcladas o mediante el tratamiento previo de la planta hospedante (Trigalet *et al.*, 1994).

Los microorganismos que crecen en la rizosfera son ideales para usarse como agentes de control biológico, ya que la rizosfera es la primera barrera de defensa para evitar que los patógenos ataquen a las plantas, donde estos microorganismos pueden estar presentes antes y durante la infección primaria (Kluepfel, 1993).

Hernández Garboza (1997) encontró que cepas bacterianas del grupo *P. fluorescentes* aisladas de la rizosfera de tomate con aplicación de sustratos orgánicos, mostraron actividad antagonista *in vitro* contra *P. solanacearum*, reduciendo el crecimiento del patógeno hasta en un 86%. Por otro lado, Ciampi-Panno *et al.* (1989) en un experimento de campo estableció que el antagonista *P. fluorescens* cepa BC8 puede inducir una significativa reducción en la severidad de la marchitez bacteriana de la papa cuando es aplicada preferiblemente como protectores de la semilla. Larkin y Fravel (1998) reportan una reducción del 36.4% del marchitamiento del tomate por *Fusarium* en comparación con el tratamiento de control, cuando las plántulas de tomate fueron tratadas con *Burkholderia* (= *Pseudomonas*) *cepacia*. Parke *et al.* (1991) señalan que una cepa de *Pseudomonas cepacia* incrementó los rendimientos de guisantes y controló efectivamente la enfermedad pudrición de la raíz por *Aphanomyces* y el damping-off causado por *Pythium* al bacterizar las semillas con dicha cepa bacteriana.

La actividad de control biológico de las bacterias del género *Pseudomonas* del grupo fluorescente puede estar basado en la reducción del crecimiento saprofítico de los patógenos mediante la producción de metabolitos secundarios, e.g., antibióticos o sideróforos (antagonismo), pero estas bacterias también podrían reducir indirectamente el ataque de los patógenos a través de la activación de los mecanismos de defensa de la planta hospedante (resistencia inducida) (Duijff *et al.*, 1997). El control biológico mediante antagonismo puede ser más efectivo si la cepa bacteriana antagonista coloniza las raíces en los sitios donde el patógeno penetra o está activo (Schippers *et al.*, 1995). Sin embargo, en el caso de control biológico mediante inducción sistémica de resistencia, no es necesario que las bacterias antagonistas colonicen los mismos sitios que el patógeno coloniza (Leeman *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 1995). Para este modo de acción puede ser de gran importancia, un contacto muy cercano de la cepa bacteriana inductora de resistencia con las células de la raíz y su interacción con la pared celular de la planta para disparar los mecanismos de defensa de la planta (Kloepper *et al.*, 1993; Schippers *et al.*, 1995).

Otro grupo de microorganismos que merece especial atención, por cuanto están restringidos en gran parte a la zona rizosférica, son las así llamadas "*Bacterias Incrementadoras del Rendimiento*" (BIR) (Bowen y Rovira, 1999). Estas bacterias generalmente pertenecientes al género *Bacillus* son organismos gram-positivos y algunas cepas tienen la capacidad de colonizar raíces (Backman y Turner, 1989; Turner y Backman, 1991). El 65% de las cepas de BIR's actualmente en uso pertenecen a la especie *Bacillus cereus*. En 1990 las BIR's fueron usadas sobre un área de 3.3 millones de hectáreas en 18 provincias de China y se reportan incrementos sustanciales en los rendimientos de varios cultivos (Bowen y Rovira, 1999). Ryder *et al.* (1999) y Yan *et al.* (1996) confirmaron que muchas cepas de *B. subtilis* y *B. cereus* aisladas y seleccionadas en China tenían la habilidad de promover el crecimiento de las plantas y de controlar enfermedades radiculares.

2.2.4.5.2. Hongos micorrízicos como agentes de control biológico

En relación con los hongos micorrízicos como agentes de control biológico, los efectos de éstos sobre bacterias patogénicas de la raíz son poco documentados en la literatura, pero

algunos resultados experimentales muestran que el daño debido a *P. syringae* en tomate es reducido significativamente cuando las plantas son endomicorrizadas (García Garrido y Ocampo, 1989). En contraste, el efecto de protección de los hongos micorrízicos contra hongos patógenos de las raíces ha sido estudiado por muchos autores (Fitter y Garbaye, 1994). Otros reportes indican que los hongos micorrízicos muestran un potencial muy alto como opción al manejo integrado de nemátodos. En un estudio reciente, Rivas-Platero y Cuervo Andrade (1998b) encontraron que la asociación entre plantas de café y los hongos *Entrophospora colombiana* y *Gigaspora margarita* incrementó la tolerancia a *Meloidogyne exigua*, lo que compensó el daño causado por el nemátodo. En otro estudio Rivas-Platero *et al.* (1998a) observaron que la tasa de multiplicación de *Meloidogyne arabicida* en raíces de tomate se redujo en un 50,5% cuando el hongo micorrízico *Glomus* spp estuvo presente.

Aunque los hongos micorrízicos frecuentemente reducen la incidencia de enfermedades originadas por patógenos del suelo (Graham, 1988) ellos también podrían indirectamente aumentar la incidencia de otras enfermedades, como las virosis, que son estimuladas por el mejoramiento en la nutrición y crecimiento de la planta y otros factores fisiológicos (Dehne, 1982). La literatura de años recientes indica que, las enfermedades en las plantas pueden ser fuertemente influenciadas por hongos micorrízicos vesículo-arbusculares por uno o más mecanismos que incluyen: a) mejoramiento de la nutrición; b) competencia por los fotosintatos del hospedante y sitios de infección; c) cambios morfológicos en las raíces y tejidos radicales; d) cambios en los constituyentes químicos de los tejidos de la planta; e) reducción de estreses abióticos; y f) cambios microbiales en la micorrizosfera (Linderman, 1994).

Los hongos micorrízicos vesículo-arbusculares al aumentar la nutrición con P (fósforo), incrementan el crecimiento radical, expanden la capacidad de absorción de agua y nutrientes del sistema radical y afectan los procesos celulares en las raíces (Hayman, 1982). Estos procesos compensatorios inducidos por la asociación micorrízica pueden explicar que las plantas compensen la pérdida de masa o función radical causada por patógenos. De hecho, la mayor tolerancia de las plantas micorrizadas a este tipo de estrés

biótico ha sido atribuida al crecimiento incrementado de la raíz y al estado nutricional con P (Hussey y Roncadori, 1982; Smith, 1988).

Debido a que los hongos micorrízicos vesículo-arbusculares, los patógenos fungosos radiculares y los nemátodos fitoparásitos ocupan tejidos radicales similares, la competencia directa por espacio puede explicarse como un mecanismo de inhibición de patógenos por hongos micorrízicos (Davis y Menge, 1980; Hussey y Roncadori, 1982). En otro orden, el secuestro de P en las estructuras fungosas del hongo micorrízico antes de transportarlo al hospedante puede restringir la disponibilidad de P para la reproducción o desarrollo de los nemátodos fitoparásitos (Smith, 1988).

En la asociación endomicorrízica se observan cambios morfológicos en la raíz tales como reducido desprendimiento del tejido radical, carencia de pelos radicales, presencia de hifas externas, esporas de pared gruesa y agregados del suelo asociados a la raíz. En algunas plantas, una pigmentación amarilla acompaña la colonización de las raíces y la endodermis se vuelve más gruesa (Linderman, 1988).

El concepto "micorrizosfera" implica que la micorriza tiene una influencia significativa sobre la microflora de la rizosfera al alterar la fisiología y los exudados radicales. En adición a esto, las hifas extraradicales de los hongos micorrízicos suministran un sustrato físico o nutricional para las bacterias y otros microorganismos del suelo. Estos microbios asociados a las hifas micorrízicas frecuentemente producen materiales mucilaginosos que causan la adhesión de las partículas de suelo, creando pequeños agregados que imparten estructura al suelo, mejorando la aireación, la percolación de agua y la estabilidad del suelo ((Linderman, 1994). Algunos estudios han indicado que la supresión de enfermedades por hongos micorrízicos vesículo-arbusculares involucró cambios en las poblaciones microbianas de la micorrizosfera. Los trabajos de Caron *et al.* (1985; 1986a; 1986b) indican una reducción en las poblaciones de *Fusarium* en el suelo micorrizosférico de tomates y una reducción correspondiente de la pudrición radicular en las plantas micorrizadas en comparación con plantas no micorrizadas, posiblemente debido un incremento del antagonismo en la micorrizosfera. Otros estudios (Paulitz y Linderman,

1989; Paulitz y Linderman, 1991) demostraron la ausencia de efectos adversos o aún estimulación de los hongos micorrízicos (Calvet *et al.*, 1989) por los agentes de control biológico, ya sea que estos sean inoculados a la semilla o al suelo.

Los estreses ambientales tienen influencia sobre la incidencia y severidad de las enfermedades bióticas y pueden causar algunas enfermedades abióticas. Los hongos micorrízicos aumentan la tolerancia de las plantas a tales estreses mediante varios mecanismos. En este contexto, los hongos micorrízicos pueden funcionar para reducir biológicamente las enfermedades de las plantas en virtud de su capacidad para reducir los efectos de los factores de predisposición tales como estrés nutricional (deficiencia o exceso), sequía y toxicidad del suelo (Linderman, 1994).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización de los experimentos

Se realizaron tres experimentos, uno en el campo y dos en invernadero. El experimento de campo se estableció en la Estación Experimental "La Montaña" del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), ubicado en Turrialba, provincia de Cartago, a 602 msnm, entre los 9° 55'21" de latitud norte y 83° 39'40" de longitud oeste, con precipitación promedio anual de 2065 mm, humedad relativa de 87% y temperatura promedio anual de 21° C, con una máxima de 26° C y una mínima de 18° C. Los experimentos bajo condiciones controladas se establecieron en uno de los invernaderos del CATIE. En el Experimento I de invernadero la temperatura y humedad relativa promedio fueron de 31.23°C y 81.54% respectivamente, mientras que en el Experimento II sus valores promedio fueron de 28.36°C y 80.95% respectivamente.

3.2. Material experimental

En los tres experimentos se utilizó el siguiente material experimental:

- a) Variedad de tomate: Hayslip, con susceptibilidad reconocida a *P. solanacearum*, de polinización abierta, peso promedio de fruto de 150 gr, con hábito de crecimiento determinado, tamaño mediano de planta (CATIE, 1990).
- b) La cepa A30 de *Bacillus cereus* y una cepa de *Pseudomonas cepacia* con actividad antagónica a algunos patógenos y presumiblemente a *P. solanacearum*.
- c) Un hongo endomicorrízico *Glomus occultum* de la colección *Glomales* del CATIE también utilizado como microorganismo antagonista a *P. solanacearum*.
- d) Enmiendas de tipo orgánico como el compost y de tipo químico como cal dolomítica cuya composición puede ser consultada en el Anexo 1 y 2.

3.3. Procedimiento experimental

3.3.1. Experimento de campo

3.3.1.1. Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño de parcelas divididas en arreglo factorial 3×2^3 , en bloques completamente al azar, con cuatro repeticiones. En éste factorial, el número "3" representa a las parcelas principales (parcela sin enmiendas, parcela con compost y parcela con cal dolomítica), mientras que "2³" representa a los microorganismos antagonistas y sus combinaciones (Cuadro 1). Cada repetición estuvo constituida de tres parcelas principales, las cuales estuvieron conformadas de 8 subparcelas, lo que da un total de 24 subparcelas (24 tratamientos experimentales) por repetición o bloque. El experimento constó de 12 parcelas principales y 96 subparcelas.

Cuadro 1. Distribución de los diferentes tratamientos en diseño de parcelas divididas del experimento de campo.

Parcelas	Tratamientos
Principales (grandes)	a) Compost
	b) Cal dolomítica
	c) Sin enmiendas
Subparcelas (pequeñas)	1) Tg – Testigo (semillas no bacterizadas)
	2) Pc – (<i>Pseudomonas cepacia</i>)
	3) Bc – (<i>Bacillus cereus</i>)
	4) Go – (<i>Glomus occultum</i>)
	5) Pc + Bc – (<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i>)
	6) Pc + Go – (<i>P.cepacia</i> + <i>G.occultum</i>)
	7) Bc + Go – (<i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i>)
	8) Pc + Bc + Go – (<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i>)

Las parcelas principales estuvieron conformadas por 8 surcos de 20 metros de largo y distanciados a 1 metro uno del otro ($20 \times 7 = 140 \text{ m}^2$), las subparcelas tuvieron 4 surcos dispuestos a 1 metro uno del otro ($4 \times 3 = 12 \text{ m}^2$), la parcela útil tuvo dimensiones de 2 m de ancho por 3.5 m de largo (7 m^2). Cada subparcela estuvo constituida por 36 plantas espaciadas a 0.5 m de distancia. Se determinó como parcela útil los dos surcos centrales de la subparcela y en ella se evaluó la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en 10 plantas de 14 que originalmente se habían predeterminado, pero que por razones de orden climático (sequía inesperada en el mes de junio) no se pudo realizar como se había previsto. Dentro de cada repetición o bloque, las parcelas principales fueron separadas a 1 metro de distancia, mientras que entre cada repetición o bloque había 2 metros de distancia.

3.3.1.1.1. Modelo matemático

$$Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \delta_{ijk} \quad \text{donde,}$$

Y_{ijk} = variable de respuesta de la i -ésima observación del j - k -ésimo tratamiento

μ = media general

ρ_i = efecto del i -ésimo bloque

α_j = efecto del j -ésimo tratamiento de la parcela grande

ε_{ij} = error experimental (error de la parcela grande)

β_k = efecto del k -ésimo tratamiento de la parcela pequeña (microorganismos antagonistas)

$(\alpha\beta)_{jk}$ = efecto del j - k -ésimo nivel de la interacción ($\alpha\beta$)

δ_{ijk} = error de las subparcelas (parcelas pequeñas)

3.3.1.2. Manejo del experimento de campo

3.3.1.2.1. Caracterización del área experimental

El experimento de campo fue establecido en el Lote # 8 de la Estación Experimental "La Montaña". Por sus antecedentes, este suelo debe ser considerado como favorable a la marchitez bacteriana causada por *P. solanacearum*, ya que en años anteriores ya se había cultivado tomate y hubo presencia de la enfermedad en ese entonces. Este suelo había estado en barbecho por aproximadamente dos años.

El suelo del área experimental pertenece al Orden Inceptisol, Suborden Tropepts, Gran Grupo Eutropepts, Subgrupo Andic y Familia Fine, Isohyperthermic, Halloysitic (D. Kass, comunicación personal).

3.3.1.2.2. Análisis de suelo

Antes de la incorporación de las enmiendas se hizo un análisis físico-químico del suelo de toda el área experimental con el fin de detectar posibles deficiencias de algún elemento importante, principalmente aquellos elementos críticos como el P, Ca, Mg, Zn, B y N. Antes del trasplante también se hizo un nuevo análisis de suelo para conocer el contenido de nutrimentos y decidir si es necesario aplicar fertilizantes para brindarle buenas condiciones de nutrición a las plántulas. Los resultados de estos análisis de suelo pueden ser consultados en el Anexo 3.

3.3.1.2.3. Muestreo de nemátodos

Un muestreo preliminar para la detección de nemátodos, especialmente nemátodos del género *Meloidogyne* spp., fue necesario antes de la incorporación de las enmiendas y antes del trasplante, debido a que estos nemátodos generalmente se encuentran asociados a una mayor incidencia y severidad de la marchitez bacteriana al provocar heridas en las raíces de las plantas facilitando así una puerta de entrada para el agente causal de la marchitez

bacteriana. Además, para establecer una relación entre la incidencia de la marchitez bacteriana y la presencia de nemátodos agalladores, se tomaron muestras de aquellas plantas que presentaban los síntomas de la enfermedad y se examinó su sistema radicular para detectar la presencia de agallas.

3.3.1.2.4. Recuento de malezas

Se realizó un reconocimiento de las malezas que se presentaron antes y durante el ciclo del cultivo para establecer de manera visual su posible relación como planta hospedante alterna del agente causal de la marchitez bacteriana.

3.3.1.2.5. Incorporación de las enmiendas

Las enmiendas (compost y cal) fueron incorporadas el 11 de Enero de 1999, tres meses antes del trasplante para permitirles que tuvieran una descomposición completa hasta el momento que llegara el trasplante y potenciar su efecto supresivo de la marchitez bacteriana, así como también evitar riesgos de posibles efectos fitotóxicos de las enmiendas sobre el cultivo. El compost fue aplicado a razón de 40 t.ha⁻¹ (10 sacos por cada parcela principal donde se aplicó este tipo de enmienda) (Sasaki *et al.*, 1994), mientras que la cal dolomítica fue aplicada a razón de 5 t.ha⁻¹ (60 kg por parcela principal) (Elphinstone y Aley, 1993; Michel *et al.*, 1997; Michel y Mew, 1998).

3.3.1.2.6. Preparación del almácigo o semillero

3.3.1.2.6.1. Bacterización de la semilla

Las bacterias antagonistas *P. cepacia* y *B. cereus* fueron inoculadas sobre las semillas de tomate, técnica que es conocida como *bacterización*. La bacterización de la semilla se realizó de acuerdo a la técnica utilizada por Castro Martín (1998) de la siguiente manera:

- Se preparó una solución de 400 mM de Sucrosa y 1.5% de carboxi-metil celulosa (137 gr de sucrosa y 15 gr de carboxi-metil celulosa en un litro de agua). Se autoclavó la solución antes de utilizarla.
- Se obtuvo “pellets” de las bacterias, se colocaron en tubos de ensayo con agua destilada estéril y luego se centrifugaron a alta velocidad.
- Los “pellets” de las bacterias se resuspendieron en la solución de sucrosa/carboxi-metil celulosa.
- Se cubrió la semilla completamente con la mezcla de la solución + bacterias.
- Luego se pusieron a secar las semillas sobre papel filtro en un lugar con aire seco.

En el caso particular de este estudio la metodología utilizada en detalle para lograr la bacterización de las semillas de tomate fue la siguiente:

La biomasa de las bacterias antagonistas *Pseudomonas* (= *Burkholderia*) *cepacia* Palleroni & Holmes y *Bacillus cereus* Frankland & Frankland se obtuvo 24 horas después de cultivarlas en medio de cultivo Agar Nutriente. La biomasa de cada una de las bacterias por separado y una combinación de ellas se centrifugó a 6000g por diez minutos, luego de los cuales el sobrenadante se decantó. Posteriormente, 20 ml de la solución sucrosa-carboximetil celulosa y 2 ml de los pellets bacterianos se agitaron vigorosamente en un vortex para lograr una mezcla homogénea. Esta mezcla se utilizó para tratar tres pequeños lotes de semillas de tomate de cinco gramos cada uno. Se bacterizaron cinco gramos de semilla de tomate con *P. cepacia*, cinco gramos con *B. cereus* y cinco gramos con una combinación de las dos bacterias (*Pseudomonas cepacia* + *Bacillus cereus*). Cada semilla fue cubierta con aproximadamente 1×10^6 ufc de las bacterias antagonistas. Las semillas se colocaron en papel toalla y se dejaron secando durante toda la noche en una cámara de flujo laminar para al día siguiente ser sembradas.

Una vez bacterizadas, se procedió a colocar 2 ó 3 semillas en cada orificio de las bandejas que se utilizaron para establecer el semillero o almácigo. Las plántulas se transplantaron en el campo a los 26 días después de la siembra.

Un día antes del trasplante se aplicó una solución (20 ml) de las bacterias antagonistas solas y en combinación al sistema radical de las plántulas que representaron los diferentes tratamientos solos o en combinación de las bacterias antagonistas. Esto constituye una adaptación a la metodología empleada por Mao *et al.* (1998) al estudiar *Gliocladium virens* y *Burkholderia* (= *Pseudomonas*) *cepacia* como agentes de control biológico contra varios patógenos de tomate y chile dulce en condiciones de campo.

3.3.1.2.6.2. Micorrización de las plántulas

La micorrización de las plántulas se efectuó de la siguiente manera: al fondo de cada orificio de las bandejas se colocó un trozo de papel de manera que cubriera el fondo del orificio. A continuación se depositó una capa del sustrato a utilizar y sobre éste se colocó el inóculo del hongo micorrízico a razón de 4 gr. El inóculo se cubrió con otra capa de sustrato y sobre éste último se depositaron 3 semillas de tomate. De esta manera se garantizaba que el hongo micorrízico colonizaría las raíces de las plántulas hasta el momento que éstas fueran llevadas al sitio definitivo de trasplante (después de un período de micorrización de 26 días). Se usó el inóculo micorrízico mixto (suelo + raíz + micelio + espora) de la colección de *Glomales* del CATIE (G. Rivas, comunicación personal).

3.3.1.2.6.3. Sitio de establecimiento y manejo del semillero

Como sustrato para el almácigo se usó una mezcla de suelo esterilizado, granza de arroz y bocashi en proporción 10:2:1 más 20 gr de 10-30-10 (NPK) por kilogramo de mezcla de sustrato (Cubillo *et al.*, 1998).

Se realizaron dos intentos en el establecimiento del semillero. El primer intento se realizó el 26 de marzo de 1999 a como estaba previsto en el cronograma de actividades, cuando se estableció el semillero en las cercanías del Lote # 8 de la Estación Experimental "La Montaña". Con el fin de proteger las plántulas de estreses bióticos, principalmente del ataque de la mosca blanca, el almácigo se estableció en un lugar protegido por malla, de esta manera se estaría excluyendo físicamente al insecto mediante el enfoque de

interferencia (Hilje, 1993). Se utilizó la malla IN50, pues evita por completo el ingreso de los adultos de *Bemisia tabaci* (Cubillo *et al.*, 1998). La siembra se hizo en bandejas Tray Master No. 51, las cuales además de evitar el estrés del transplante, por cuanto las plántulas portan un “pilon” o “adobe” de tierra, también permiten transplantar a los 35-40 días desde la siembra (Hilje, 1993).

Otro semillero fue sembrado el 12 de Mayo de 1999 en bandejas similares a las utilizadas en el primer semillero, pero con la variante que este almácigo se preparó en uno de los invernaderos del CATIE. En esta ocasión se sembraron 80 bandejas para garantizar una buena cantidad de plántulas adicionales en caso de tener que retransplantar en caso de emergencia como en realidad ocurrió. El sustrato para el almácigo fue similar al utilizado en el primer semillero. Este segundo semillero fue mantenido bajo riego diario y a los 18 días después de la siembra (dds) le fue aplicado un fertilizante foliar a razón de 2 cc/litro, así como también le fue aplicado el insecticida metamidofos a una dosis de 2 cc/litro.

3.3.1.2.7. Prácticas agronómicas y fitosanitarias

La preparación del terreno antes del transplante consistió de una pasada de arado de dos de rastra. Inicialmente el alomillado del terreno se realizó con un implemento mecánico tirado por un tractor, pero el alomillado definitivo se hizo de forma manual con palas y azadones. Después del alomillado se delimitaron las parcelas principales y subparcelas del experimento. A continuación de la preparación del terreno se aplicó un herbicida Roundup, (glifosato) para el control de malezas de hoja ancha y gramíneas.

Al momento del transplante se hizo una aplicación de fertilizante NPK (10-30-10) al fondo del hueco donde fue depositada la plántula. La dosis de fertilizante utilizada fue de 20 gramos por plántula. A los quince días después del transplante (ddt) se aplicó un fertilizante foliar en dosis de 40 cc/bomba de 18 litros. Cuando las plantas iniciaron la floración (30 ddt) se fertilizaron con la fórmula 18-5-15-6-2 (N-P-K-Mg-S) a una dosis de 28 gramos por planta. Simultáneamente con esta fertilización se realizó un aporque del cultivo.

Por razones imprevistas de sequía durante el período de transplante se requirió de la aplicación de riego tanto al momento que se realizaba el transplante como en los diez días posteriores a éste. El riego se hizo en algunos casos con manguera y en otros haciendo uso de regaderas.

El control de malezas antes del transplante se hizo con el herbicida Roundup (glifosato) en dosis de 100 cc por bomba de 18 litros. Después del transplante el control de malezas se realizó de forma manual con machete y azada.

Se estableció un sistema de tutores para el amarrado de las plantas una vez que alcanzaron la altura requerida. Se colocaron tres tutores de 2 m de alto por cada surco de 20 m de longitud, dos tutores en los extremos del surco y uno en el centro de éste. Los tutores se unieron con una cuerda de nylon que se ubicó a unos 120 cm del suelo y sobre esta cuerda se amarraron las plantas utilizando para ello hilos de sacos de abono.

Se hicieron dos aplicaciones del insecticida metamidofos en dosis de 20 cc/bomba de 18 litros para combatir principalmente las poblaciones de crisomélidos, los cuales causan severas defoliaciones a las plántulas producto de su alimentación sobre ellas. Estas aplicaciones se realizaron a los 9 y 15 días después del transplante (ddt).

Para el control de *Phytophthora infestans*, tizón tardío, fue necesario la aplicación de un fungicida protector del grupo de los ditiocarbamatos (manzate) a los 12, 15, 23 y 35 ddt a razón de 2.5, 3, 3 y 3 onzas/bomba de 18 litros respectivamente. Debido a que después de estas fechas se presentaron lluvias muy frecuentes y por consiguiente condiciones muy propicias para el desarrollo de severas epidemias de tizón tardío se decidió combatir al hongo con Daconil (100 cc/bomba) a los 43 ddt, Sandofan (75 grs/bomba) a los 49 ddt y una combinación de Sandofan (75 grs/bomba), Alliete (75 grs/bomba) y Bayfolan (40 cc/bomba).

3.3.1.3. Muestreo de *P. solanacearum* en el suelo

Para conocer la dinámica poblacional de la bacteria en el suelo durante el tiempo que duró el estudio se hicieron tres muestreos: uno en la primera semana de enero, antes de la incorporación de las enmiendas, un segundo muestreo antes del trasplante, y un tercero y último en la etapa de fructificación. Inmediatamente después de cada muestreo, 10 gr de suelo por muestra se agregaron a 90 ml de agua destilada estéril en un matraz de erlenmeyer de 250 ml, el cual se agitó por 30 minutos antes de que se hicieran diluciones en serie en el medio SM-1 modificado (Tsai *et al.*, 1985). Los platos fueron incubados a 30°C y después de 2 ó 3 días se contaron las colonias típicas virulentas, es decir, las colonias blancas fluidas e irregulares con centros blancos o rosados (Michel *et al.*, 1997).

3.3.1.4. Variables evaluadas

Se evaluaron la incidencia y severidad de la enfermedad durante siete semanas y se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) basado en la severidad de la marchitez bacteriana (Shaner y Finney, 1977) para comparar el progreso de la enfermedad bajo los diferentes tratamientos. La severidad fue medida utilizando la escala de Kempe y Sequeira (1983) donde los grados de severidad son: 0 (plantas sin síntomas), 1 (0-25% de marchitez), 2 (26-50% de marchitez), 3 (51-75%), 4 (76-100% de marchitez).

3.3.1.5. Análisis estadístico

Para el análisis se utilizó el procedimiento GLM (General Linear Models) de SAS versión 6.12. Los valores de incidencia de la enfermedad por tratarse de porcentajes fueron transformados ($\arcsen \sqrt{x}$) antes de proceder al análisis. Para el caso de la determinación de las poblaciones de la bacteria en el suelo, al número de ufc por gramo de suelo se le hizo una transformación logarítmica [$\log_{10} (x+1)$] para el análisis estadístico. Se realizó un análisis de regresión para conocer la tasa de incremento de la severidad y la incidencia por semana.

3.3.2. Experimentos de invernadero

3.3.2.1. Material experimental

Además del material experimental que se mencionó en la sección 3.2, en los dos experimentos de invernadero también se utilizaron macetas de 3.75 kg de capacidad las cuales fueron llenadas con tres diferentes sustratos: suelo estéril + arena (3:1), suelo estéril + compost + arena (3:1:1) y suelo estéril + cal dolomítica + arena. Para este último sustrato se usó una proporción de 3 partes de suelo estéril y una parte de arena y por cada kilogramo de suelo se aplicaron 5 gr de cal dolomítica. Esta dosis está basada en la aplicación en campo, donde la cal se mezcla con una capa de 20 cm de suelo. Por lo tanto, esta enmienda (cal) agregada a una 1 ha afectará un volumen de 2×10^6 litros ($10000 \text{ m}^2 [= 1 \text{ ha}] \times 0.2 \text{ m} \times 1000 \text{ litros/m}^3$) de suelo. De acuerdo a esta conversión, se aplicaron 5 gr de cal dolomítica por cada kilogramo de suelo (Elphinstone y Aley, 1993; Michel *et al.*, 1997; Michel y Mew, 1998). Por cada maceta de 3.75 kg se aplicaron 18.75 gr de cal dolomítica (0.5% de cal por peso).

El suelo utilizado en los dos experimentos fue obtenido del lugar conocido como "CABIRIA" del CATIE. Este suelo fue sometido a análisis de fertilidad antes de ser esterilizado en hornos a una temperatura de 200°C por 4 horas. Luego de concluidos los dos experimentos se tomaron muestras de suelo para conocer los cambios ocurridos en cuanto a fertilidad, pH y contenido de Ca durante el período de experimentación (Anexos 4, 5 y 6).

3.3.2.2. Diseño experimental

En los dos experimentos los tratamientos fueron divididos en tratamientos sustratos (suelo estéril + arena, suelo estéril + arena + compost y suelo estéril + arena + cal) y 9 tratamientos microbianos, los cuales consistieron de los microorganismos antagonistas por separado y sus combinaciones ($n=7$) y las unidades que sirvieron de testigos absoluto y relativo ($n=2$). El diseño utilizado fue un parcelas divididas en bloques completamente al

azar con arreglo factorial $3 \times (2^3 + 1)$, donde "3" representa a los tres sustratos, " 2^3 " representan los 8 tratamientos microbianos y "1" está representando al testigo absoluto que fue utilizado en los dos experimentos. En las parcelas grandes fueron ubicados los sustratos, mientras que en las parcelas pequeñas estuvieron los 7 tratamientos microbianos y los dos testigos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos sustratos y microbianos en diseño de parcelas divididas de los experimentos de invernadero (Experimento I y II).

Parcelas	Tratamientos sustratos
Principales (grandes)	a) suelo estéril + arena + compost
	b) suelo estéril + arena + cal dolomítica
	c) suelo estéril + arena
	Tratamientos microbianos
Subparcelas (pequeñas)	1) Ta (testigo absoluto)
	2) Tg (testigo relativo) inoculado
	3) Pc – (<i>Pseudomonas cepacia</i>)
	4) Bc – (<i>Bacillus cereus</i>)
	5) Go – (<i>Glomus occultum</i>)
	6) Pc+Bc – (<i>Pseudomonas cepacia</i> + <i>B. cereus</i>)
	7) Pc+ Go – (<i>P. cepacia</i> + <i>G.occultum</i>)
	8) Bc+Go – (<i>B. cereus</i> + <i>G.occultum</i>)
	9) Pc+Bc+Go – (<i>P. cepacia</i> + <i>B. cereus</i> + <i>G.occultum</i>)

3.3.2.2.1. Modelo matemático

Fue similar al utilizado en el experimento de campo, el cual se encuentra descrito en la sección 3.3.1.1.1.

3.3.2.3. Pruebas de patogenicidad de aislamientos de *P. solanacearum*

Antes de iniciar los experimentos de invernadero, fue necesario realizar pruebas de patogenicidad con el fin de seleccionar aislamientos patogénicos y virulentos de *P. solanacearum*.

3.3.2.3.1. Selección de aislamientos

La recolección de los aislamientos para las pruebas de patogenicidad se inició en los primeros días de Febrero de 1999. Inicialmente se hicieron pruebas con siete aislamientos. Estos aislamientos fueron: TL8-1, M1, M2, M3, M4, L7-1 y L7-2. El aislamiento TL8-1 fue obtenido de plantas de tomate sembradas en suelo no esterilizado recolectado del Bloque 1 del Lote # 8 de la Estación Experimental "La Montaña", lugar donde posteriormente sería establecido el experimento de campo. Las plantas a los 17 días comenzaron a manifestar síntomas de marchitez, y se procedió a aislar y purificar la bacteria en condiciones de laboratorio.

Los aislamientos M1, M2, M3 y M4 fueron obtenidos directamente de plantas de la maleza *Melampodium perfoliatum*, que presentaban síntomas de marchitamiento. Estas plantas fueron recolectadas de los Bloques 1, 2, 3 y 4 del Lote # 8. Los aislamientos L7-1 y L7-2 fueron obtenidos de muestras de suelo del Lote # 7 mediante un proceso de diluciones en serie hasta 10^{-5} sobre el medio modificado SM-1 (Tsai *et al.*, 1985).

Una vez purificados todos los aislamientos fueron mantenidos en caldo nutriente líquido en condiciones de refrigeración. Dos semanas más tarde fueron probados en plantas de tomate de 21 días de edad. De esta primera prueba fueron descartados los aislamientos M1, M3, L7-1 y L7-2, ya que no lograron inducir síntomas de marchitamiento en las plantas inoculadas. Se seleccionaron tres aislamientos, TL8-1, M2 y M4 que si indujeron síntomas de marchitamiento en diferente grado. En toda la prueba se trabajó con estos tres aislamientos y dos mezclas de aislamientos más que resultaron de combinar el TL8-1 con el M2 y el TL8-1 con el M4.

Todos los aislamientos fueron multiplicados en el medio tetrazolium chloride (TZC) (Kelman, 1954) e inoculados 48 horas después. Las macetas utilizadas fueron de 1 kg de capacidad, se inocularon un total de 25 plantas (5 plantas/aislamiento) de 21 días de edad y el sustrato utilizado fue suelo esterilizado mezclado con arena en una proporción de 3:1. El método de inoculación de la bacteria fue el de heridas a las raíces (Grimault y Prior, 1993; Grimault *et al.*, 1994a,b) y la inmediata aplicación de 50 ml de la suspensión bacteriana, cuya concentración fue de 6×10^8 ufc.ml⁻¹.

El grado de patogenicidad del aislamiento (GPA) estuvo basado en los índices promedio de severidad de la enfermedad y fue determinado como nula = 0; baja = 0.1 a 2; media = 2.1 a 3; y alta = 3.1 a 4. Estos parámetros para medir el grado de patogenicidad de los aislamientos constituyen una modificación al criterio empleado con el mismo propósito por Adhikari *et al.* (1993) ya que, en lugar de utilizar la escala de Kempe y Sequeira (1983), ellos utilizan la escala de He *et al.* (1983).

Se determinó las diferencias en *virulencia* y *agresividad* entre los cinco aislamientos para seleccionar el más agresivo de ellos (Anexo 7). La virulencia fue medida a través de la escala de Kempe y Sequeira (1983), mientras que las diferencias en agresividad fueron medidas mediante el período de incubación (PI = número de días antes que la planta desarrolle síntomas visibles de la enfermedad) de acuerdo a Adhikari (1993).

3.3.2.4. Aplicación de los microorganismos antagonistas y manejo de los ensayos

3.3.2.4.1. Experimento I

El Experimento I fue sembrado el 14 de Mayo de 1999. Las semillas de tomate fueron bacterizadas con los microorganismos antagonistas *P.cepacia* y *B.cereus* como se detalla en la sección 3.3.1.2.6.1, y en el momento de la siembra se colocaron 2 gr de *G.occultum* por debajo de las semillas, pero sin que éstas hiciera un contacto directo con el inóculo del hongo.

A los 14 días después de la emergencia de las plántulas se aplicó un fertilizante foliar a razón de 2 cc.L⁻¹. El riego fue aplicado diariamente, suministrando 200 ml de agua por maceta y en los días más soleados y calurosos de 300 hasta 400 ml de agua, principalmente a las plantas que tenían compost como enmienda o sustrato, ya que estas plantas presentaron un mejor desarrollo de biomasa, por lo tanto sus exigencias hídricas fueron mayores en comparación con aquellas plantas que tenían cal dolomítica o solamente suelo esterilizado como sustrato.

Durante el período de experimentación no se hizo necesario la aplicación de ningún producto químico, puesto que no hubo presencia de plagas y enfermedades. A los 20 días después de la siembra (DDS) se realizó una segunda aplicación de los antagonistas (50 ml de suspensión bacteriana) en forma de riego al sistema radicular de las plántulas en los tratamientos correspondientes.

A los 25 DDS las macetas fueron inoculadas con una suspensión del aislamiento patógeno TL8-1. Esta suspensión se obtuvo de platos petri con el medio agar tetrazolium chloride (TZC) donde el patógeno había crecido a 30° C. La suspensión se preparó en agua destilada estéril y se ajustó a una densidad óptica de 600 nm (OD_{600}) = 0.3 (aproximadamente 6×10^8 UFC/ml) (Michel y Mew, 1998). El método de inoculación de la bacteria fue el de heridas a las raíces (Grimault y Prior, 1993; Grimault *et al.*, 1994a,b) y la inmediata aplicación de 40 ml de la suspensión bacteriana en cada maceta.

De 81 macetas que conformaron todo el ensayo, se inocularon 72 macetas incluyendo dentro de éstas, nueve macetas que representaban al testigo relativo en los diferentes sustratos y tratamientos. Las nueve macetas restantes que quedaron sin inocular con la bacteria patógena correspondieron al testigo absoluto. Las semillas que se utilizaron en el testigo relativo y el testigo absoluto no fueron bacterizadas con los antagonistas.

3.3.2.4.2. Experimento II

Este experimento fue sembrado el 23 de Junio de 1999. Las semillas no bacterizadas fueron sembradas en vasos plásticos de doce onzas de capacidad y el sustrato utilizado consistió de una mezcla de bocashi y suelo esterilizado. A las dos semanas de la siembra se escogieron las 81 plantas más vigorosas, nueve por tratamiento, y se dividieron en cuatro grupos:

Grupo 1: incluyó aquellas plantas que conformaron el tratamiento testigo absoluto, el testigo relativo y el tratamiento *G. occultum*.

Grupo 2: en este grupo se ubicaron las plantas del tratamiento *P. cepacia* y las plantas del tratamiento *P. cepacia* + *G. occultum*

Grupo 3: aquí se ubicaron las plantas del tratamiento *B. cereus* y las plantas del tratamiento *B. cereus* + *G. occultum*.

Grupo 4: estuvo conformado por plantas del tratamiento *P. cepacia* + *B. cereus* y el tratamiento *P. cepacia* + *B. cereus* + *G. occultum*.

Las raíces de los cuatro grupos de plantas fueron lavadas muy bien con abundante agua para eliminar cualquier residuo de suelo que pudiera haber quedado adherido a ellas. Luego las raíces de las plantas del Grupo 1 fueron sumergidas en agua estéril por una hora. Las raíces de las plantas del Grupo 2, 3 y 4 fueron sumergidas por una hora en una suspensión de las rizobacterias antagonistas *P. cepacia*, *B. cereus* y *P. cepacia* + *B. cereus* respectivamente. La concentración de las suspensiones bacterianas fue ajustada espectrofotométricamente a aproximadamente 1×10^8 ufc.ml⁻¹ (Anuratha y Gnanamanickam, 1990; Misaghi *et al.*, 1992). Inmediatamente después, las plantas tratadas y no tratadas fueron resembradas en vasos plásticos de doce onzas de capacidad que contenían tres tipos de sustratos: compost (como enmienda) + suelo esterilizado + arena (27 vasos), cal dolomítica (también como enmienda) + suelo esterilizado + arena (27

vasos) y suelo esterilizado + arena (27 vasos). Las proporciones de cada uno de los diferentes componentes de los sustratos fueron determinadas como en el Experimento I. En los tratamientos con el hongo endomicorrizico *G. occultum* se depositaron 2 gr de inóculo del hongo inmediatamente debajo del sistema radicular de las plantas sin que el inóculo hiciera contacto directo con el sistema radicular de las plántulas.

A los 27 DDS las plantas de tomate fueron transplantadas en macetas de 3.75 kg de capacidad que contenían los tres tipos de sustratos que se mencionaron anteriormente. Las plántulas fueron transplantadas con el suelo contenido en los vasos y adherido a las raíces. De 81 macetas que conformaban este ensayo, 72 fueron inoculadas nueve días antes del transplante con una suspensión bacteriana del aislamiento TL8-1 de *P. solanacearum*. Esta suspensión se obtuvo de la misma manera como en el Experimento I. En cada maceta se depositó 20 ml de la suspensión bacteriana. En este experimento no se hicieron heridas a las raíces de las plantas para facilitar la entrada de la bacteria fitopatógena.

A las plantas se les aplicó riego en la misma forma como en el Experimento I. A los 36 DDS las plantas fueron fertilizadas con la fórmula 10-30-10 (NPK) aplicada a una dosis de 5 gramos.maceta⁻¹; para combatir el mildiú polvoriento fue necesaria la aplicación de azufre a los cinco días después del transplante a una dosis de 1.5 gr.L⁻¹.

3.3.2.5. Variables evaluadas

Las evaluaciones de severidad de la enfermedad se hicieron cada semana y se iniciaron desde el momento que aparecieron los primeros síntomas. En el Experimento I la severidad fue evaluada durante cinco semanas, mientras que en el Experimento II se evaluó durante cuatro semanas. La severidad fue medida utilizando la escala de Kempe y Sequeira (1983) donde los grados de severidad son: 0 (plantas sin síntomas), 1 (0-25% de marchitez), 2 (26-50% de marchitez), 3 (51-75%), 4 (76-100% de marchitez). Se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) para comparar el progreso de la enfermedad bajo los diferentes tratamientos (Rivas-Platero, 1996; Tooley y Grau, 1984; Shaner y Finney, 1977).

Las variables de crecimiento altura y diámetro fueron evaluadas durante siete semanas en el Experimento I y durante seis semanas en el Experimento II. La altura de las plantas se midió desde la base hasta el ápice principal del tallo y el diámetro se midió a 15 cm por encima del cuello de la planta a partir de los 17 días después de la siembra.

En los dos experimentos la biomasa fue medida una vez que las plantas afectadas por la marchitez bacteriana alcanzaron el índice 4 en la escala de severidad, mientras que en las plantas no afectadas, la biomasa fue medida al final de los experimentos.

3.3.2.6. Análisis estadístico

Para el análisis se utilizó el procedimiento GLM (General Linear Models) de SAS versión 6.12. Se realizó análisis de varianza para las diferentes variables evaluadas. Para la separación de medias se utilizó la diferencia mínima significativa (DMS) con una $p \leq 0.05$. Para efectos del análisis estadístico de la severidad y del ABCPE en los dos experimentos no se incluyó al testigo absoluto.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. EXPERIMENTO DE CAMPO

4.1.1. Efecto de las enmiendas sobre las propiedades del suelo

Los resultados de los análisis de suelo practicados antes de la incorporación de las enmiendas y tres meses y medio después de la incorporación indican que se operaron cambios en el contenido de los principales nutrientes del suelo y en otras propiedades como la saturación de acidez ($[\text{acidez extraíble}/\text{CICE}] \times 100$), capacidad de intercambio de cationes ($\text{CICE} = \text{Ca} + \text{Mg} + \text{K} + \text{acidez extraíble}$), suma de bases ($\text{Ca} + \text{Mg} + \text{K}$) y pH (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados de los análisis de suelo realizados antes y después de la incorporación de compost y cal dolomítica en el Lote # 8 de la Estación Experimental "La Montaña" y su relación con el nivel crítico (NC).

Parcela	Valores promedio de los factores analizados										
	PH	A.E.	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn	N	M.O.
			-----cmol(+)/L-----			-----mg/L-----			-----%-----		
SSE ¹	5.2	0.64	3.07	1.19	0.33	21.77	21.17	3.70	16.90	0.29	5.32
CMP	5.4	0.22	4.62	1.37	0.40	47.52	24.68	4.66	18.99	0.32	6.58
CD	5.6	0.17	4.28	1.87	0.42	23.98	24.11	4.22	17.36	0.29	5.95
SSE ²	5.2	0.73	2.77	1.14	0.34	31.73	19.62	4.08	19.46	0.27	5.67
N.C.	5.5	0.5	4.00	1.00	0.20	10.00	1.00	3.00	5.00	-	5.00

SSE¹: valores del primer análisis de suelo antes de la incorporación de las enmiendas; SSE²: valores del segundo análisis de suelo tres meses y medio después del primer análisis de suelo. CMP = compost; CD = cal dolomítica; SSE = suelo sin enmiendas.

Todos los valores representan el promedio de cuatro repeticiones y los valores de cada parcela se comparan con respecto a los valores promedios antes de la incorporación de las enmiendas. Para el nivel crítico de cada uno de los valores anotados arriba se usó el criterio definido por Bertsch (1995).

Hubo una pequeña elevación en los valores del pH en las parcelas enmendadas, no así en las parcelas que no recibieron enmiendas. La acidez extraíble disminuyó en las parcelas enmendadas, principalmente en aquellas que se aplicó cal dolomítica, mientras que en las parcelas sin enmiendas esa variable experimentó un ligero aumento. Esto provocó cambios

en los porcentajes de saturación de acidez en las diferentes parcelas una vez que se incorporaron las enmiendas. Para toda el área experimental la saturación de acidez fue de 12.24%. Este porcentaje fue modificado en las diferentes parcelas del lote de la siguiente manera: en las parcelas con compost este porcentaje disminuyó a 3.33, en las parcelas con cal dolomita disminuyó a 2.52 y en las parcelas sin enmiendas aumentó a 14.66. Sin embargo, el porcentaje de saturación se mantuvo entre los límites medios de tolerancia, sin riesgos para el cultivo de tomate (Cuadro 3)

La suma de bases también sufrió cambios después de la incorporación de las enmiendas, aumentando de 4.59 cmol(+)/L a 6.57 cmol(+)/L en las parcelas con cal dolomita, 6.39 cmol(+)/L en las parcelas con compost y disminuyendo a 4.25 cmol(+)/L en las parcelas sin enmiendas. Por otro lado, la CICE cambió de 5.23 cmol (+)/L inicialmente a 6.74 cmol(+)/L en las parcelas con cal, 6.61 cmol(+)/L en las parcelas con compost y disminuyó a 4.98 cmol(+)/L en las parcelas sin enmiendas. Tanto la suma de bases, como la CICE tuvieron valores medios con respecto a la tabla de niveles críticos (Bertsch, 1995) en las parcelas enmendadas y valores bajos en las parcelas sin enmiendas (Cuadro 3).

Algunos de los nutrientes esenciales (Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Mn, N) presentaron tendencia a aumentar en las parcelas con enmiendas, caso contrario a lo ocurrido en las parcelas sin enmiendas donde estos nutrientes tuvieron un comportamiento fluctuante, algunos de ellos aumentaron levemente y otros incluso hasta disminuyeron durante el período. El elemento que tuvo un mejor comportamiento fue el P, en las parcelas con compost este elemento aumentó en 1.18 veces su contenido en el suelo.

La materia orgánica se incrementó de manera general en las tres parcelas. En las parcelas donde se aplicó el compost este resultado era de esperarse, ya que el compost aporta materia orgánica adicional al suelo, sin embargo en las otras parcelas (cal dolomítica y sin enmiendas) también se observó un leve incremento de la materia orgánica. La explicación de este aumento puede ser que antes de la incorporación de las enmiendas fue necesario hacer una pasada de arado, la cual eliminó la vegetación que estaba sobre el suelo y la incorporó en él. Esta masa de vegetación incorporada ayudó a aumentar el contenido de

materia orgánica en esas parcelas donde no hubo suplemento de ella a través de la adición de compost.

4.1.2. Interacción ecológica nemátodos-*P. solanacearum*

El principal interés en este estudio estuvo centrado en la interacción *Meloidogyne-P. solanacearum*, ya que se ha reportado una interacción sinérgica entre estos dos organismos (Napiere y Quimio, 1980; Deberdt *et al.*, 1999).

De acuerdo con el umbral económico de daño (UED) de 2-100 juveniles establecido por Netscher y Sikora, (1990) para el cultivo de tomate, en las parcelas donde fue incorporado posteriormente el compost el número promedio de juveniles estuvo en el límite inferior del UED, mientras que en las parcelas donde no fue aplicada posteriormente ninguna enmienda el promedio de juveniles sobrepasó el UED. En las parcelas donde se aplicó con posterioridad la cal dolomítica el promedio de juveniles se situó un poco más allá de la mitad del UED (Cuadro 4). A pesar que en las parcelas sin enmiendas y con cal dolomítica se observaron altos promedios de juveniles, es importante destacar que, la gran mayoría de esos juveniles presentaron un alto grado de parasitismo (Cuadro 4, números en negrilla) por *Pasteuria penetrans*, una bacteria parásito obligado, que es muy común encontrarla atacando a *Meloidogyne*, especialmente a los juveniles (Birchfield y Antonpoulos, 1976). Con respecto a los dos géneros restantes de nemátodos se puede observar que sus poblaciones son altas en las tres parcelas, especialmente las de *Helicotylenchus* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Principales géneros de nemátodos encontrados en las muestras de suelo del área experimental antes de la incorporación de las enmiendas.

Nemátodos	Número de nemátodos en las parcelas principales en cuatro repeticiones														
	Compost					Cal dolomítica					Sin enmiendas				
	1	2	3	4	μ	1	2	3	4	μ	1	2	3	4	μ
<i>Meloidogyne</i>	0	8	0	0	2	0	1	180	76	64	0	60	396	3	115
<i>Pratylenchus</i>	4	0	24	28	19	16	52	4	0	18	48	16	8	0	18
<i>Helicotylenchus</i>	144	8	132	236	130	216	200	80	216	178	136	88	104	84	103

^aNúmero de juveniles.100 cm³ de suelo⁻¹. μ = promedio de cuatro repeticiones.

La población de juveniles de *Meloidogyne* se redujo en las parcelas que recibieron la cal dolomítica como enmienda y aun en las parcelas que no recibieron ningún tipo de enmienda. En las parcelas que recibieron compost como enmienda el número promedio de juveniles sufrió un leve incremento que se puede considerar insignificante. Las poblaciones de los otros dos géneros de nemátodos también disminuyeron en las tres parcelas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Principales géneros de nemátodos encontrados en las muestras de suelo del área experimental 16 semanas después de la incorporación de las enmiendas.

Nemátodos	Número* de nemátodos en las parcelas principales en cuatro repeticiones														
	Compost					Cal dolomítica					Sin enmienda				
	1	2	3	4	μ	1	2	3	4	μ	1	2	3	4	μ
<i>Meloidogyne</i>	0	10	0	0	2	0	0	8	2	2	0	0	6	2	2
<i>Pratylenchus</i>	12	4	0	2	4	8	46	2	4	15	16	2	10	0	7
<i>Helicotylenchus</i>	34	50	24	28	34	54	40	56	98	62	16	8	184	46	63

*Número de juveniles. 100 cm³ de suelo⁻¹. μ = promedio de cuatro repeticiones.

Esta disminución de las poblaciones de *Meloidogyne* podría explicarse con el control ejercido por poblaciones nativas de *Pasteuria penetrans*, ya que no se aplicó ningún tipo de nematocida químico, lo cual también explica porque no se encontraron evidencias de agallamiento en plantas de tomate severamente afectadas por la marchitez bacteriana causada por *P. solanacearum*. En este caso se descarta por lo tanto un posible incremento en la incidencia y severidad de la marchitez bacteriana debida a la presencia de nemátodos agalladores. Ese incremento en la incidencia de la marchitez bacteriana es más bien atribuible a otras causas, como por ejemplo, la presencia de larvas de *Phyllophaga* spp., las que se encontraron en un número de 2 a 3 por sitio, y al alimentarse de las raíces de las plantas suministraron sitios de entrada para microorganismos que, como *P. solanacearum*, no pueden hacerlo de otra forma más que a través de heridas. Esto es sustentado por Smith (1909), el cual fue el primero en observar que además de los nemátodos, los insectos del suelo, principalmente sus larvas, también eran responsables de las muchas infecciones causadas por *P. solanacearum*.

4.1.3. Malezas-*P. solanacearum*

Las malezas predominantes fueron en este orden *Melampodium perfoliatum*, *Millieria quinqueflora*, *Rottboellia cochinchinensis*, *Bidens pilosa*, *Emilia fosbergii*, *Erigeron* spp., *Digitaria sanguinalis*, *Cynodon dactylon*, *Eclipta alba*, *Ageratum conyzoides*, *Portulaca oleracea* y *Galinsoga ciliata*. De estas, las que se presentaron síntomas evidentes de marchitamiento fueron *Melampodium perfoliatum* y *Erigeron* spp., confirmándose su relación directa con *Pseudomonas solanacearum* al aislar esta bacteria patógena de estas plantas enfermas. De las malezas de hoja ancha, solamente en *Millieria quinqueflora*, *Bidens pilosa* y *Emilia fosbergii* se detectó la presencia de la bacteria en la zona rizosférica de estas plantas, pero en poblaciones bajas (1×10^2). Estas tres malezas no presentaron síntomas de marchitamiento y no se encontró presencia de la bacteria en el interior de sus tejidos (raíces y parte basal del tallo).

Estos resultados confirman el importante papel que juegan las malezas, como hospedantes secundarios, para la sobrevivencia y mantenimiento de bajas, pero infectivas, poblaciones de *P. solanacearum* en el suelo, cuando está ausente un cultivo susceptible como el tomate. Resultados similares han sido reportados con anterioridad por Akiew *et al.* (1993) y Hayward (1986). Esta habilidad de *P. solanacearum* para persistir en las raíces de las malezas también explicaría la reducción en la efectividad de las rotaciones de cultivo reportada por Jackson y Gonzalez (1981) y Melton y Powell (1991).

4.1.4. Efecto de las enmiendas sobre las poblaciones de *P. solanacearum*

Las poblaciones de *P. solanacearum* tuvieron un comportamiento fluctuante durante el periodo de evaluación (Enero-Septiembre) y en los dos primeros muestreos no se detectaron diferencias significativas en el número de unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de suelo de *P. solanacearum* en las parcelas con enmiendas (compost y cal dolomítica) y en las parcelas sin enmiendas (Anexo 8).

En las parcelas con compost se observó un incremento de las poblaciones del patógeno en el período comprendido de enero a abril (Figura 1 y Anexo 8). Este incremento puede estar relacionado con algunos de los componentes (sustratos) del compost, los cuales junto con la materia verde incorporada con el arado, favorecieron la multiplicación del patógeno al mantener una humedad adecuada en el suelo. Posteriormente, con las primeras lluvias estos mismos sustratos probablemente activaron la microbiota antagonista nativa del suelo y a partir de abril hasta septiembre se observó una declinación en las poblaciones del patógeno en las parcelas con compost (Figura 1).

En las parcelas con cal dolomítica, las poblaciones del patógeno también experimentaron un incremento de enero a abril, pero posteriormente esas poblaciones mostraron una tendencia a estabilizarse de abril a septiembre como resultado del aumento del pH del suelo (Figura 1 y Cuadro 3). Por el contrario, en las parcelas sin enmiendas las poblaciones de *P. solanacearum* permanecieron presentaron mayor estabilidad de enero a abril. Posteriormente se observó incremento brusco de abril a septiembre (Figura 1), lo que sugiere que las enmiendas de una u otra manera tuvieron cierto efecto sobre las poblaciones del patógeno, aún cuando ese efecto se haya manifestado de forma tardía.

En el tercer muestreo se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el número de ufc.gr⁻¹ de suelo entre las parcelas con enmiendas y las parcelas sin enmiendas. Entre las parcelas con enmiendas no se detectaron diferencias significativas en las poblaciones de *P. solanacearum* (Figura 1 y Anexo 8).

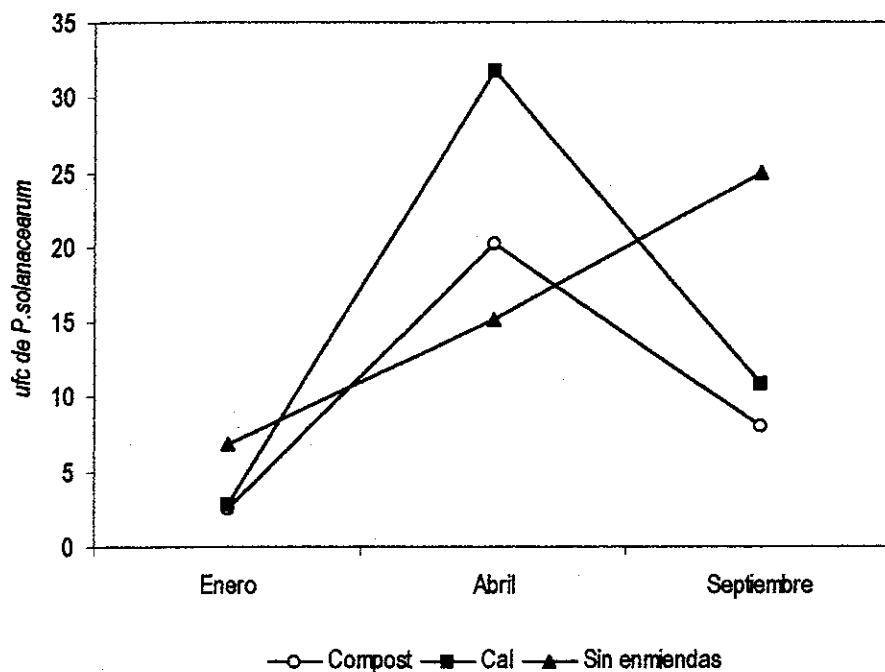


Figura 1. Comportamiento de las poblaciones de *P. solanacearum* en parcelas con enmiendas de compost (40 t.ha^{-1}), cal dolomítica (5 t.ha^{-1}) y en parcelas sin enmiendas.

Aunque se observó una tendencia hacia la reducción de las poblaciones de *P. solanacearum* en las parcelas con enmiendas, esa reducción no fue suficiente para suprimir completamente al patógeno. La tendencia de reducción de las poblaciones de la bacteria fue más marcada en las parcelas con compost, ya que a partir de abril se puede observar un claro descenso, que puede estar relacionado con la activación de las poblaciones microbianas benéficas en el suelo, después de la caída de las primeras lluvias. Caso contrario ocurrió en las parcelas sin enmiendas, donde las poblaciones tienen una clara tendencia a crecer en el tiempo (Figura 1).

Michel *et al.* (1997) reportan que, una enmienda consistente en urea (200 kg.ha^{-1}) + CaO (5 t.ha^{-1}) redujo significativamente la población de *P. solanacearum* ($P < 0.0001$). Estos mismos autores reportan que cuando esa enmienda fue aplicada en otros tres sitios distintos al primero, ésta no redujo significativamente la marchitez bacteriana en el campo, lo cual hace suponer que el tipo de suelo es un elemento importante a considerar cuando se emprenden medidas de control de la marchitez bacteriana a través de enmiendas (orgánicas

o inorgánicas). Elphinstone y Aley (1993) indican que, un mes después de la incorporación de una mezcla de CaO y urea, las poblaciones de *P. solanacearum* en el suelo de parcelas enmendadas y no enmendadas, no variaron significativamente de un año a otro.

4.1.5. Efecto de las enmiendas y antagonistas sobre la incidencia y severidad de la marchitez bacteriana.

4.1.5.1. Incidencia

No se observaron diferencias significativas ni en los efectos principales ni en la interacción de éstos últimos (Cuadros 6, 7 y Anexo 9). El porcentaje más bajo de incidencia fue observado en las parcelas que fueron enmendadas con compost y el más alto en las parcelas que no recibieron ningún tipo de enmienda (Cuadro 6).

Cuadro 6. Incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas con compost, cal dolomítica y sin enmiendas.

Tratamientos	Incidencia (%)
Compost	32.4
Cal dolomítica	37.3
Sin enmiendas	43.7
P > F	0.5994
DMS¹	32.8

¹Diferencia Mínima Significativa.

Entre los tratamientos, los porcentajes más bajos de incidencia fueron para los tratamientos *G. occultum*, *P. cepacia*+*B. cereus* y *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum* y fueron mejores que el testigo, aunque estadísticamente no hubo diferencias entre ellos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Incidencia de la marchitez bacteriana en las subparcelas tratadas con microorganismos antagonistas.

Tratamientos	Incidencia (%)
Testigo (Tg)	37.4
<i>Pseudomonas cepacia</i> (Pc)	40.5
<i>Bacillus cereus</i> (Bc)	42.4
<i>Glomus occultum</i> (Go)	33.7
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> (Pc+Bc)	32.3
<i>P.cepacia</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Go)	43.3
<i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Bc+Go)	39.9
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Bc+Go)	32.9
P > F	0.3822
DMS¹	18.7

¹Diferencia Mínima Significativa.

4.1.5.2. Índice de severidad de la enfermedad (ISE) y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE).

Para las variables índice de severidad de la enfermedad (ISE) y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) no se encontró diferencias estadísticas significativas tanto en los efectos principales como en la interacción de los mismos (Cuadros 8, 9 y Anexo 10).

Los menores valores promedio del ABCPE y del ISE fueron observados en las parcelas enmendadas con compost y los valores más altos se presentaron en las parcelas que no recibieron ningún tipo de enmienda (Cuadro 8)

Cuadro 8. Valores del índice de severidad de la enfermedad (ISE) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en parcelas enmendadas con compost, cal dolomítica y en parcelas sin enmiendas.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Compost	48.8	1.1
Cal dolomítica	53.1	1.2
Sin enmiendas	65.0	1.5
P > F	0.6123	0.6015
DMS²	50.1	1.1

¹Índice de Severidad de la Enfermedad según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Diferencia Mínima Significativa.

Los tratamientos que presentaron los valores más bajos del ABCPE y del ISE fueron en este orden *P.cepacia*+*B.cereus*, *G.occultum* y *P.cepacia*+*B.cereus*+*G.occultum* (Cuadro 9) y comparativamente sus valores fueron mejores que los del testigo. El tratamiento que obtuvo los valores más altos del ABCPE y del ISE fue *B.cereus* (Cuadro 9).

Cuadro 9. Valores del índice de severidad de la enfermedad (ISE) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en subparcelas tratadas con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Testigo (Tg)	56.1	1.3
<i>P.cepacia</i> (Pc)	61.8	1.4
<i>B.cereus</i> (Bc)	65.1	1.5
<i>G.occultum</i> (Go)	47.2	1.1
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> (Pc+Bc)	46.2	1.1
<i>P.cepacia</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Go)	62.7	1.4
<i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Bc+Go)	58.1	1.3
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Bc+Go)	47.9	1.1
P > F	0.3541	0.3376
DMS²	31.6	0.7

¹Índice de Severidad de la Enfermedad según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Diferencia Mínima Significativa.

Los tratamientos Pc+Bc, Pc+Bc+Go y Go presentaron valores promedio de incidencia, del ABCPE y del ISE más bajos que el Testigo (Tg). El resto de tratamientos tuvo un comportamiento inconsistente y sus valores de incidencia, ABCPE y severidad siempre superaron al Testigo. Dos de estos tratamientos consistieron de una mezcla de dos y tres microorganismos respectivamente. Esto podría sugerir que el uso de una combinación de múltiples organismos antagonistas puede suministrar un mejoramiento en el control de las enfermedades que el uso de esos organismos por separado (Cuadros 7 y 9). La combinación puede aumentar el nivel y consistencia del control al proveer múltiples mecanismos de acción, al crear una comunidad rizosférica más estable, y al proporcionar una mayor efectividad sobre un amplio rango de condiciones ambientales. En particular,

las combinaciones de hongos y bacterias pueden brindar protección en diferentes tiempos o bajo diferentes condiciones, además que ocupan nichos diferentes o complementarios (Larkin y Fravel, 1998).

Hay algunos reportes que han demostrado que el uso de combinaciones de agentes de control biológico compatibles condujo a un mejor control de las enfermedades contra las cuales fueron usados esos antagonistas (Duffy *et al.*, 1996; Duffy y Weller, 1995; Lemanceau y Alabouvette, 1991; Park *et al.*, 1988; Pierson y Weller, 1994). Otros reportes señalan que, aunque las combinaciones de microorganismos antagonistas tuvieron un efecto satisfactorio en la reducción de las enfermedades evaluadas, estas mezclas de microorganismos no suministraron un control significativamente mejor que los antagonistas aplicados solos (Larkin y Fravel, 1998).

En el presente estudio se pudo observar una tendencia de esas combinaciones a reducir el grado de severidad e incidencia de la marchitez bacteriana del tomate en el campo.

En cuanto a la dinámica de la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana después del trasplante, se encontraron diferencias significativas entre estas dos variables y el tiempo (semanas después del trasplante), por lo cual se recurrió a un análisis de regresión lineal para conocer si había relación entre la incidencia, la severidad y el tiempo. La regresión fue significativa ($p > F = 0.0001$ que coincidió con la $p > T = 0.0001$) y se demostró que hay relación entre el incremento de la incidencia y la severidad en el tiempo (Figuras 2, 3, 4, 5, 6 y 7). Los coeficientes de regresión fueron 0.5 para la severidad y 11.1 para la incidencia, es decir que, la severidad aumentó semanalmente media unidad en la escala (0-4) utilizada para medirla, mientras que la incidencia aumentó un poco más del 11% por semana.

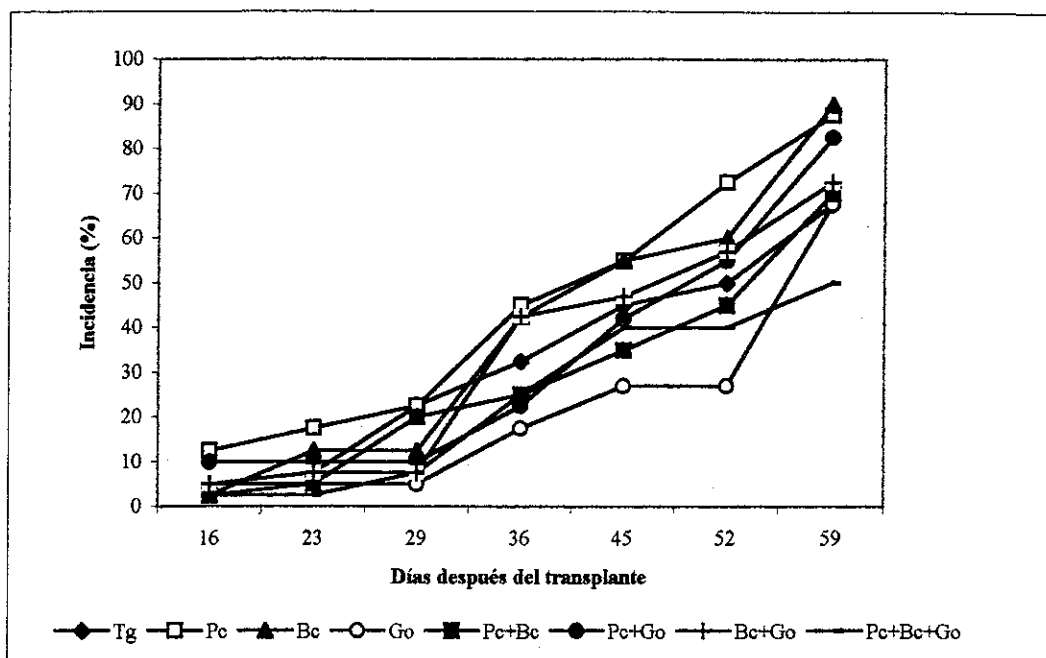


Figura 2. Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate enmendadas con compost a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

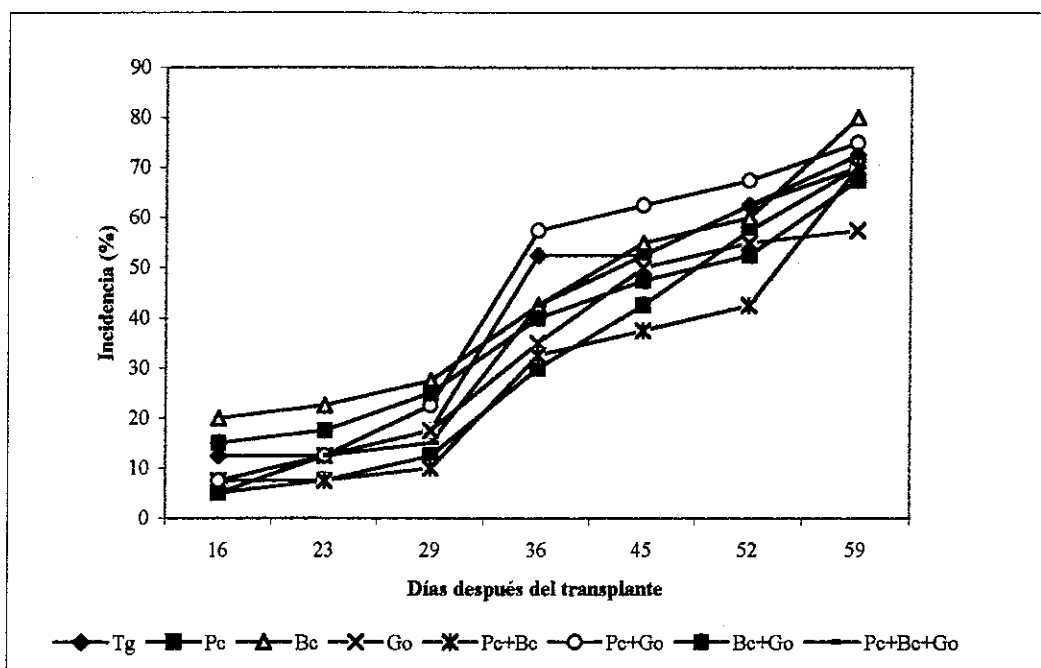


Figura 3. Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate enmendadas con cal dolomítica a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

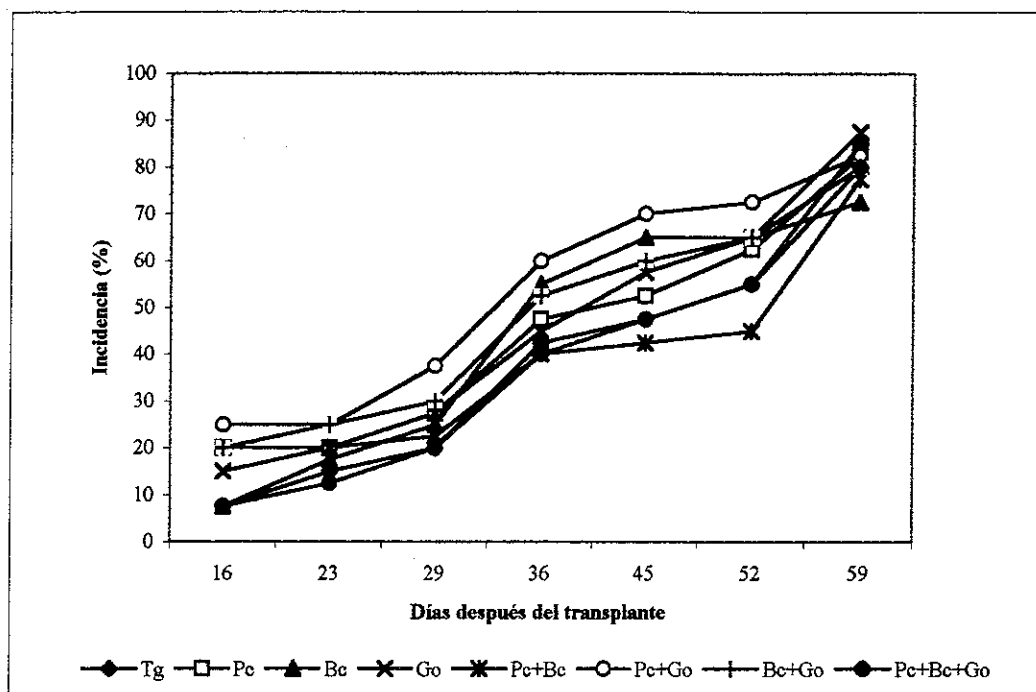


Figura 4. Desarrollo de la incidencia de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate sin enmiendas a los 16, 23, 29, 36, 45, 52 y 59 días después del transplante. Tg (Testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

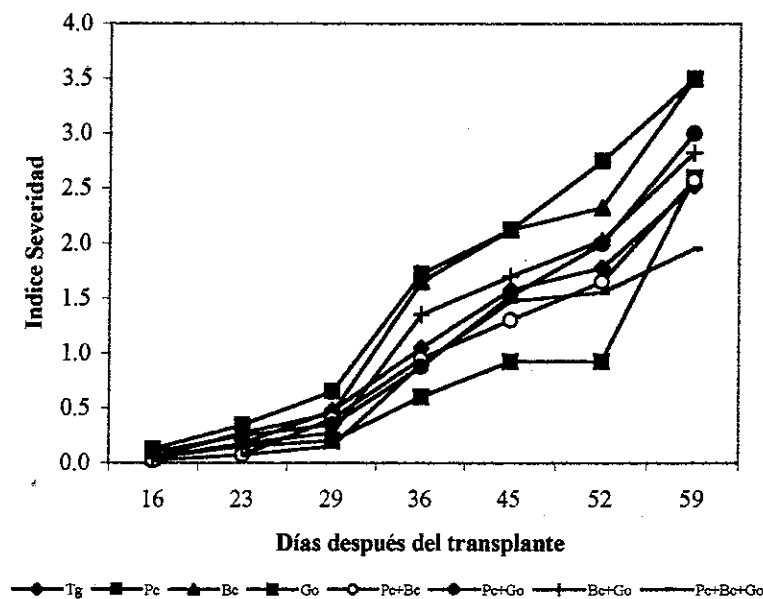


Figura 5. Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate tratadas con compost y microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

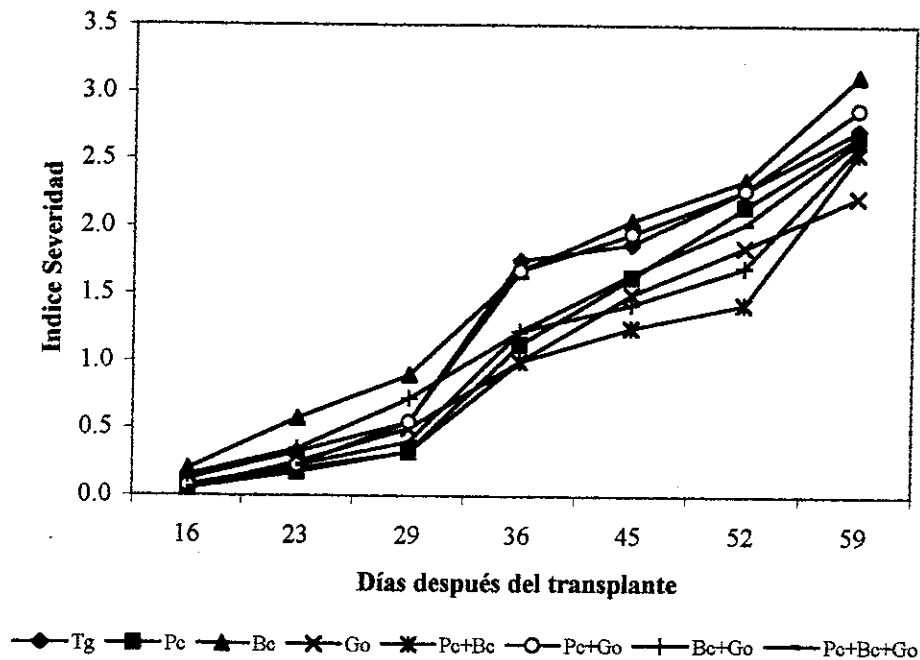


Figura 6. Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate tratadas con cal dolomítica y microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

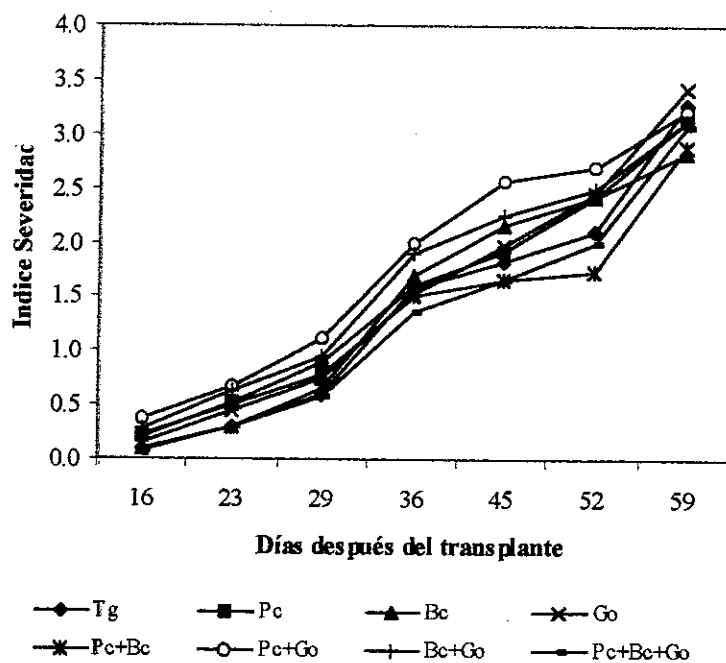


Figura 7. Desarrollo de la severidad de la marchitez bacteriana en parcelas de tomate sin enmiendas y tratadas con microorganismos antagonistas. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

Los resultados del estudio de campo, indican que las enmiendas (compost y cal dolomítica) y microorganismos antagonistas no desplegaron un efecto supresivo significativo sobre las poblaciones, incidencia y severidad del agente causal de la marchitez bacteriana, *P. solanacearum*. A pesar de esto, si hubo algunos tratamientos, Go, Pc+Bc y Pc+Bc+Go, que mostraron cierto nivel de reducción, aunque no significativamente desde el punto de vista estadístico, el ABCPE, la incidencia y la severidad en las parcelas con enmiendas.

Con relación a los composts, Hoitink y Fahy (1986) señalan que no todos los composts son utilizados con éxito. El tipo y el nivel de madurez del compost, así como también el método de compostaje, afectan la supresión de enfermedades.

De manera que los composts afectan de diferentes formas las enfermedades causadas por patógenos del suelo, por lo tanto, generalizaciones de su influencia sobre las enfermedades no deberían ser hechas. Concretamente, los resultados del presente estudio indican que el compost comercial utilizado puede tener buenos atributos como promotor del crecimiento de plantas de tomate, pero probablemente carece de una microbiota altamente competitiva que active por un lado mecanismos de defensa en la planta contra patógenos y por otro lado que active la microbiota nativa del suelo para que en conjunto puedan ejercer un efecto supresivo sobre el agente causal de la marchitez bacteriana.

Chellemi *et al.* (1992) al evaluar el efecto de enmiendas compostadas sobre la marchitez bacteriana en dos tipos de suelo encontró que la enfermedad fue suprimida pero a un nivel no significativo. La supresión de la enfermedad en uno de los suelos fue mediada por el contenido de carbono orgánico, mientras que en el otro fue el pH, el responsable para la variación de la incidencia de la enfermedad. Esto podría sugerir que, el efecto supresivo de las enmiendas compostadas sobre la marchitez bacteriana es sitio-específico.

La influencia de los factores físicos del suelo sobre el desarrollo de la marchitez bacteriana ha sido señalada con mucha inconsistencia en los reportes de las investigaciones llevadas a cabo con tal fin. Por ejemplo, Ho *et al.* (1988) señalan que la enfermedad incrementó con un incremento del pH del suelo, mientras que Locascio *et al.* (1988) reportan que la

enfermedad disminuyó al incrementarse el pH del suelo. Kelman (1950) observó una disminución en la incidencia de la enfermedad con un incremento en los niveles de Ca en el suelo. Por otro lado, Jaworski y Morton (1964), no pudieron encontrar ninguna relación entre los niveles de Ca y la enfermedad.

En este estudio en particular, una de las tantas causas que influyó de gran manera en los altos niveles de incidencia de la marchitez bacteriana fue la presencia de larvas de *Phyllophaga* spp., (de 2 a 3 larvas por sitio en algunos casos), las cuales interactuaron con la bacteria al facilitarle la entrada en las raíces de las plantas de tomate y al mismo tiempo ejerciendo un efecto detrimental en la salud general de las plantas predisponiéndolas a otros factores de estrés.

Hay que tener en cuenta que el compost hizo un aporte importante al contenido de materia orgánica del suelo, lo cual fue de mucho provecho para las larvas que de *Phyllophaga* spp., que gustan de suelos con cierta riqueza en el contenido de materia orgánica. Al respecto, Morón (1986) menciona que los adultos de *Phyllophaga* spp., prefieren ovipositar en suelos con alto contenido de materia orgánica y campos cubiertos de malezas gramíneas. King (1984) señala a *Erythrina poeppigiana* (poró) como el árbol hospedero preferido de los adultos de *Phyllophaga* spp., además también menciona a *Gliricidia sepium* (madero negro) como otro de los árboles hospederos de los adultos de *Phyllophaga* spp., en Turrialba, Costa Rica.

Todas estas condiciones para el desarrollo de *Phyllophaga* spp., que se mencionan anteriormente estuvieron presentes durante este experimento, ya que como se mencionó arriba, el suelo tenía un buen contenido de materia orgánica aportada una parte por el compost y otra parte importante por la incorporación de materia verde al momento de arar el terreno. Por otro lado, este terreno permaneció aproximadamente 2 años en barbecho y en él predominaban malezas gramíneas, las que ayudan a mantener las poblaciones del insecto en el suelo. Para amarrar las plantas de tomate se utilizaron tutores de poró y madero negro, los que son hospederos de los adultos del insecto plaga. Estos tutores fueron colocados un mes antes del transplante y lograron enraizarse y de esta manera se

convirtieron en refugio, sitio de alimentación y de oviposición para los adultos de *Phyllophaga* spp. Este factor de naturaleza biológica impidió que el compost desplegara su efecto supresivo de manera contundente.

Otro factor muy importante que propició un aumento en el número de plantas infectadas fue las condiciones climáticas que se presentaron durante el trasplante y en el período posterior a éste. Durante el trasplante predominó un período seco que no permitió un buen establecimiento de las plántulas, las que sufrieron de estrés hídrico, aún cuando les fue suministrado riego constantemente. Estas plantas posteriormente estuvieron sometidas a intensas lluvias, las que contribuyeron a aumentar los niveles de inóculo de *Pseudomonas solanacearum* en el suelo y a su diseminación de plantas enfermas a plantas sanas. Estas lluvias también posibilitaron además un rápido desarrollo del tizón tardío (*Phytophthora infestans*), enfermedad que no permitió seguir evaluando el impacto de *Pseudomonas solanacearum* sobre los rendimientos del cultivo de tomate.

Otro aspecto muy importante a tomar en cuenta es, la relación que existe entre el tamaño de la población de una bacteria introducida y el nivel de supresión de los patógenos en las raíces. Al respecto, Jjemba y Alexander (1999) en un estudio llevado a cabo para determinar los rasgos posibles que son importantes para la competencia rizosférica de las bacterias, obtuvieron resultados que sugieren que la habilidad de las bacterias para sobrevivir en grandes números en el suelo es un rasgo fundamental de su éxito en la subsecuente colonización de la rizosfera.

Aunque no se hicieron pruebas para conocer el grado de colonización y establecimiento de los antagonistas en el sistema radicular de las plantas de tomate, los resultados sugieren que causas como las que se mencionaron anteriormente (*Phyllophaga* spp., condiciones climáticas adversas al cultivo, tipo de compost) pudieron ser el principal obstáculo para que los antagonistas introducidos con las semillas no hayan hecho manifiesto su potencial supresivo del agente causal de la marchitez bacteriana.

4.2. EXPERIMENTOS DE INVERNADERO

4.2.1. Pruebas de patogenicidad de aislamientos de *P. solanacearum*

Los aislamientos por separado y en mezcla tuvieron diferente grado de patogenicidad del aislamiento (GPA). El aislamiento TL8-1 obtuvo un GPA de 3.5 considerado alto según el criterio de Adhikari *et al.* (1993). Los otros aislamientos tuvieron un GPA bajo según este mismo criterio (Anexo 4). El aislamiento TL8-1 a los nueve días después de la inoculación (DDI) produjo en su interacción con la planta el máximo (4) índice de severidad de la enfermedad (ISE) según la escala de Kempe y Sequeira (1983) (Anexo 7 y Figura 8). Tomando en consideración estas características del aislamiento TL8-1 fue seleccionado para realizar las inoculaciones en el Experimento I y Experimento II que se llevaron a cabo en condiciones de invernadero.

Todos los aislamientos fueron patogénicos y virulentos, sin embargo de acuerdo a la terminología propuesta por Vanderplank (1984), el aislamiento TL8-1 fue más agresivo que los otros cuatro aislamientos. El aislamiento M4 de *Melanpodium* fue más virulento cuando se aplicó solo que cuando se aplicó en mezcla con el aislamiento TL8-1. En este último caso incluso se observó una aparente pérdida de la virulencia de la mezcla. Esta pérdida en virulencia ha sido atribuida al desarrollo de variantes avirulentas o débilmente virulentas que difieren en la morfología de la colonia sobre medios sólidos de las formas virulentas fluidas (Kelman, 1954). Esta pérdida de la virulencia puede presentarse *in vivo* e *in vitro* (Gadewar *et al.*, 1993) y es conocida como "conversión fenotípica" (Denny *et al.*, 1994), la que se debe a la pérdida de uno o más componentes de los polisacáridos extracelulares (PEC) (Husain y Kelman, 1958; Orgambide *et al.*, 1991).

En particular en este estudio, la pérdida de virulencia fue observada *in vivo*, es decir en el suelo, puesto que para mezclar los diferentes aislamientos se tuvo en consideración que las colonias fueran irregularmente redondeadas, fluidas, blanco cremosas con centros ligeramente rosados, las cuales corresponden a las formas virulentas del patógeno. Los aislamientos de *Melanpodium* fueron en general débilmente patogénicos cuando fueron

inoculados solos en plantas de tomate, mientras que mezclados en una proporción 50:50 con un aislamiento más agresivo como el TL8-1 es posible que hayan perdido por completo su capacidad de infectar las raíces de las plantas y de ahí la planta entera. Al mismo tiempo, es probable que estos aislamientos al producir algún tipo de inhibidor del crecimiento hayan cambiado la proporción inicial de individuos a su favor y de esta manera hayan inducido el retardo en el desarrollo de los síntomas y la reducción de la severidad observados en las plantas que fueron inoculadas con las mezclas (Anexo 7 y Figura 8).

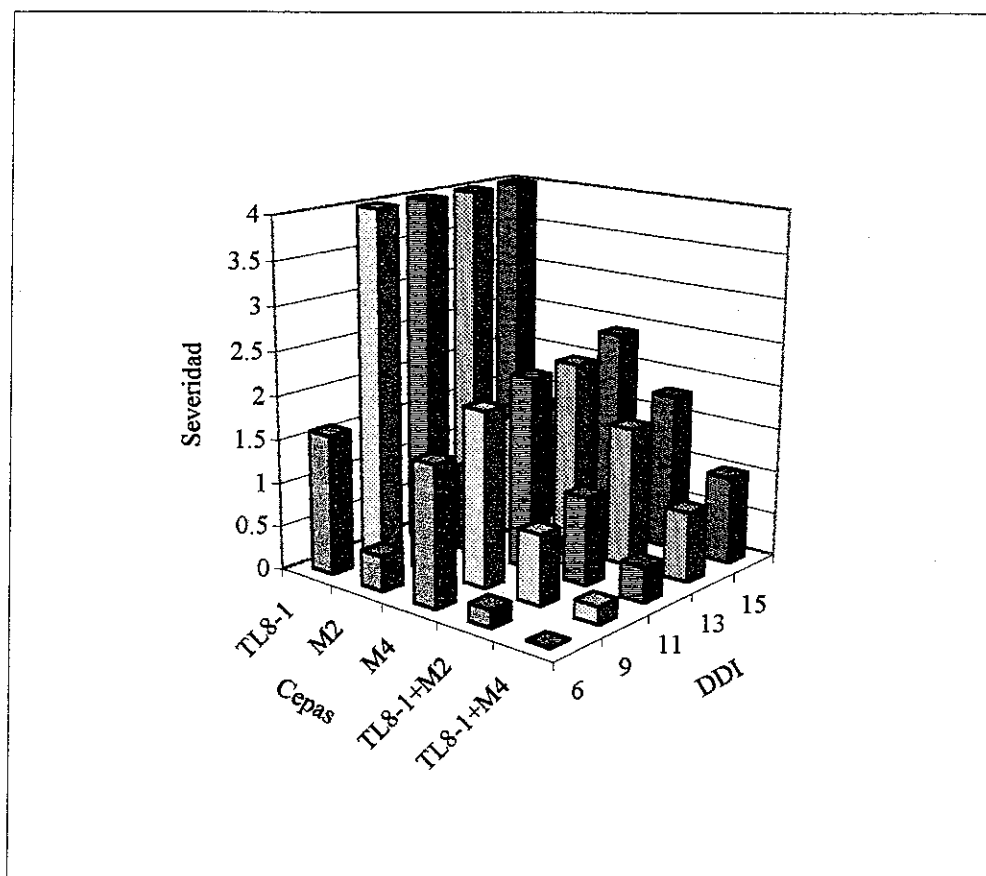


Figura 8. Relación entre la severidad de aislamientos de *P. solanacearum* E.F.Smith y el tiempo después de la inoculación de plantas de tomate. DDI (días después de la inoculación).

4.2.2. EXPERIMENTO I

4.2.2.1. Efecto de las enmiendas compost y cal dolomítica y microorganismos inoculados a las semillas de tomate sobre las variables de crecimiento.

4.2.2.1.1. Altura y Diámetro

No se encontraron diferencias estadísticas significativas para la variable altura entre los diferentes tratamientos sustratos, pero sí para el diámetro (Cuadro 10). Diferencias significativas se observaron dentro de los tratamientos microbianos, así como también en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos para las dos variables en mención (Cuadro 11 y Anexo 11).

Cuadro 10. Comparación de la influencia de los tratamientos sustratos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de las plantas.

Tratamientos	Altura	Diámetro
Compost	36.9	8.3 a
Cal dolomítica	38.9	6.7 b
Sin enmiendas	28.0	5.1 c
P > F	0.1617	0.0142
DMS ²	3.573	0.747

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa.

Entre tratamientos, los valores más altos de altura y diámetro correspondieron al testigo absoluto (semillas no bacterizadas y no inoculado con *P. solanacearum*). El segundo mejor tratamiento fue *G. occultum*. El resto de tratamientos no se diferenciaron significativamente entre ellos en los valores de las variables de crecimiento evaluadas (Cuadro 11).

En la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos los mayores valores de altura y diámetro de las plantas fueron para el testigo absoluto en los sustratos enmendados, no así en los sustratos sin enmiendas. En los sustratos enmendados con compost, el segundo mejor tratamiento después del testigo absoluto fue *P. cepacia*+*G.*

occultum que obtuvo los mejores valores de altura y diámetro con respecto al resto de tratamientos que tuvieron sustrato enmendado con compost (Figuras 9, 10 y Anexo 11).

Cuadro 11. Influencia de los tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate.

Tratamientos	Altura	Diámetro
Testigo absoluto (Ta)	48.9 a ¹	8.5 a
Testigo relativo (Tg)	33.1 bc	6.3 b
<i>Pseudomonas cepacia</i> (Pc)	29.5 c	6.0 b
<i>Bacillus cereus</i> (Bc)	31.1 c	6.3 b
<i>Glomus occultum</i> (Go)	38.3 b	6.8 b
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> (Pc+Bc)	29.5 c	5.9 b
<i>P.cepacia</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Go)	31.1 c	6.4 b
<i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Bc+Go)	32.4 bc	6.2 b
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Bc+Go)	29.1 c	5.8 b
P > F	0.0001	0.0006
DMS²	6.3922	1.1252

¹Números en una misma columna seguidos por una misma letra, no se diferencian significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa.

En los sustratos enmendados con cal dolomítica, el mejor tratamiento después del Testigo absoluto fue el tratamiento *P. cepacia*+*B. cereus*, pero solamente con respecto a la variable altura, ya que su diámetro fue levemente inferior al de los tratamientos Ta, Tg y Go, pero no se diferenció significativamente de estos tratamientos con respecto a esa misma variable. En los sustratos sin enmiendas, el valor más alto de altura correspondió al tratamiento *G. occultum* y su diámetro fue igual al del testigo absoluto. Estadísticamente, la altura del tratamiento Go se diferenció del resto de tratamientos, a excepción del tratamiento Ta (Figuras 9, 10 y Anexo 11).

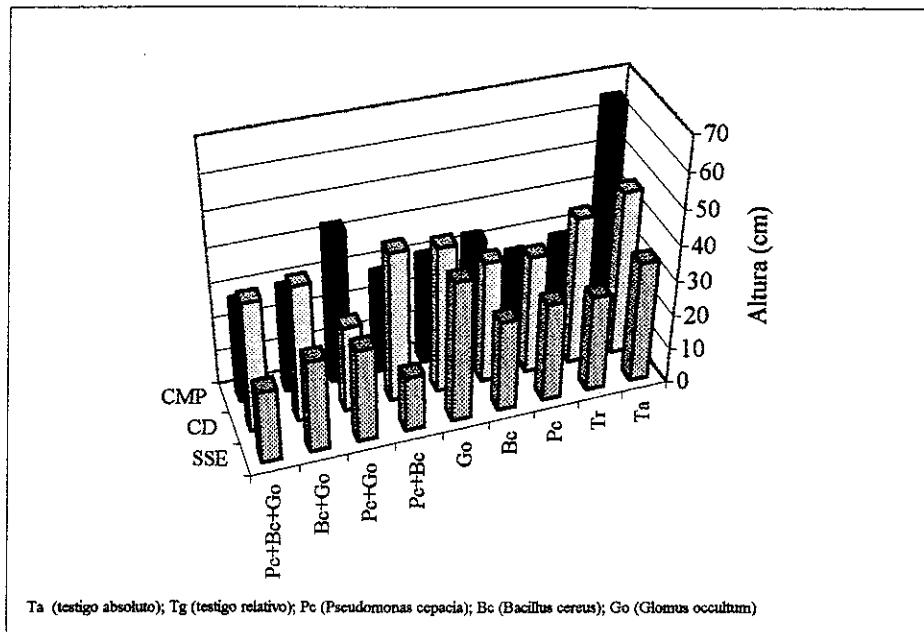


Figura 9 Altura de plantas de tomate desarrolladas a partir de semillas bacterizadas con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y suelo sin enmiendas (SSE).

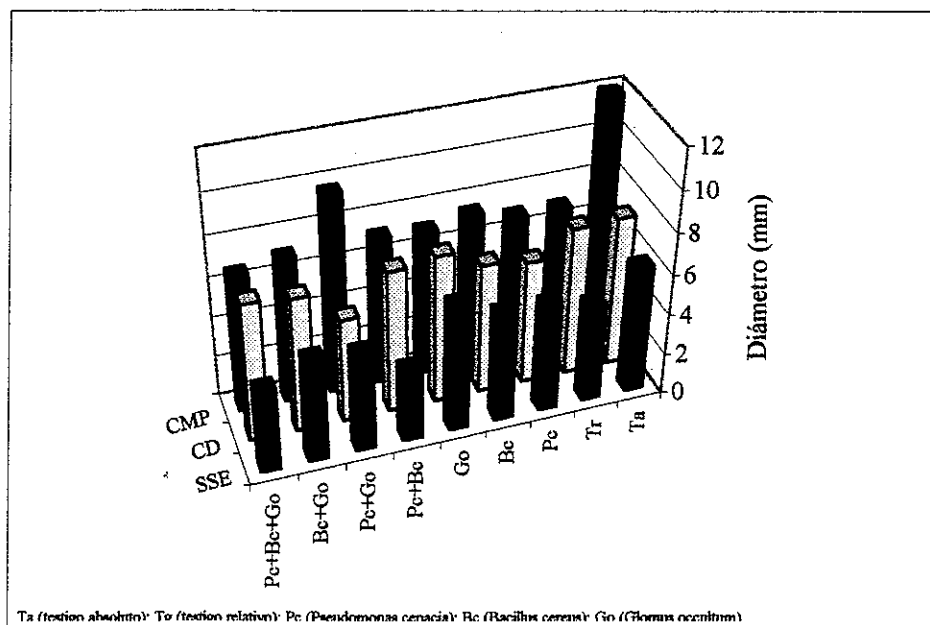


Figura 10. Diámetro de plantas de tomate desarrolladas a partir de semillas bacterizadas con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y suelo sin enmiendas (SSE).

4.2.2.2. Biomasa de follaje y de raíces

En esta variable se observó diferencias significativas entre los tratamientos sustratos, entre los tratamientos microbianos y en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos para las variables peso seco del follaje y de raíces (Cuadros 12, 13, 14). El sustrato compost fue mejor en los dos casos (Cuadro 12).

Cuadro 12. Comparación de la influencia de los tratamientos sustratos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos	Biomasa	
	Peso seco follaje (gr)	Peso seco de raíces (gr)
Compost	34.4 a ¹	2.2 a
Cal dolomítica	13.6 b	1.2 b
Sin enmienda	6.1 c	0.5 c
P > F	0.0011	0.0062
DMS²	4.5975	0.3685

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa.

Los valores más altos de peso seco del follaje correspondieron al testigo absoluto, el cual si se diferenció significativamente del resto de tratamientos. Dentro de los tratamientos con microorganismos el tratamiento que acumuló mayor cantidad de materia seca de follaje fue el tratamiento *G. occultum*. En la materia seca de las raíces también se observaron diferencias significativas, y el tratamiento *G. occultum* presentó el mayor peso seco después del testigo absoluto (Cuadro 13).

Cuadro 13. Influencia de los tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos	Biomasa	
	Peso seco follaje (gr)	Peso seco de raíces (gr)
Ta	35.7 a ¹	2.3 a
Tg	15.3 b	1.1 bc
Pc	11.4 b	0.8 c
Bc	13.3 b	1.0 bc
Go	20.4 b	1.7 ab
Pc+Bc	12.5 b	0.8 bc
Pc+Go	18.8 b	1.3 bc
Bc+Go	18.5 b	1.4 bc
Pc+Bc+Go	16.3 b	1.3 bc
P > F	0.0001	0.0001
DMS²	10.692	0.857

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa. Ta = testigo absoluto; Tg = testigo relativo; Pc = *Pseudomonas cepacia*; Bc = *Bacillus cereus*; Go = *Glomus occultum*.

En la interacción sustrato compost*tratamientos microbianos se observaron los valores más altos de peso seco de follaje y de raíces. En este sustrato el tratamiento *P.cepacia*+*G. occultum* superó a los demás tratamientos inoculados con el patógeno (Cuadro 14)

En el sustrato enmendado con cal dolomítica, el mejor resultó ser el tratamiento *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum* para el peso seco de follaje y de raíces, superando incluso al testigo absoluto (Cuadro 14). En el sustrato sin enmiendas, el valor más alto de peso seco de follaje y de raíces se observó en el tratamiento *Glomus occultum* (Cuadro 14).

Cuadro 14. Influencia de la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos Microbianos	Biomasa					
	Peso seco follaje (gr)			Peso seco de raíces (gr)		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Ta	79.8 a ⁴	18.1 a	9.2 ac	5.1 a	1.7 a	0.1 bc
Tg	22.3 c	19.5 a	4.1 ac	1.5 c	1.3 a	0.4 b
Pc	21.4 c	8.4 bc	4.4 ac	1.4 c	0.7 b	0.1 bc
Bc	32.4 bc	4.3 c	3.3 ac	2.1 bc	0.6 b	0.3 b
Go	30.0 bc	17.8 a	13.3 c	2.0 bc	1.8 a	1.3 a
Pc+Bc	23.6 bc	12.3 a	1.4 ab	1.6 bc	0.8 b	0.1 bc
Pc+Go	44.6 b	4.9 c	6.9 ac	2.6 b	0.4 b	0.8 a
Bc+Go	32.0 bc	15.2 a	8.1 ac	2.1 bc	1.4 a	0.7 a
Pc+Bc+Go	23.1 bc	21.8 a	4.1 ac	1.5 bc	2.0 a	0.4 b
P > F		0.0001			0.0001	

¹CMP = compost; ²CD = cal dolomítica; ³SSE = suelo sin enmiendas; ⁴Números en la misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. Ta = testigo absoluto; Tg = testigo relativo; Pc = *Pseudomonas cepacia*; Bc = *Bacillus cereus*; Go = *Glomus occultum*.

4.2.2.3. Efecto de compost, cal dolomítica y microorganismos antagonistas sobre la severidad de la marchitez bacteriana.

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos sustratos (Cuadro 15) pero no entre tratamientos microbianos (Cuadro 16) ni en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos (Anexo 12) con relación a los valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y el índice de severidad de la enfermedad (ISE).

El sustrato enmendado con compost se presentó los valores más altos para el ABCPE y el ISE (Figura 11 y Anexo 12). Este sustrato se diferenció significativamente del sustrato sin enmiendas con respecto a los valores del ABCPE, pero no se diferenció del sustrato enmendado con cal dolomítica. Similares resultados fueron obtenidos con el ISE en los tres sustratos evaluados (Cuadro 15).

Cuadro 15. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en sustratos con enmiendas y sin enmiendas e inoculados con una suspensión de 40 ml (6×10^8 ufc.ml⁻¹) de *P. solanacearum* E.F.Smith.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Compost	91.3 a ²	3.0 a
Cal dolomítica	37.5 ab	1.3 ab
Sin enmiendas	25.7 b	0.9 b
P > F	0.0369	0.0419
DMS³	60.8	2.035

¹Según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Números en la misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ³Diferencia Mínima Significativa.

Entre tratamientos, los valores más bajos del ABCPE y del ISE correspondieron a los tratamientos *G. occultum* y *B. cereus* en este orden, pero no se diferenciaron estadísticamente ni del testigo relativo, ni del resto de tratamientos (Cuadro 16).

Cuadro 16. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en plantas de tomate tratadas con microorganismos antagonistas.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Testigo relativo (Tg)	47.4	1.6
<i>P. cepacia</i> (Pc)	56.0	1.9
<i>B. cereus</i> (Bc)	44.3	1.5
<i>G. occultum</i> (Go)	42.4	1.4
<i>P. cepacia</i> + <i>B. cereus</i> (Pc+Bc)	66.9	2.2
<i>P. cepacia</i> + <i>G. occultum</i> (Pc+Go)	46.7	1.6
<i>B. cereus</i> + <i>G. occultum</i> (Bc+Go)	46.7	1.6
<i>P. cepacia</i> + <i>B. cereus</i> + <i>G. occultum</i> (Pc+Bc+Go)	61.4	2.0
P > F	0.5558	0.5941
DMS²	43.582	1.4495

¹Según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Diferencia Mínima Significativa.

Se encontró una relación entre el tiempo (semanas de evaluación) y el progreso de la severidad. El análisis de regresión reveló que había una relación significativa ($p > |T| = 0.0001$), determinándose a través del coeficiente de regresión que la tasa de incremento de la severidad por semana fue de 0.42, es decir, aproximadamente media unidad de la escala que se utilizó para medir la severidad.

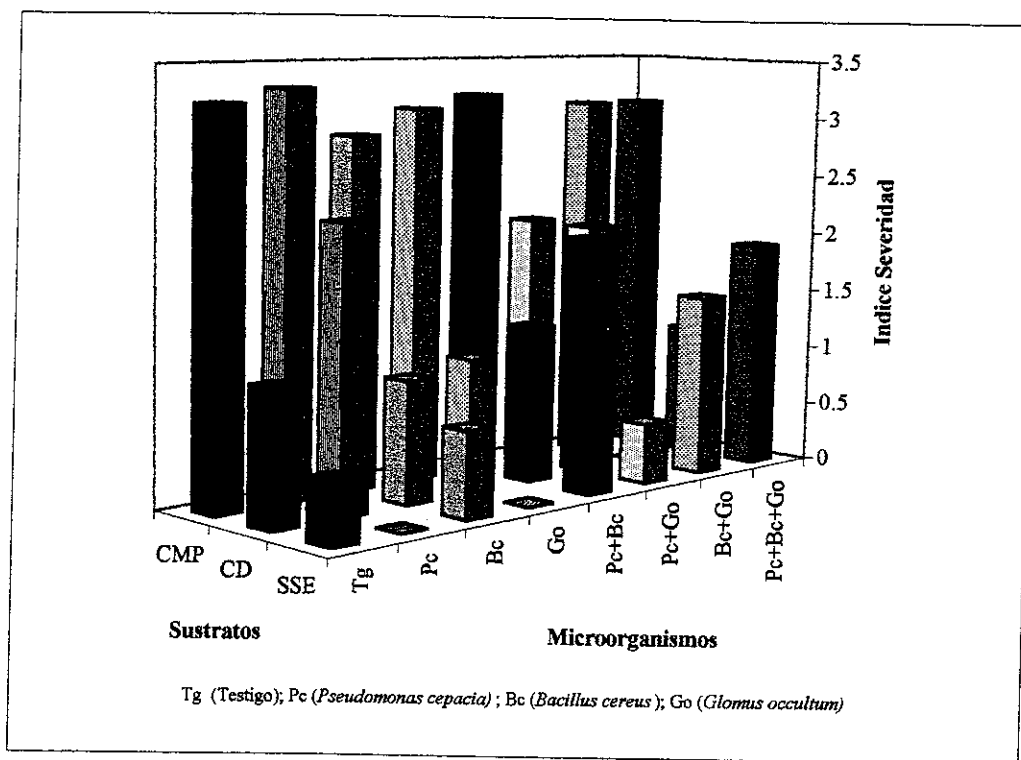


Figura 11. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate en sustratos con compost (CMP), con cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y en presencia de microorganismos antagonistas.

En la Figura 12 se muestra el comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana a los 6, 13, 20, 27 y 34 días después de la inoculación (DDI) del patógeno en los diferentes sustratos donde crecieron las plantas de tomate. El tratamiento *G. occultum* obtuvo al final del período de evaluación el índice de severidad más bajo (1.8); los tratamientos testigo relativo, *P. cepacia*+*G. occultum* y *B. cereus* obtuvieron un índice de severidad de 2.2, mientras que los tratamientos que presentaron el índice de severidad más alto de 2.7 fueron *B. cereus*, *P. cepacia*+*B. cereus* y la combinación de los tres microorganismos *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum* (Figura 12).

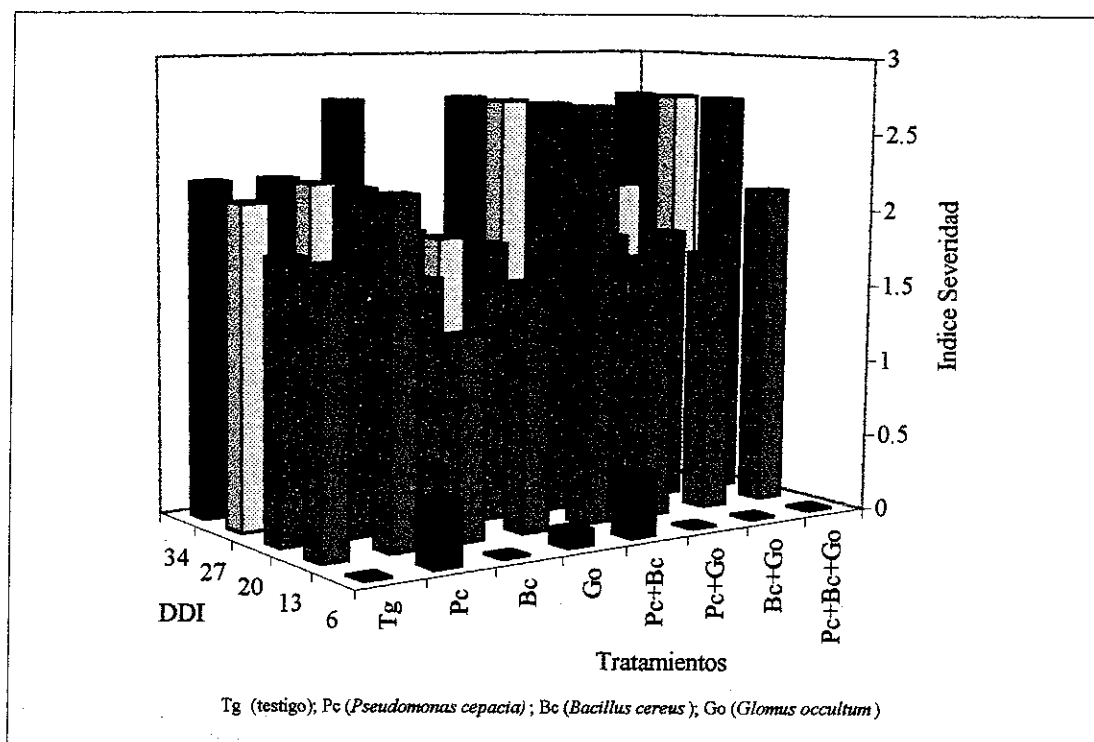


Figura 12. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate a los 6, 13, 20, 27 y 34 días después de la inoculación de los sustratos con 40 ml de una suspensión bacteriana de *P. solanacearum* a una concentración de 6×10^8 ufc.ml⁻¹.

4.2.3. EXPERIMENTO II

4.2.3.1. Efecto de compost, cal dolomítica y microorganismos antagonistas aplicados a las raíces de plántulas de tomate sobre las variables de crecimiento.

4.2.3.1.1. Altura y Diámetro

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos sustratos, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos microbianos ni en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos (Cuadros 17, 18 y Anexo 13).

El sustrato que promovió una mayor altura y un mayor diámetro de las plantas fue el compost y sus valores fueron significativamente diferentes de los otros dos sustratos (Cuadro 17).

Cuadro 17. Comparación del efecto de los tratamientos sustratos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate.

Tratamientos	Altura	Diámetro
Compost	70.6 a ¹	8.5 a
Cal dolomítica	39.0 b	6.2 b
Sin enmiendas	33.6 c	5.4 c
P > F	0.0004	0.0009
DMS²	1.711	0.144

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa.

De los tratamientos inoculados con *P. solanacearum*, el que promovió un mejor crecimiento en altura y diámetro de las plantas fue el tratamiento *G. occultum*, pero sus valores no se diferenciaron estadísticamente ni del resto de tratamientos inoculados ni del testigo absoluto (Cuadro 18). El tratamiento *G. occultum* mostró una tendencia a promover el crecimiento de las plantas en los dos experimentos, ya que en el Experimento I fue el tratamiento que presentó los valores promedio más altos de altura y diámetro entre los

tratamientos inoculados con el patógeno (Cuadro 11). Otro microorganismo que mostró tendencia a promover el crecimiento de las plantas fue *B. cereus*. En la mayoría de las combinaciones de microorganismos no se observó incrementos sustanciales en los valores de las variables altura y diámetro, incluso sus valores estuvieron por debajo de los valores alcanzados para esas mismas variables por los microorganismos aplicados en forma separada, a excepción del tratamiento *P. cepacia*+*G. occultum*) que fue levemente superior al tratamiento *P. cepacia* (Cuadro 18).

Cuadro 18. Efecto de los tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y diámetro (en mm) de plantas de tomate.

Tratamientos	Altura	Diámetro
Testigo absoluto (Ta)	55.1	6.9
Testigo relativo (Tg)	48.5	6.4
<i>Pseudomonas cepacia</i> (Pc)	45.0	6.3
<i>Bacillus cereus</i> (Bc)	50.2	6.8
<i>Glomus occultum</i> (Go)	52.4	7.2
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> (Pc+Bc)	42.2	6.6
<i>P.cepacia</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Go)	47.0	6.9
<i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Bc+Go)	43.2	6.5
<i>P.cepacia</i> + <i>B.cereus</i> + <i>G.occultum</i> (Pc+Bc+Go)	45.4	6.8
P > F	0.0822	0.4099
DMS¹	3.9322	0.331

¹Diferencia Mínima Significativa.

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos se pudo observar tendencia a que las plantas que crecieron en el sustrato con compost superaron en cuanto a crecimiento, a las plantas que crecieron en los otros sustratos, caso contrario a lo ocurrido en el Experimento I en donde los valores más altos de altura correspondieron a los tratamientos con cal dolomítica como sustrato (Figuras 13, 14 y Anexo 13)

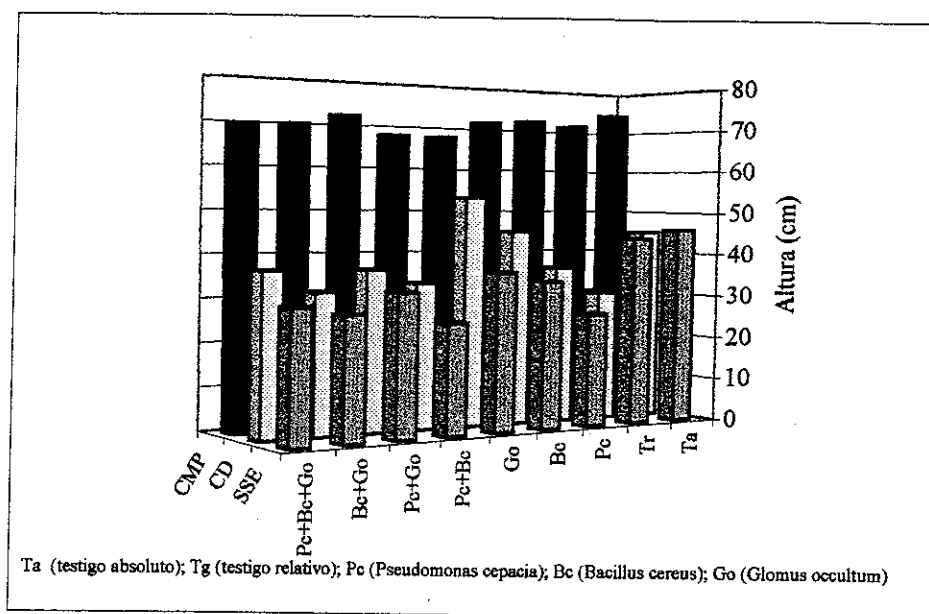


Figura 13. Altura de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith.

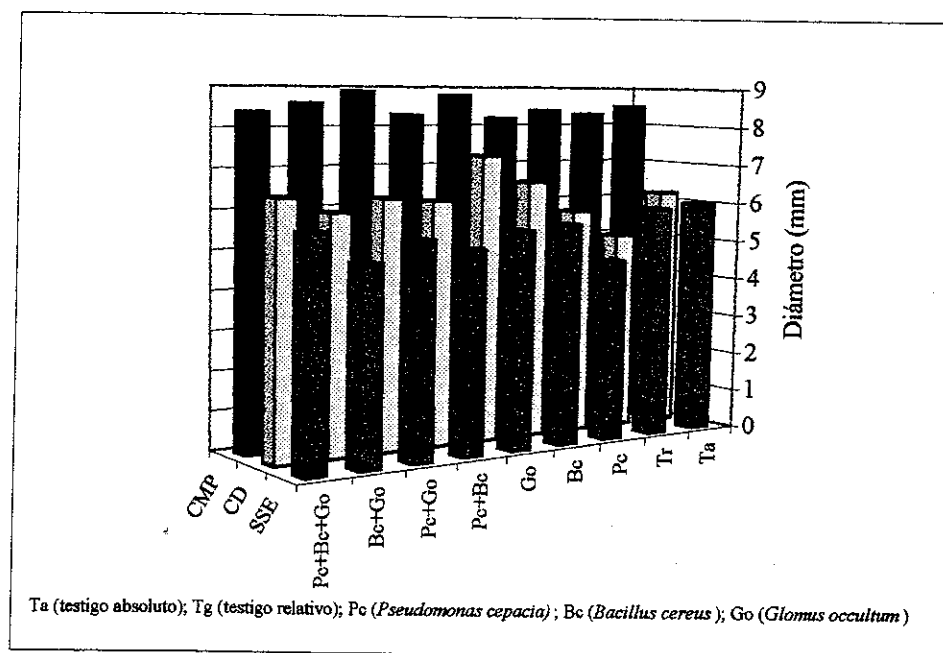


Figura 14. Diámetro de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith.

4.2.3.2. Biomasa de follaje y de raíces

Se encontraron diferencias significativas en los efectos principales, tratamientos sustratos y tratamientos microbianos, pero no en la interacción de ellos, para la variable biomasa (Cuadros 19, 20 y Anexo 14).

En el compost, las plantas acumularon una mayor cantidad de materia seca tanto de follaje, como de las raíces y sus valores promedios estuvieron muy por encima de los valores promedios, para estas mismas variables, observados en las plantas que crecieron en el sustrato enmendado con cal dolomítica y en el sustrato sin enmiendas (Cuadro 19 y Figuras 15, 16).

Al comparar los valores promedios de peso seco de follaje y de raíces de plantas que crecieron en compost tanto en el Experimento I (Cuadro 12), como en el Experimento II (Cuadro 19), se observa un incremento de 16.0 y 0.8 grs en el peso seco de follaje y de raíces respectivamente en el Experimento II.

Cuadro 19. Comparación del efecto de los tratamientos sustratos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos	Biomasa	
	Peso seco de follaje (gr)	Peso seco de raíces (gr)
Compost	50.4 a ¹	3.0 a
Cal dolomítica	11.6 b	1.2 b
Sin enmienda	6.8 b	0.8 b
P > F	0.0001	0.0001
DMS²	6.1754	0.6684

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa.

Entre los tratamientos inoculados, los mejores valores de peso seco de follaje se registraron en el testigo relativo y *G. occultum*. Los valores promedios de esta variable en la mezcla de microorganismos no logró superar los valores promedios observados en los tratamientos

testigo relativo y *G. occultum*. La mayor acumulación promedio de materia seca en las raíces fue compartida por el testigo relativo, *B. cereus* y *G. occultum* (Cuadro 20).

El tratamiento *G. occultum* tuvo una tendencia a ser consistente, ya que sus valores promedio de acumulación de materia seca de follaje fueron superiores a los valores promedio obtenidos para esa misma variable por los demás tratamientos inoculados en los dos experimentos. En cuanto al peso seco de raíces, los valores promedio de este tratamiento estuvieron entre los mejores en ambos experimentos (Cuadros 13 y 20).

Cuadro 20. Comparación del efecto de los tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos	Biomasa	
	Peso seco de follaje (gr)	Peso seco de raíces (gr)
Ta	39.2 a ¹	3.3 a
Tg	25.4 ab	1.7 b
Pc	21.7 b	1.4 b
Bc	18.3 b	1.7 b
Go	25.6 ab	1.7 b
Pc+Bc	17.4 b	1.2 b
Pc+Go	22.9 b	1.4 b
Bc+Go	16.7 b	1.0 b
Pc+Bc+Go	19.2 b	1.4 b
P > F	0.0002	0.0012
DMS²	14.361	1.5545

¹Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente. ²Diferencia Mínima Significativa. Ta = testigo absoluto; Tg = testigo relativo; Pc = *Pseudomonas cepacia*, Bc = *Bacillus cereus*; Go = *Glomus occultum*.

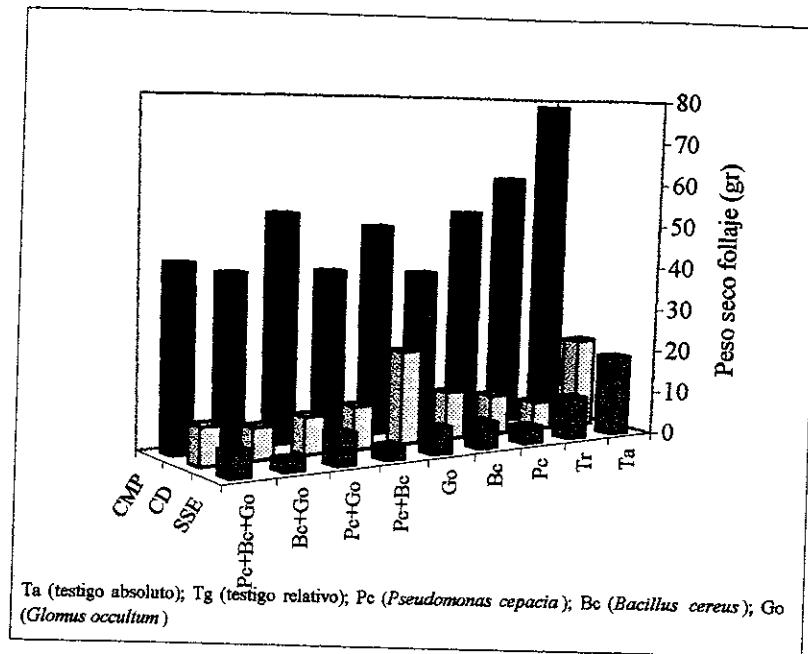


Figura 15. Peso seco del follaje de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE), y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith.

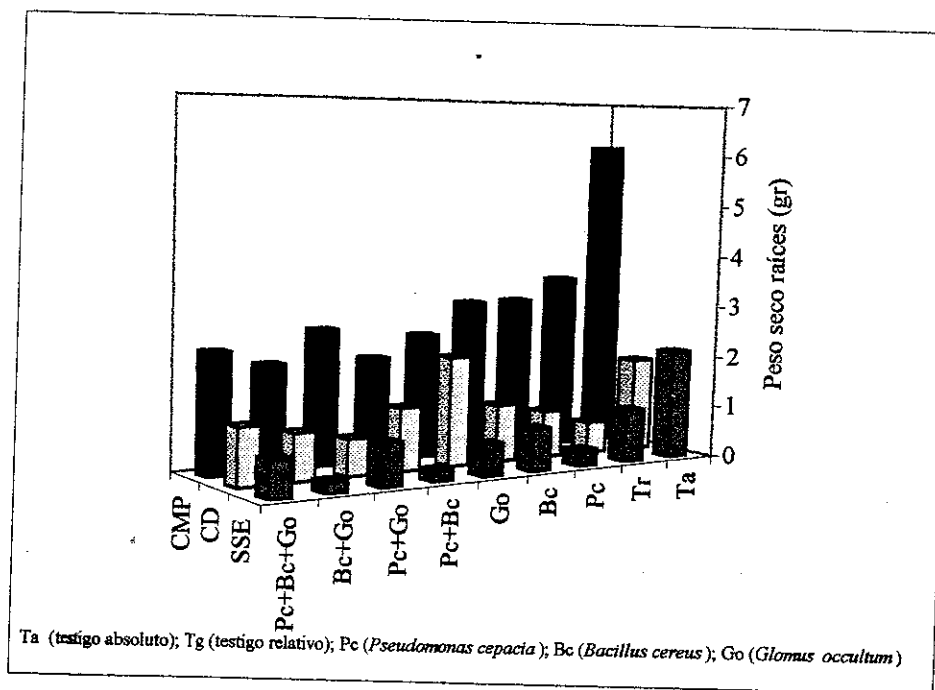


Figura 16. Peso seco de raíces de plantas de tomate desarrolladas sobre sustratos con compost (CMP), cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE), y cuyas raíces fueron tratadas antes del transplante con microorganismos antagonistas a *P. solanacearum* E.F.Smith.

4.2.3.3. Efecto de compost, cal dolomita y microorganismos antagonistas sobre la severidad de la marchitez bacteriana.

Se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos sustratos, pero no entre tratamientos microbianos ni en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos para los valores promedio del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) (Cuadros 21, 22 y Anexo 15).

En el sustrato con compost se observaron los valores promedio más bajos del ABCPE y del ISE indicando que en este experimento si hubo una respuesta positiva del compost al disminuir el efecto de la severidad de la enfermedad sobre las plantas inoculadas con el patógeno (Cuadro 21 y Figura 17), a diferencia del Experimento I donde los más altos valores del ABCPE y del ISE correspondieron al sustrato enmendado con compost (Cuadro 15). En general, los valores promedio del ABCPE y del ISE de los tres sustratos en este experimento, fueron menores que esos mismos valores observados en el Experimento I (Cuadro 15) y muy especialmente para el sustrato con compost ya que la diferencia es bastante considerable, independientemente que el tiempo de evaluación de esta variables en el Experimento I se haya extendido por una semana más que en el Experimento II.

Cuadro 21. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en sustratos con enmiendas y sin enmiendas e inoculados con una suspensión de 20 ml (6×10^8 ufc.ml⁻¹) de *P. solanacearum* E.F.Smith.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Compost	15.8 b ²	1.0 b
Cal dolomítica	19.2 b	1.1 b
Sin enmiendas	27.2 a	1.5 a
P > F	0.0154	0.0136
DMS³	7.8237	0.365

¹Según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Números en la misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente.

³Diferencia Mínima Significativa.

De acuerdo a los valores promedio del ABCPE y del ISE, el tratamiento menos afectado por la enfermedad fue el tratamiento *B. cereus* y los más afectados fueron los tratamientos *P. cepacia* y *B. cereus*+*G. occultum* (Cuadro 22). El tratamiento *B. cereus* mostró tendencia a ser consistente en los dos experimentos, puesto que en el Experimento I sus valores promedio del ABCPE y del ISE fueron de los más bajos entre los tratamientos inoculados, solamente superado por el tratamiento *G. occultum*, el cual obtuvo los valores promedio más bajos del ABCPE y del ISE (Cuadro 16).

Cuadro 22. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en plantas de tomate tratadas con microorganismos antagonistas.

Tratamientos	ABCPE	ISE ¹
Tg	22.7	1.3
Pc	23.8	1.3
Bc	16.3	1.0
Go	19.7	1.2
Pc+Bc	20.6	1.2
Pc+Go	19.7	1.2
Bc+Go	23.9	1.4
Pc+Bc+Go	18.8	1.1
P > F	0.9360	0.8957
DMS²	20.799	0.9875

¹Según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Diferencia Mínima Significativa. Tg (testigo); Pc (*Pseudomonas cepacia*); Bc (*Bacillus cereus*); Go (*Glomus occultum*).

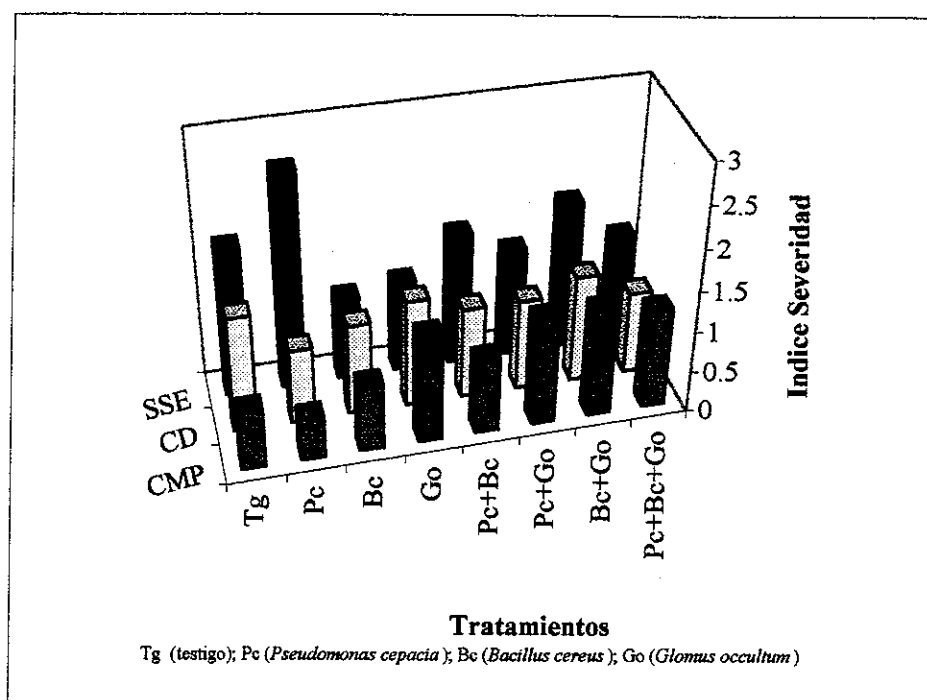


Figura 17. Comportamiento de la severidad de la marchitez bacteriana en tomate en sustratos con compost (CMP), con cal dolomítica (CD) y sin enmiendas (SSE) y en presencia de microorganismos antagonistas.

El progreso de la enfermedad a través del tiempo (días después de la inoculación) fue menos acentuado en los tratamientos *B. cereus* y *P. cepacia*, los cuales obtuvieron índices finales de severidad de 2.6 y 2.8 respectivamente. Los tratamientos testigo relativo y *P. cepacia*+*B. cereus* ambos presentaron similares índices finales de severidad (3), mientras que el tratamiento *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum* obtuvo un 3.1 de severidad final. En los tratamientos *G. occultum* y *P. cepacia*+*G. occultum* se observó un 3.4 de índice final de severidad. El tratamiento más severamente afectado por la marchitez bacteriana a través del tiempo fue *B. cereus*+*G. occultum*, en el cual se observó un índice final de severidad de 3.9 (Figura 18).

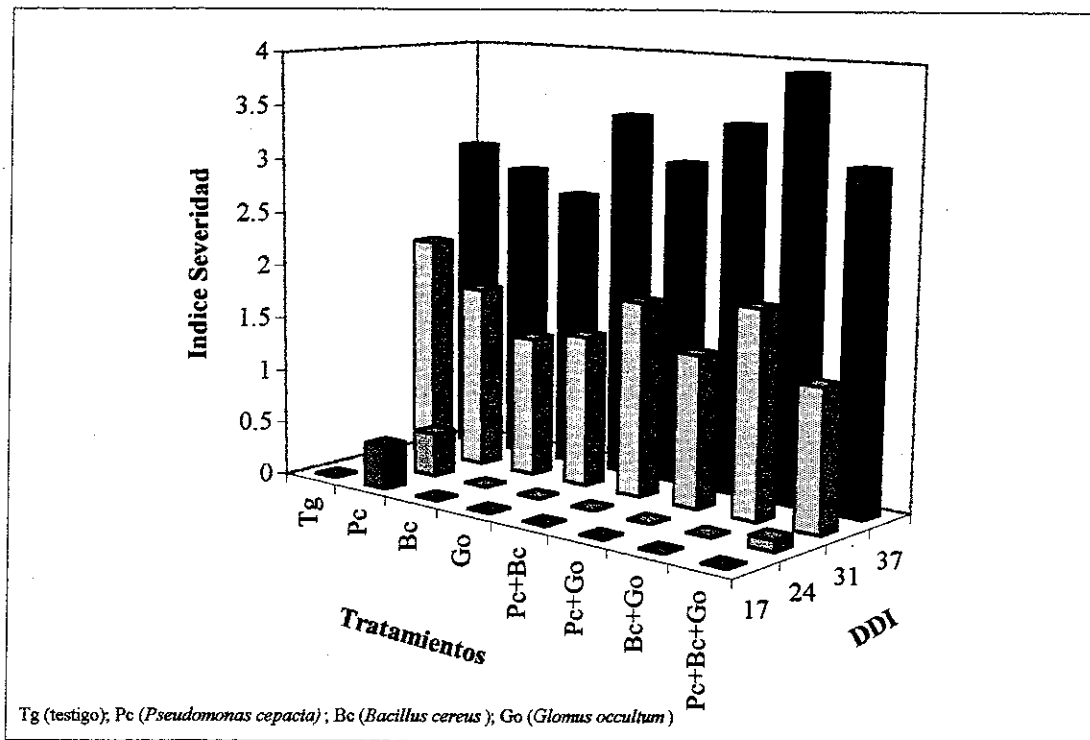


Figura 18. Evolución de la severidad de la marchitez bacteriana a los 17, 24, 31 y 37 días después de la inoculación de los sustratos con 20 ml de una suspensión bacteriana de *P. solanacearum* E.F.Smith a una concentración de 6×10^8 ufc.ml⁻¹. DDI (días después de la inoculación).

Los resultados de los dos experimentos de invernadero fueron contrastantes para todas las variables que fueron evaluadas. En el Experimento I, el compost no tuvo un efecto supresivo sobre el agente causal de la marchitez bacteriana, *P. solanacearum* E.F.Smith, pero si demostró ser un buen promotor del crecimiento de las plantas.

En el Experimento II, haciendo uso del mismo tipo de compost se observó un retardo en la aparición de los síntomas y en la evolución de la enfermedad (Figura 17) y en general los valores promedio del ABCPE y del ISE fueron menores que en el Experimento I (Cuadros 15, 16, 21 y 22). Las variables de crecimiento (altura de la planta y diámetro de tallos) y de biomasa también fueron superiores en el Experimento II en comparación con el Experimento I (Cuadros 12, 13, 19 y 20).

El compost utilizado en este estudio es de uso comercial y es elaborado a partir de cachaza y presenta buenos atributos como promotor del crecimiento de las plantas, pero quizás es carente de una microbiota capaz de competir con microorganismos patógenos como es el caso de *P. solanacearum*. Hernández Garboza (1997) al evaluar diferentes sustratos para conocer su potencial como supresores de la marchitez bacteriana reporta que dos de los sustratos que contenían cachaza presentaron los valores más altos del ABCPE en comparación con los otros sustratos incluyendo al testigo (suelo estéril). Esto podría ayudar a explicar porque en el presente estudio este compost comercial a partir de cachaza no tuvo un efecto supresivo sobre la marchitez bacteriana.

Las razones para que se observara tanta variabilidad entre los dos experimentos se pueden resumir de la siguiente manera:

En el Experimento I se utilizó una cantidad mayor de inóculo (40 ml) de *P. solanacearum*, el método de inoculación fue el de heridas a las raíces, lo cual propició una más rápida y más efectiva entrada y posterior colonización por parte del patógeno. Las plantas fueron inoculadas a los 25 días después de la siembra. La temperatura y la humedad relativa promedio entre la inoculación y la aparición de los síntomas de la enfermedad fueron 33.8°C y 81.5% respectivamente. La enfermedad se presentó a los 6 días después de la inoculación. A partir de la aparición de los primeros síntomas hasta el final del experimento la temperatura y humedad relativa promedio que prevaleció fue 30.3°C y 81.6% respectivamente (Anexo 16)

En el Experimento II por el contrario, se utilizó 20 ml para inocular los sustratos diez días antes de transplantar; no se hicieron heridas a las raíces de las plantas. La temperatura y humedad relativa promedio entre la inoculación y el transplante fueron 28.6°C y 80.7%, entre el transplante y la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad fueron 26.7°C y 80.9% y entre la aparición de los primeros síntomas y el final del experimento fueron 29.8°C y 81% respectivamente (Anexo 17). Las plantas fueron transplantadas a los 27 días después de la siembra y al momento del transplante portaban un "pilón" o "adobe de

tierra", con sus raíces intactas, es decir, sin heridas. La enfermedad se presentó a los 26 días después de la inoculación (18 días después del trasplante).

La temperatura parece ser un factor importante en el incremento de la incidencia y severidad de la marchitez bacteriana, lo cual ha quedado demostrado en estos resultados. En un estudio llevado a cabo por Gallegly y Walker (1949) encontraron que la marchitez bacteriana se incrementó al aumentar la temperatura del aire por arriba de 28°C después de la inoculación de plantas de tomate. Hayward (1991) reporta que un incremento en la temperatura ambiental entre 30-35°C conduce a un incremento de la incidencia y la tasa de la marchitez bacteriana en hospedantes tales como tomate. Estos reportes ayudan a explicar porque se presentó más temprano y de manera más devastadora la enfermedad después de la inoculación en el Experimento I.

En los dos experimentos se descarta la posibilidad de diferencias debidas al pH del sustrato, ya que en ambos experimentos los valores de pH variaron de 6.2 en el Experimento I a 6.0 en el Experimento II (Anexos 4, 5 y 6). Aunque algunos reportes indiquen la influencia del pH sobre la reducción del efecto de la enfermedad (Chellemi *et al.*, 1992; Michel *et al.*, 1997; Michel y Mew, 1998), en este estudio no se observó tal efecto. En un trabajo pionero, Vaughan (1944) encontró que *P. solanacearum* podía crecer muy bien en un ámbito de pH bastante amplio de 6 a 8.6. Por otro lado, Ho *et al.* (1988) reportan que en dos suelos de Taiwan con pH de 4.1 y 4.5 no hubo incidencia de la marchitez bacteriana, mientras que en otros dos suelos con pH de 3.8 y 4.7 la incidencia fue de 15 y 20% respectivamente. En otro orden, Michel *et al.* (1997) señalan que las poblaciones de *P. solanacearum* fueron reducidas a cero a las cuatro semanas de aplicar una enmienda consistente de urea+Cao (200 kg N + 5000 kg), la cual elevó el pH del suelo hasta 8.2. Estos mismos autores indican que el patógeno fue menos efectivamente reducido cuando los valores de pH fueron próximos a 7.

Hay que recordar que en el Experimento I estos microorganismos fueron aplicados a las semillas en el caso de las bacterias y el hongo fue inoculado en el sustrato simultáneamente con la siembra. Desde la siembra hasta la inoculación del patógeno transcurrieron 25 días,

durante los cuales estos microorganismos pudieron colonizar las rizosfera y las raíces de las plantas y de esta manera lograron competir de manera efectiva con el patógeno por nutrientes o sitios de establecimiento.

En el Experimento II, las bacterias antagonistas fueron aplicadas a las raíces de las plantas que tenían dos semanas de edad y el hongo fue inoculado en el sustrato donde fueron sembradas estas plantas tratadas con las bacterias antagonistas. De la aplicación de los antagonistas hasta la presencia de *P. solanacearum* transcurrieron solamente doce días, ya que estas plantas fueron transplantadas a los 27 días después de la siembra en macetas, cuyos sustratos habían sido inoculados diez días antes con *P. solanacearum*. De manera que no hubo un período de tiempo suficiente como para que los antagonistas colonizaran el sistema radicular y suprimieran el efecto del patógeno.

De los microorganismos que fueron probados como posibles antagonistas a *P. solanacearum* solamente *B. cereus* y *G. occultum* presentaron bajos valores promedio del ABCPE y del ISE en los dos experimentos. Sin embargo, la mezcla de ambos microorganismos no tuvo un efecto sinérgico, es decir, no aumentó su capacidad de reducir la severidad de la marchitez bacteriana (Cuadros 16 y 22).

Sood *et al.* (1998) reportan que *Glomus mosseae* controló completamente la marchitez bacteriana en tomate hasta el final de un experimento de invernadero, 48 días después de la inoculación de las plantas con *P. solanacearum*. Estos mismos autores señalan que plantas tratadas con otro hongo vesículo-arbuscular, *Glomus fasciculatum* mostraron síntomas de marchitamiento a los 35 días después de la inoculación y un 100% de marchitamiento se presentó en estas plantas a los 44 días después de la inoculación. En este estudio, *G. occultum* presentó valores bajos del ABCPE y del ISE, pero no logró suprimir completamente al patógeno, por lo que es de presumir que puede haber una especificidad antagonista-patógeno para el caso de *G. mosseae*.

En cuanto a *P. cepacia*, esta bacteria si se reporta que inhibió el crecimiento de *P. solanacearum* en pruebas "in vitro" (Hartman et al., 1993). Los resultados de este estudio en los dos experimentos muestran un comportamiento inconsistente de esta bacteria como posible antagonista a *P. solanacearum*, aunque en el Experimento II, *P. cepacia* obtuvo los valores más bajo del ABCPE y del ISE en el sustrato con compost (Anexo 15).

Por otro lado, el tratamiento *G. occultum* mostró una tendencia de ser un buen promotor del crecimiento (Cuadros 11, 18). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Cuervo (1997), quien reporta que *G. occultum* mejoró significativamente la altura y el peso seco de las plantas evaluadas.

Estos microorganismos podrían ser útiles en un sistema de control integrado de la enfermedad, puesto que se debe tener en cuenta que en este estudio se utilizó una variedad de tomate bastante susceptible a la marchitez bacteriana, lo cual indudablemente influye mucho en los resultados obtenidos. Su potencial podría verse incrementado si fueran utilizados en un sistema de control que incluya una variedad moderadamente susceptible al patógeno.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las enmiendas condujeron a cambios en los principales nutrientes y otras propiedades del suelo en el experimento de campo
- Las poblaciones de *P.solanacearum* E.F.Smith fueron reducidas significativamente en las parcelas con enmiendas ocho meses después de la incorporación de éstas últimas en el campo.
- El incremento de la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en el campo no estuvo relacionado con la presencia de nemátodos agalladores, sino por la presencia de larvas de *Phyllophaga* spp.
- La rizosfera de malezas son un importante reservorio de las poblaciones de *P. solanacearum* E.F.Smith cuando está ausente un cultivo susceptible como el tomate.
- El compost comercial utilizado en este estudio no redujo significativamente la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en el campo e invernadero.
- Los tratamientos *G.occultum*, *P.cepacia*+*B.cereus* y *P.cepacia*+*B.cereus*+*G.occultum* mostraron tendencia a reducir la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en las parcelas con enmiendas en el campo.
- El efecto del compost como posible medio supresivo de la marchitez bacteriana en los dos experimentos de invernadero fue muy variado, comportándose como un medio favorable a la enfermedad en el Experimento I, y retardando la aparición de los síntomas y la evolución de la enfermedad en el Experimento II.

- Los microorganismos *B. cereus* y *G. occultum* mostraron tendencia en los dos experimentos de invernadero a disminuir de la severidad de la enfermedad, al obtener bajos valores del ABCPE y del ISE en ambos experimentos.
- El hongo micorrízico *Glomus occultum* en condiciones de invernadero, mostró ser un buen promotor del crecimiento de las plantas de tomate aún en presencia de *P. solanacearum*.
- La mezcla de microorganismos no tuvo el efecto sinérgico esperado, ya que no tuvieron una influencia muy significativa en los valores promedio de las variables evaluadas tanto en el campo como en el invernadero

5.2. RECOMENDACIONES

- Investigar los tipos de microorganismos presentes en composts obtenidos de diferentes fuentes y determinar su papel supresivo de la marchitez bacteriana *in vitro* e *in vivo*.
- Incluir en estudios posteriores diferentes tipos de composts incluyendo los composts comerciales como el utilizado en este estudio, con el fin de comparar su aptitud para controlar al agente causal de la marchitez bacteriana.
- Evaluar otros géneros y especies de hongos vesículo-arbusculares para el control de la marchitez bacteriana en invernadero y en el campo.
- Investigar el posible antagonismo ejercido por los aislamientos de *Pseudomonas solanacearum* extraídos de *Melanpodium* sobre aislamientos agresivos extraídos de plantas de tomate cuando son mezclados.
- Combinar cal dolomítica con compost para observar su efecto sobre el agente causal de la marchitez bacteriana.

- Realizar pruebas para determinar la capacidad de los microorganismos antagonistas utilizados en el presente estudio para colonizar la rizosfera y la planta misma de tomate.

VI LITERATURA CONSULTADA

- Adhikari, T.B., J.B. Manandhar, and G.L. Hartman. 1993. Characterisation of *Pseudomonas solanacearum* and evaluation of tomatoes in Nepal. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt*. Proceedings of an international symposium held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 132-137.
- Agrios, G.N. 1996. Fitopatología. 3^{ra} ed. México, D.F. Editorial Limusa, Grupo Noriega Editores. 838 p.
- Akiew, E., Trevorrow, P.R., and Tonello, P.E. 1993. Management of bacterial wilt of tobacco. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt*. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 270-275.
- Anuratha, C.S., and Gnanamanickam, S.S. 1990. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in India with antagonistic bacteria. *Plant and Soil* 124:109-116.
- Autrique, A., and Potts, P.M. 1987. The influence of mixed cropping on the control of potato bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*). *Annals of Applied Biology* 111, 125-133.
- Backman, P.A., and Turner, J.T., Jr. 1989. Plant response and disease control following seed inoculation with *Bacillus subtilis*. In J.M. Brown (ed). Proceedings Beltwide Cotton Products Research Conference (Book 2). National Cotton Council of America, Memphis. p. 16-17.
- Bertsch, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. 1^{ra} ed. San José, Costa Rica. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 157 p.
- Birchfield, W., and Antonopoulos, A.A. 1976. Scanning electron microscope observations of *Duboscquia penetrans* parasitizing root-knot larvae. *Journal of Nematology* 8:272-283.
- Bowen, G.D., and A.D. Rovira. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy* 66, 1-102.
- Buddenhagen, I.W., and Elsasser, T.A. 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of Bluggoe banana. *Nature (London)* 194, 164-165.
- Buddenhagen, I.W., and Kelman, A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* 2: 203-230.

- Buddenhagen, I.W. 1986. Bacterial Wilt revisited. In Persley, G.J. (ed). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceedings No. 13, p. 126-143.
- Bustamante, E. 1994. La marchitez bacteriana del chile y tomate. Hoja técnica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 9: 4 p.
- Calvet, C., Pera, J., and Barea, J.M. 1989. Interactions of *Trichoderma* spp., with *Glomus mosseae* and two wilt pathogenic fungi. Agriculture, Ecosystems & Environment 29: 59-65.
- Cartín, J., y Wang, A. 1996. Aislamiento de agentes supresores a *Pseudomonas solanacearum* en tomate (*Lycopersicon esculentum*). In Bertsch, F., Rivera, G., Mora, F., Navarro, J.R., and Badilla, W. (eds). X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales/III Congreso Nacional de Fitopatología/II Congreso Nacional de Suelos. Memoria: Fitopatología, 8-12 de Julio de 1996. San José, Costa Rica. EUNED, EUNA. Volumen II, p. 107.
- Caron, M., Fortin, J.A., and Richard, C. 1985. Influence of substrate on the interaction of *Glomus intraradices* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* on tomatoes. Plant Soil 87: 233-239.
- Caron, M., Fortin, J.A., and Richard, C. 1986a. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. Phytopathology 76: 942-946.
- Caron, M., Fortin, J.A., and Richard, C. 1986b. Effect of *Glomus intraradices* on infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. Canadian Journal of Botany 64: 552-556.
- Castro Martín, M.O. 1998. Las rizobacterias y enmiendas orgánicas en la inducción de resistencia a geminivirus en el cultivo de tomate. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. 72 p.
- CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (CATIE). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. CATIE. Proyecto Regional MIP. Turrialba, Costa Rica. CATIE/MIP. 138 p. (Serie Técnica. Informe Técnico no. 151).
- Chamorro Lapuerta, J. 1995. Anatomía y fisiología de la planta. In Nuez F., Rodríguez del Rincón, A., Tello, J., Cuartero, J., Segura, B. (eds). El cultivo de tomate. 1^{ra} ed. Madrid, España. Mundi-Prensa Libros, S.A., p. 45-91.
- Chang, M.L., and Hsu, S.T. 1988. Suppression of bacterial wilt of tomato by soil amendments. Plant Protection Bulletin Taiwan 30: 349-359.

- Chellemi, D.O., D.J. Mitchell, and A.W. Barkdol. 1992. Effect of composted organic amendments on the incidence of bacterial wilt of tomato. *Proceedings of Florida State Horticulture Society* **105**: 364 – 366.
- Chen, W., Hoitink, H.A.J., and Madden, L.V. 1988a. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* **78**, 1447-1450.
- Chen, W., Hoitink, H.A.J., Schmitthenner, A.F., and Tuovinen, O.H. 1988b. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* **78**, 314-322.
- Ciampi-Panno, L., Fernández, C., Bustamante, P., Andrade, N., Ojeda, S., and Contreras, A. 1989. Biological control of bacterial wilt of potatoes caused by *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal* **66**: 315-332.
- Colyer, P.D., and Mount, M.S. 1986. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. *Plant Disease* **68**:703-706.
- Cook, D., B. Elizabeth, and L. Sequeira, L. 1989. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensitive response. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **2**: 113-121.
- Cook, D., and Sequeira, L. 1994. Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods. In A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds). *Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 77-94.
- Cubillo, D., Sanabria, G., y Hilje, L. 1998. Evaluación de recipientes y mallas para el manejo de *Bemisia tabaci* mediante semilleros cubiertos, en tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* No. **51**:29-35.
- Cuéllar, R., y Toler, R. 1957. Marchitez bacteriana del tomate en Panamá. Panamá. Instituto Nacional de Agricultura. Boletín Informativo No. 7. 7 p.
- Cuervo Andrade, J.L. 1997. Efecto de endomicorrizas y rizobacterias en plántulas de dos especies forestales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE 91 p.
- Davis, R.M., and Menge, J.A. 1980. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on Phytophthora root rot of citrus. *Phytopathology* **70**: 447-452.
- Deberdt, P., Quénéhervé, P., Darrasse, and Prior, P. 1999. Increased susceptibility to bacterial wilt in tomatoes by nematode galling and the role of the *Mi* gene in resistance to nematodes and bacterial wilt. *Plant Pathology* **48**:408-414.

- Dehne, H.W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* **72**: 1115-1119.
- Denny, T.P., Brumbley, S.M., Carney, B.F., Clough, S.J., and Schell, M.A. 1994. Phenotype conversion of *Pseudomonas solanacearum*: its molecular basis and potential function. In A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds). *Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 137-143.
- Duijff, B.J., Gianinazzi-Pearson, V., and Lemanceau, P. 1997. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. *New Phytologist* **135**: 325-334.
- Duffy, B.K., and Weller, D.M. 1995. Use of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* alone and in combination with fluorescent *Pseudomonas* spp., to suppress take-all of wheat. *Plant Disease* **79**:907-911.
- Duffy, B.K., Simon, A., and Weller, D.M. 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all on wheat. *Phytopathology* **86**:188-194.
- Elphinstone, J.G. 1989. Reducción de la marchitez bacteriana por aplicación de varias prácticas agronómicas. *Fitopatología* **24**: 42 (Resumen).
- Elphinstone, J.G., and Aley, P. 1993. Integrated control of bacterial wilt of potato in the warm tropics of Perú. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992*. ACIAR Proceedings No. **45**. p. 276-283..
- Enfinger, J.M., McCarter, S.M., and Jaworsky, C.A. 1979. Evaluation of chemicals and application methods for control of bacterial wilt of tomato transplants. *Phytopathology* **69**: 637-640.
- Fitter, A.H., and J. Garbaye. 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil* **159**: 123-132.
- Gadewar, A.V., Shekhawat, G.S., and Chakrabarti, S.K. 1993. Antibiotic-induced virulence and changes in colony morphology of *Pseudomonas solanacearum*. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt. Proceedings of an international symposium held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992*. ACIAR Proceedings No. **45**, p. 261-268.
- Galleghy, Jr., M.E., and Walker, J.C. 1949. Relation of environmental factors to bacterial wilt of tomato. *Phytopathology* **39**:936-946.

- Galindo, J.A., y Fuentes, F.S. 1959. Enfermedades más comunes en hortalizas y algunos frutales tropicales. En Curso Internacional de Horticultura, 30. México, D.F., 1959. Manual. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 50 p. (mimeografiado).
- García Estrada, R.S. 1998. Origen, evolución e importancia del tomate. In J. Cruz Ortega, R. García Estrada y A. Carrillo Facio. Enfermedades de las hortalizas. 1^{ra} ed. Sinaloa, México. Universidad Autónoma de Sinaloa, p. 13-16.
- García Garrido, J.M., and Ocampo, J.A. 1989. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 165-167.
- Gillings, M., P. Fahy, and C. Davies. 1993. Restriction analysis of an amplified polygalacturonase gene fragment differentiates strains of the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas solanacearum*. *Letters in Applied Microbiology* 17: 44-48.
- Gitaitis, R., McCarter, S., and Jones, J. 1992. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Florida. *Plant Disease* 76, 651-656.
- Graham, J.H. 1988. Interactions of mycorrhizal fungi with soil-borne plant pathogens and other organisms: an introduction. *Phytopathology* 78: 365-366.
- Grimault, V., and P. Prior. 1993. Bacterial wilt resistance in tomato associated with tolerance of vascular tissues to *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Pathology* 42:589-594.
- Grimault, V., G. Anais, and P. Prior. 1994a. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plants with different levels of resistance to bacterial wilt. *Plant Pathology* 43:663-668.
- Grimault, V., Gélie B., Lemattre, M., Prior, P., and J. Schmit. 1994b. Comparative histology of resistant and susceptible tomato cultivars infected by *Pseudomonas solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44:105-123.
- Halos, P.M., and R.A. Zorilla. 1979. Vesicular-arbuscular mycorrhizae increase growth and yield of tomatoes and reduce infection by *Pseudomonas solanacearum*. *Philippine Agriculturist* 62: 309 – 315.
- Hartman, G.L., and Yang, C.H. 1990. The effect of amendment on the population of *Pseudomonas solanacearum* and the incidence of bacterial of tomato. *Phytopathology* 80: 1002 (abstract).
- Hartman, G.L., Hong, W.F., Hanudin and Hayward, A.C. 1993. Potential of biological and chemical control of bacterial wilt. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt*. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 322-326.

- Hayman, D.S. 1982. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany* 6: 944-963.
- Hayward, A.C. 1986. Bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in Asia and Australia: an overview. In Persley, G.J. (ed). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceedings No. 13. p. 15-24.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and Epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* 29: 65-87.
- He, L., Sequeira, L., and Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease* 67: 1357-1361.
- He, L.Y. 1986. Bacterial wilt in the People's Republic of China. In Persley, G.J. (ed). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceedings No. 13. p. 40-48.
- He, L.Y. 1990. Control of bacterial wilt of groundnut in China with emphasis on cultural and biological methods. In Middleton, K.J., and Hayward, A.C. (eds). Bacterial Wilt of Groundnuts. Proceedings of an ACIAR/ICRISAT collaborative research planning meeting held at Genting Highlands, Malaysia, 18-19 March 1990. ACIAR Proceedings No. 31. p. 22-25.
- Hernández Garboza, L.R. 1997. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE 77 p.
- Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* No. 29: 51-57.
- Ho, W.C., Chern, L.L., and Ko, W.H. 1988. *Pseudomonas solanacearum*-suppressive soils in Taiwan. *Soil Biology & Biochemistry* 20:489-492.
- Hoitink, H.A.J., and Fahy, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology* 24: 93-114.
- Hoitink, H., Stone, A., and Han, D. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* no. 43: 31-39.
- Hsu, S.T., and Chang, M.L. 1989. Effect of soil amendment on survival of *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Protection Bulletin Taiwan* 31: 21-33.

- Husain, A., and Kelman, A. 1958. Relation of slime production to mechanism of wilting and pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* **48**:155-165.
- Hussey, R.S., and Roncadori, R.W. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. *Plant Disease* **66**: 9-14.
- Iqbal, M., and Kumar, J. 1986. Bacterial wilt in Fiji. In Persley, G.J. (ed). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceedings No. 13, p. 25-27.
- Jackson, M.T., and González, L.C. 1981. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* (race 1) in a naturally infested soil in Costa Rica. *Phytopathology* **71**: 690-693.
- Jatala, P., Martin, C., and Mendoza, H.C. 1988. Role of nematodes in disease expression by *Pseudomonas solanacearum* and strategies for screening and breeding for combined resistance. In International Potato Center (CIP). Bacterial Diseases of the potato. Report of the planning conference on bacterial diseases of the potato. p. 35-37.
- Jaunet, T.X., and Wang, J.-F. 1999. Variation in genotype and aggressiveness diversity of *Ralstonia solanacearum* race 1 isolated from tomato in Taiwan. *Phytopathology* **89**:320-327.
- Javier, E.Q. 1994. Foreword. In A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds). Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. 259 p.
- Jaworski, C.A., and Morton, D.J. 1964. An epiphytotic of *Pseudomonas solanacearum* in tomatoes on newly-cleared Klej sand in relation to potassium, calcium and magnesium levels. *Plant Disease Reporter* **48**:88-89.
- Jjemba, P.K., and Alexander, M. 1999. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. *Soil Biology & Biochemistry* **31**:623-632.
- Johnson, H.A., and Powell, N.T. 1969. Influence of root knot nematodes on bacterial wilt development in flue-cured tobacco. *Phytopathology* **59**, 486-491.
- Kelman, A. 1950. Influence of nitrogen nutrition on the development of bacterial wilt in tomato and tobacco. *Phytopathology* **40**:14.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina Agricultural Experimental Station Technical Bulletin **99**, 194 p.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* **44**:693-695.

- Kelman, A., and Sequeira, L. 1965. Root-to-root spread of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* **55**, 304-309.
- Kelman, A., Hartman, G.L., and Hayward, A.C. 1994. Introduction. In A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.), *Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 1-7.
- Kempe, J., y Sequeira, L. 1983. Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant Disease* **67**: 499-503.
- Kinet, J.M. 1977. Effect of light condition on the development of the inflorescence in tomato. *Scientia Horticulturae* **6**: 15 - 26.
- King, A.B.S. 1984. Biology and identification of white grubs (*Phyllophaga*) of economic importance in Central America. *Tropical Pest Management (England)* **30**:36-50.
- Kloepper, J.W., and Schroth, M.N. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. Vol. 2. Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie, INRA, Angers (ed). Gibert-Clarey, Tours. p. 879-882.
- Kloepper, J.W., and Schroth, M.N., and Miller, T.D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* **70**: 1078-1082.
- Kloepper, J.W. 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and in daughter tubers. *Phytopathology* **73**:217-219.
- Kloepper, J.W., Tuzun, S., Liu, L., and Wei, G. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic disease resistance. In Lumsden, R.D., and Vaughn, J.L. (eds). *Pest Management: Biologically Based Technologies*. Washington: American Chemical Society. p. 156-165.
- Kloos, J.P., Tulog, B., and Tumapon, A.S. 1987. Effects of intercropping potato on bacterial wilt. *The Philippine Agriculturist* **70**: 83-90.
- Kluepfel, D. 1993. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology* **31**: 441-472.
- Krausz, J.P., and Thurston, H.D. 1975. Breakdown of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in tomato. *Phytopathology* **65**: 1271-1274.
- Kwok, O.C.H., Fahy, P.C., Hoitink, H.A.J., and Kuter, G.A. 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of Rhizoctonia damping-off in bark compost media. *Phytopathology* **77**, 1206-1212.

- Larkin, R.P., and Fravel, D.R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease* **82**:1022-1028.
- Leeman, M, Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M, Bakker, P.A.H.M., and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel bioassay. *European Journal of Plant Pathology* **101**: 655-664.
- Lemanceau, P., and Alabouvette, C. 1991. Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection* **10**:279-286.
- Leung, H., Nelson, R.J., and Leach, J.E. 1993. Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. *Advances in Plant Pathology* **10**: 157-205.
- Linderman, R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* **78**: 366-371.
- Linderman, R.G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. In Pflieger, F.L., and R.G. Linderman (eds). *Mycorrhizae and plant health*. St. Paul Minnesota, USA. APS Press, p. 1-25.
- Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* **85**: 695-698.
- Locascio, S.J., Stall, R.E., and Stall, W.M. 1988. Bacterial wilt expression in tomato as influenced by cultivar and lime. *Proceedings of Florida State Horticultural Society* **101**:356-358.
- Logsdon, G. 1993. Using compost for plant disease control. *Biocycle* **29**(10), 33-36.
- Lucas, G.B., Sasser, J.N., and Kelman, A. 1955. The relationship of root-knot nematodes to Granville wilt resistance in tobacco. *Phytopathology* **45**, 537-540.
- Machmud, M., and Middleton, K.J. 1990. Seed infection and transmission of *Pseudomonas solanacearum* on groundnut. In Middleton, K.J., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial Wilt of Groundnut*. ACIAR Proceedings No. 31. p. 57.
- Machmud, M. 1993. Control of peanut bacterial wilt through crop rotation. In Hartman, G.L., and Hayward, A.C. (eds). *Bacterial Wilt*. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. **45**. p. 221-224.

- Madramootoo, H. 1957. Grafting tomato to resist bacterial wilt. *Tropical Agriculture (Trinidad)* **34**: 65-66.
- Mannion, C.M., Schaffer, B., Ozores-Hampton, M., Bryan, H.H., and McSorley, R. 1994. Nematode population dynamics in municipal solid waste-amended soil during tomato and squash cultivation. *Nematropica* **24**, 17-24.
- Mao, W., Lewis, J.A., Lumsden, R.D., and Hebbar, K.P. 1998. Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. *Crop Protection* **17**: 535-542.
- McCarter, S.M., and Jaworsky, C.A. 1969. Field studies on spread of *Pseudomonas solanacearum* and tobacco mosaic virus in tomato plants by clipping. *Plant Disease Reporter* **53**, 942-945.
- McCarter, S.M. 1976. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* in artificially infested soils. *Phytopathology* **66**: 998-1000.
- McLaughlin, R.J., and Sequeira, L. 1988. Evaluation of an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* for biological control of bacterial wilt of potato. *American Potato Journal* **65**: 255-268.
- McLaughlin, R.J., and Sequeira, L. 1989. Phenotypic diversity in strains of *Pseudomonas solanacearum* isolated from a single potato field in northeastern Florida. *Plant Disease* **73**: 960-964.
- Melton, T.A., and Powell, N.T. 1991. Effects of two-year crop rotations and cultivar resistance on bacterial wilt in flue-cured tobacco. *Plant Disease* **75**: 695-698.
- Mercadal Tejada, R.A. 1989. Incidencia de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en respuesta a niveles de estiércol y cal en Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. 115 p.
- Mew, T.W., and Ho, W.C. 1977. Effect of soil temperature on resistance of tomato cultivars to bacterial wilt. *Phytopathology* **67**: 909-911.
- Michel, V.V., Hartman, G.L., and Midmore, D.J. 1996. Effect of previous crop on soil populations of *Burkholderia solanacearum*, bacterial wilt, and yield of tomatoes in Taiwan. *Plant Disease* **80**: 1367-1372.
- Michel, V.V., J.F. Wang, D.J. Midmore, and G.L. Hartman. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathology* **46**: 600-610.
- Michel, V.V., and Mew, T.W. 1998. Effect of soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils. *Phytopathology* **88**: 300-305.

- Milgroom, M.G., and Fry, W.E. 1997. Contribution of population genetics to plant disease epidemiology and management. *Advances in Botanical Research* **24**: 1-25.
- Misaghi, I.J., Olsen, M.W., Billotte, J.M., and Sonoda, R.M. 1992. The importance of rhizobacterial mobility in biocontrol of bacterial wilt of tomato. *Soil Biology & Biochemistry* **24**:287-293.
- Mobayen, R.G. 1980. Germination of citrus and tomato seeds in relation to temperature. *Journal of Horticulture Science* **55**: 291 – 297.
- Monma, S., Sakata, Y., and Matsunaga, H. 1997. Inheritance and selection efficiency of bacterial wilt resistance in tomato. *Japan Agricultural Research Quarterly (JARQ)* **31**, 195-204.
- Morón, M.A. 1986. El género *Phyllophaga* en México: morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). Publicación # 19. Instituto de Ecología. México, D.F. 341 p.
- Napiere, C.M., and Quimio, A.J. 1980. Influence of root-knot nematode on bacterial wilt severity in tomato. *Annals of Tropical Research* **2**:29-39.
- Nelson, E.B., Kuter, G.A., and Hoitink, H.A.J. 1983. Effects of fungal antagonists and composts age on suppression of *Rhizoctonia* damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* **73**, 1457-1462.
- Nesmith, W.C., and Jenkins, S.F.Jr. 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in selected North Carolina soils. *Phytopathology* **73**: 1300-1304.
- Nesmith, W.C., and Jenkins, S.F.Jr. 1985. Influence of antagonists and controlled matric potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. *Phytopathology* **75**: 1182-1187.
- Netscher, C., and Sikora, R.A. 1990. Nematode parasites of vegetables. In Luc, M., Sikora, R.A., and Bridge, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. CAB International, Wallingford, UK. p. 237-283.
- Nuez, F., Rodríguez del Rincón, A., Tello, J., Cuartero, J., Segura, B. 1995. *El cultivo del tomate*. 1^{ra} ed. Madrid, España. Mundi-Prensa Libros, S.A. 793 p.
- Orgambide, G., Montrozier, H., Servin, P., Roussel, J., Trigalet-Demery, D., and Trigalet, A. 1991. High heterogeneity of the exopolysaccharides of *Pseudomonas solanacearum* strain GM11000 and the complete structure of the major polysaccharide. *Journal of Biological Chemistry* **266**:8312-8321.
- Ozores-Hampton, M., Schaffer, B., Bryan, H.H., and Hanlon, E.A. 1994. Nutrient concentrations, growth, and yield of tomato and squash in municipal solid-waste-amended soil. *HortScience* **29**, 785-788.

- Palleroni, N.J., and Doudoroff, M 1971. Phenotypic characterization and deoxyribonucleic acid homologies of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Bacteriology* **107**: 690-696.
- Park, C.S., Paulitz, T.C., and Baker, R. 1988. Biocontrol of Fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* **78**:190-194.
- Parke, J.L., Rand, R.E., Joy, A.E., and King, E.B. 1991. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Disease* **75**:987-992.
- Paulitz, T.C., and Linderman, R.G. 1989. Interactions between fluorescent pseudomonads and VA mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **113**: 37-45.
- Paulitz, T.C., and Linderman, R.G. 1991. Lack of antagonism between the biocontrol agent *Gliocladium virens* and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **117**: 303-308.
- Persley, G.J. 1986. Ecology of *Pseudomonas solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt. In Persley, G.J. (ed). *Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985*. ACIAR Proceedings No. 13, p.71-76.
- Pierson, E.A., and Weller, D.M. 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology* **84**:940-947.
- Pitcher, R.S. 1963. Role of plant-parasitic nematodes in bacterial diseases. *Phytopathology* **53**, 35-39.
- Prior, P., H. Steva, and P. Cadet. 1990. Aggressiveness of strains of *Pseudomonas solanacearum* from the French West Indies (Martinique and Guadeloupe) on tomato. *Plant Disease* **74**: 962-965.
- Prior, P., Allen, C., and Elphinstone, J. (ed). 1998. *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Rick, C.M. 1978. The tomato. *Scientific American* **239** (2): 67-76.
- Rivas-Platero, G.G. 1996. Descripción matemática de epidemias. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* No. **40**:35-39.
- Rivas-Platero, G.G., Rojas Miranda, T., y Cuervo Andrade, J. 1998a. Interacción del hongo vesículo arbuscular *Glomus spp.*, con *Meloidogyne arabicida* en tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* **47**: 41 - 43.

- Rivas-Platero, G.G. y J. Cuervo Andrade. 1998b. Interacción de hongos endomicorrízicos con *Meloidogyne exigua* en café. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) **49**: 68-72.
- Roe, N.E., Stoffella, P.J., and Bryan, H.H. 1993. Municipal solid waste compost suppresses weeds in vegetable crops alleys. HortScience **28**, 1171-1172.
- Roe, N.E., Stoffella, P.J., and Bryan, H.H. 1994. Growth and yields of bell pepper and winter squash grown with organic and living mulches. Journal of the American Society for Horticultural Science **119**, 1193-1199.
- Ryder, M.H., Yan, Z., Terrace, T.E., Rovira, A.D., Tang, W., and Correll, R. 1999. Use of strains of *Bacillus* isolated in China to suppress take-all and rhizoctonia root rot, and promote seedling growth of glasshouse-grown wheat in Australian soils. Soil Biology & Biochemistry **31**:19-29.
- Sasaki, S., Alvarado, M.A., and Kam, A.L. 1994. Manual del curso básico de agricultura orgánica. Alajuela, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 30 p.
- Schippers, B., Scheffer, R.J., Lugtenberg, B.J.J., and Weisbeek, P.J. 1995. Biocoat of seeds with plant growth-promoting rhizobacteria to improve plant establishment. Outlook on Agriculture **24**: 179-185.
- Schroth, M.N., and Hancock, J.G. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. Science **216**: 1376-1381.
- Scott, J.W., G.C. Somodi, and J.B. Jones. 1993. Testing tomato genotypes and breeding for resistance to bacterial wilt in Florida. In G.L. Hartman and A.C. Hayward (eds). Bacterial Wilt. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. **45**. p. 126-131.
- Seal, S.E., L.A. Jackson, and M.J. Daniels. 1992. Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction. Applied and Environmental Microbiology, **58**: 3759-3761.
- Seal, S.E., L.A. Jackson, J.P.W. Young, and M.J. Daniels. 1993. Differentiation of *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, *Pseudomonas picketti* and the blood disease bacterium by partial 16S rRNA sequencing: construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction. J. Gen. Microbiol. **139**: 1587-1594.
- Sequeira, L. 1958. Bacterial wilt of bananas: dissemination of the pathogen and control of the disease. Phytopathology **48**: 64-69.

- Shakya, D.D. 1993. Occurrence of *Pseudomonas solanacearum* in tomato seeds imported into Nepal. In G.L. Hartman and A.C. Hayward (eds). Bacterial Wilt. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 371-372.
- Shaner, G., and Finney, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- Smith, E.F. 1909. The Granville tobacco wilt. U.S. Department of Agriculture, Bureau of Plant Industry-Bulletin No. 141. p. 17-24.
- Smith, G.S. 1988. The role of phosphorus nutrition in interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. *Phytopathology* 78: 371-374.
- Smith, J.J., L.C. Offord, M. Holderness, and G.S. Saddler. 1995. Genetic diversity of *Burkholderia solanacearum* (synonym *Pseudomonas solanacearum*) race 3 in Kenya. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 4263-4268.
- Sohi, H.S., Rao, M.V.B., Rawal, R.D., and Kishun, R. 1981. Effect of crop rotations on bacterial wilt of tomato and eggplant. *Indian Journal of Agricultural Science* 8, 572-573.
- Sonoda, R.M. 1978. Effect of differences in tolerance of tomato to *Pseudomonas solanacearum* and time of planting on incidence of bacterial wilt. *Plant Disease Reporter* 62: 1059-1062.
- Sonoda, R.M., Augustine, J.J., and Volin, R.B. 1979. Bacterial wilt of tomato in Florida: History, status and sources of resistance. *Proceedings of Florida State Horticulture Society* 92: 100-102.
- Sood, A.K., Kalha, C.S., and Parashar, A. 1998. Ecofriendly methods for the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. ACIAR. Bacterial Wilt Newsletter, Number 15.
- Stackebrandt, E., Murray, R.G.E., and Trüper, H.G. 1988. *Proteobacteria* classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "Purple bacteria" and their relatives. *International Journal of Systematic Bacteriology* 38: 321-325.
- Suatmadji, R.W. 1986. Complex diseases involving nematodes and *Pseudomonas solanacearum* in potatoes in the tropics and subtropics. In Persley, G.J. (ed). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceedings No. 13, p. 120-125.

- Tans-Kersten, J., Guan, Y., and Allen, C. 1998. *Ralstonia solanacearum* pectin methyltransferase is required for growth on methylated pectin but not for bacterial wilt virulence. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 4918-4923.
- Thwaites, R., Mansfield, J., Eden-Green, S., and Seal, S. 1999. RAPD and rep PCR-based fingerprinting of vascular bacterial pathogens of *Musa* spp. *Plant Pathology* 48:121-128.
- Tooley, P.W., and Grau, C.R. 1984. Field characterization of rate-reducing resistance to *Phytophthora megasperma* f. s.p. *glycinea* in soybean. *Phytopathology* 74:1201-1208.
- Trigalet, A., Frey, P., Trigalet-Demery, D. 1994. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*: State of the art and understanding. In Hayward A., and Hartman, G. (eds.). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB INTERNATIONAL. p. 225-233.
- Tsai, J.W., Hsu, S.T., and Chen, L.C. 1985. Bacteriocin-producing strains of *Pseudomonas solanacearum* and their effect on development of bacterial wilt of tomato. *Plant Protection Bulletin (Taiwan)* 27: 267-278.
- Tung, P.X. 1986. Bacterial wilt in Vietnam. In Persley, G.J. (ed). *Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific: proceedings of an international workshop held at PCARRD, Los Baños, Philippines 8-10 October 1985*. ACIAR Proceedings No. 13. p. 68-70.
- Tung, P.X., Rasco, E.T.Jr., Vander Zaag, P., Schmiediche, P. 1990. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in the potato. II. Aspects of host-pathogen-environment interaction. *Euphytica* 45: 211-215.
- Turner, J.T., and Backman, P.A. 1991. Factors relating to peanut yield increases following *Bacillus subtilis* seed treatment. *Plant Disease* 75:347-353.
- Vanderplank, J.E. 1984. *Disease Resistance in Plants*. USA, Academic Press, Inc. 194 p.
- Vasse, J., P. Frey, and A. Trigalet. 1995. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 8: 241-251.
- Vaughan, E.K. 1944. Bacterial Wilt of tomato caused by *Phytomonas solanacearum*. *Phytopathology* 34, 443-458.
- Wallis, F.M., and S.J. Truter. 1978. Histopathology of tomato plants infected with *Pseudomonas solanacearum*, with emphasis on ultrastructure. *Physiological Plant Pathology* 13: 307-317.

- Wang, J.S., Hou, X.Y., and Hu, B.J. 1983. Studies on the control of the bacterial wilt of peanut. *Acta Phytophylactica Sinica* **10**, 79-84.
- Wang, J.F., Hanson, P., and Barnes, J.A. 1998. Worldwide evaluation of an international set of resistance sources to bacterial wilt in tomato. In P. Prior, C. Allen, and J. Elphinstone (eds). *Bacterial Wilt Disease. Molecular and Ecological Aspects*. Springer-Verlag, Berlin, Germany. p. 269-275.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* **26**:379-407.
- Xu, G.-W., and Gross, D.C. 1986a. Field evaluations of the interactions among fluorescent pseudomonads, *Erwinia carotovora*, and potato yields. *Phytopathology* **76**:423-430.
- Xu, G.-W., and Gross, D.C. 1986b. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology* **76**:414-422.
- Yabuuchi, E., Kosako Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Duodoroff 1973) comb. nov. *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb., nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiology and Immunology*. **39**: 897 - 904.
- Yan, Z., Harris, A., Adkins, P., Ryder, M., Rovira, A., and Tang, W. 1996. Growth promotion of Chinese cabbage, capsicum and rape by yield increasing bacteria (YIB's) under Australian conditions. In W. Tang, R. Cook, and A. Rovira (eds). *Advances in Biological Control of Plant Diseases*. China Agricultural University Press, Beijing. p. 136-138.
- Zhang, Y.X., Hua, J.Y., and He, L.Y. 1993. Effect of infected groundnut seeds on transmission of *Pseudomonas solanacearum*. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* **9**, 9-10.
- Zhang, W., Dick, W., and Hoitink, H. 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. *Phytopathology* **86**: 1066-1070.
- Zhanyuan, Z., Coyne, D.P., Vidaver, A.K., and Mitra, A. 1998. Expression of human lactoferrin cDNA confers resistance to *Ralstonia solanacearum* in transgenic tobacco plants. *Phytopathology* **88**: 730-734.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Análisis químico de compost (abono orgánico) procedente de la Hacienda "Juan Viñas". CATIE, Turrialba. Enero 1999. Laboratorio de Suelos.

Acidez Ext.	Al	pH	Al	Ca	Mg	K	P	N	Cu	Zn	Mn
-----cmol(+)/L-----					-----%-----				-----mg/kg-----		
0.30	0.15	6.41	4.93	4.27	0.35	0.61	1.86	1.92	148.44	169.58	1012.8

Anexo 2. Análisis químico de cal dolomítica producida por IMERCA, Guatemala. CATIE, Turrialba. Enero de 1999. Laboratorio de Suelos.

Humedad	Ca	Mg	Si	CaCO ₃	MgCO ₃	SiO ₂
			-----%-----			
1.01	22.02	12.93	2.68	55.05	44.86	5.73

Anexo 3. Análisis químico y físico de suelo del Lote # 8 del Area Experimental "La Montaña". CATIE, Turrialba. Enero 1999. Laboratorio de Suelos.

Bloque	pH	Acid.Ext	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn	M.O.	N	Textura
	H ₂ O		-----cmol(+)/L-----				-----mg/L-----			-----%-----		
I	5.2	0.74	2.95	1.00	0.40	19.54	19.79	3.04	13.45	5.47	0.31	Franco-arcilloso
II	5.1	0.74	2.81	1.03	0.34	18.93	20.14	3.01	13.10	5.30	0.29	Franco-arcilloso
III	5.2	0.74	3.07	0.93	0.38	31.35	22.07	4.34	17.04	5.11	0.28	Franco-arcilloso
IV	5.4	0.34	3.47	1.80	0.20	17.24	22.66	4.40	24.01	5.42	0.28	Franco-arcilloso
Promedio	5.2	0.64	3.07	1.19	0.33	21.77	21.17	3.70	16.9	5.32	0.29	

Anexo 4. Análisis del suelo recolectado en "CABIRIA" antes de ser utilizado en los experimentos de invernadero.

pH	Ac.Ex.	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn
		-----cmol(+)/L-----				-----mg/L-----		
5.6	0.28	7.14	1.94	0.27	11.14	16.32	3.60	20.60

Anexo 5. Análisis del suelo recolectado en "CABIRIA" después de ser utilizado en el Experimento I de invernadero.

pH	Ac.Ex.	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn
		-----cmol(+)/L-----				-----mg/L-----		
6.2	0.05	8.46	3.55	0.16	23.35	17.72	8.64	15.17

Anexo 6. Análisis del suelo recolectado en "CABIRIA" después de ser utilizado en el Experimento II de invernadero.

pH	Ac.Ex.	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn
		-----cmol(+)/L-----				-----mg/L-----		
6.0	0.05	8.87	4.84	0.21	18.18	14.15	5.89	51.98

Anexo 7. Evolución de la severidad de cinco aislamientos de *P. solanacearum* en los días siguientes después de la inoculación de plantas de tomate.

DDI	Severidad de 5 aislamientos				
	TL8-1	M2	M4	TL8-1+M2	TL8-1+M4
6	1.6 ¹	0.4	1.6	0.2	0
9	4	0.6	2	0.8	0.2
11	4	1	2.2	1	0.4
13	4	1.4	2.2	1.6	0.8
15	4	1.4	2.4	1.8	1
GPA	3.52	0.96	2.08	1.08	0.48

¹Promedio de cinco plantas inoculadas.

Anexo 8. Dinámica de las poblaciones (unidades formadoras de colonias por gramo de suelo) de *P. solanacearum* medida en tres diferentes períodos: antes de la incorporación de las enmiendas (enero), tres y ocho meses después de la incorporación de las enmiendas (abril y septiembre respectivamente).

Tratamientos	Enero	Abril	Septiembre
Compost	2.5 ¹ a	20.3 a	8.1 b
Cal dolomítica	2.8 a	31.8 a	10.8 b
Sin enmiendas	6.8 a	15.1 a	25.0 a
P > F	0.2513	0.8248	0.0062
DMS ($\alpha = 0.05$)	7.8	83	10.7

¹Unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de suelo.

Anexo 9. Comparación del efecto de la interacción tratamientos con y sin enmiendas*tratamientos microbianos sobre la incidencia (en %) de la marchitez bacteriana en tomate.

Tratamientos microbianos	Tratamientos con y sin enmiendas		
	CMP	CD	SSE
Testigo (Tg)	32.9	40.4	38.9
<i>P.cepacia</i> (Pc)	44.6	32.1	44.6
<i>B.cereus</i> (Bc)	39.3	43.9	43.9
<i>G.occultum</i> (Go)	22.1	33.6	45.4
Pc+Bc	28.9	29.6	38.2
Pc+Go	33.2	43.6	53.2
Bc+Go	34.3	37.9	47.5
Pc+Bc+Go	23.9	37.1	37.5
P > F	0.9216		

P.cepacia = *Pseudomonas cepacia*; *B.cereus* = *Bacillus cereus*; *G.occultum* = *Glomus occultum*. CMP = compost; CD = cal dolomítica; SSE = suelo sin enmiendas.

Anexo 10. Valores del índice de severidad de la enfermedad (ISE) y del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en la interacción tratamientos con y sin enmiendas*tratamientos microbianos.

Tratamientos microbianos	ABCPE			ISE ¹		
	Tratamientos con y sin enmiendas			Tratamientos con y sin enmiendas		
	CMP ²	CD ³	SSE ⁴	CMP	CD	SSE
Testigo (Tg)	46.7	60.6	61.2	1.1	1.4	1.4
<i>P.cepacia</i> (Pc)	70.0	49.8	65.6	1.6	1.2	1.5
<i>B.cereus</i> (Bc)	63.6	67.5	64.2	1.5	1.6	1.5
<i>G.occultum</i> (Go)	30.2	45.9	65.5	0.8	1.1	1.5
Pc+Bc	41.7	40.6	56.4	1.0	1.0	1.3
Pc+Go	48.0	60.3	79.8	1.2	1.4	1.8
Bc+Go	51.6	49.7	72.9	1.2	1.2	1.7
Pc+Bc+Go	38.2	50.7	54.7	0.9	1.2	1.3
P > F	0.9393			0.9319		

¹Índice de severidad de la enfermedad según la escala de Kempe y Sequeira (1983). ²Parcelas con compost; ³Parcelas con cal dolomítica; ⁴Parcelas sin enmiendas.

Anexo 11. Comparación del efecto de la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y el diámetro (en mm) de plantas de tomate.

Tratamientos microbianos	Altura			Diámetro		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Ta (testigo absol.)	64.8 a ⁴	47.3 a	34.7 cb	12.0 a	7.4 b	6.2 a
Tg (testigo relat.)	27.8 c	42.4 acd	27.6 a	7.0 c	7.3 bd	4.8 e
Pc (<i>P. cepacia</i>)	25.8 c	34.0 ef	28.3 b	7.0 c	6.1 f	5.3 a
Bc (<i>B. cereus</i>)	33.0 d	35.1 e	26.0 a	7.5 c	6.4 ef	5.3 a
Go (<i>G. occultum</i>)	30.1 cd	41.8 acd	40.1 c	7.1 c	7.3 bd	6.2 a
Pc+Bc	27.7 c	43.0 acd	15.6 e	7.2 c	7.0 bdef	3.5 bc
Pc+Go	43.2 b	24.5 g	26.5 a	9.7 b	5.1 ae	4.8 e
Bc+Go	28.9 cd	39.0 cde	26.4 a	7.1 c	6.6 cdef	5.0 d
Pc+Bc+Go	27.7 cd	37.1 bce	20.6 ade	6.7 c	6.8 bdef	4.0 b
P > F		0.0113			0.0171	

¹CMP = Compost; ²CD = Cal dolomítica; ³SSE = Suelo sin enmiendas; ⁴Números en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente.

Anexo 12. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos.

Tratamientos microbianos	ABCPE			ISE		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Testigo relat. (Tg)	94.0	31.3	9.8	3.2	1.1	0.5
<i>P. cepacia</i> (Pc)	96.3	65.0	0.0	3.3	2.3	0.0
<i>B. cereus</i> (Bc)	82.0	29.0	13.2	2.9	1.0	0.7
<i>G. occultum</i> (Go)	89.3	32.5	0.0	3.1	1.1	0.0
Pc+Bc	94.0	36.0	62.7	3.2	1.3	2.1
Pc+Go	60.3	62.7	9.8	2.1	2.1	0.5
Bc+Go	91.7	0.0	41.2	3.1	0.0	1.5
Pc+Bc+Go	91.7	31.3	53.3	3.1	1.1	1.9
P > F		0.0642			0.0719	

¹CMP = compost; ²CD = cal dolomítica; ³SSE = suelo sin enmiendas.

Anexo 13. Comparación del efecto de la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos sobre la altura (en cm) y el diámetro (en mm) de plantas de tomate.

Tratamientos microbianos	Altura			Diámetro		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Testigo absol. (Ta)	74.3	45.1	45.9	8.5	6.2	6.0
Testigo relat. (Tg)	71.2	30.4	43.9	8.3	5.1	5.9
<i>P.cepacia</i> (Pc)	72.0	36.6	26.3	8.4	5.8	4.6
<i>B.cereus</i> (Bc)	71.4	45.3	34.1	8.2	6.6	5.6
<i>G.occultum</i> (Go)	67.6	53.3	36.4	8.8	7.3	5.5
Pc+Bc	67.7	33.6	25.4	8.3	6.2	5.2
Pc+Go	71.9	36.8	32.4	8.9	6.3	5.4
Bc+Go	69.7	32.0	27.9	8.6	6.3	4.9
Pc+Bc+Go	69.2	37.0	29.8	8.4	6.4	5.7
P > F	0.4496			0.6479		

¹CMP = compost; ²CD = cal dolomítica; ³SSE = suelo sin enmiendas.

Anexo 14. Comparación del efecto de la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos sobre la biomasa de plantas de tomate.

Tratamientos microbianos	Biomasa					
	Peso seco de follaje (gr)			Peso seco de follaje (gr)		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Testigo abs. (Ta)	78.1	20.9	18.5	6.1	1.8	2.1
Testigo rel. (Tg)	60.2	6.6	9.5	3.4	0.6	1.0
<i>P.cepacia</i> (Pc)	52.1	9.2	3.7	3.0	0.9	0.3
<i>B.cereus</i> (Bc)	37.8	11.1	5.9	3.0	1.1	0.8
<i>G.occultum</i> (Go)	49.4	21.6	5.9	2.4	2.1	0.6
Pc+Bc	39.4	9.9	2.9	2.0	1.2	0.2
Pc+Go	53.2	8.7	7.0	2.6	0.7	0.8
Bc+Go	40.1	7.4	2.5	2.0	0.9	0.2
Pc+Bc+Go	42.9	8.8	5.7	2.3	1.1	0.7
P > F	0.2412			0.3229		

¹CMP = compost; ²CD = cal dolomítica; ³SSE = suelo sin enmiendas.

Anexo 15. Valores del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y del índice de severidad de la enfermedad (ISE) en la interacción tratamientos sustratos*tratamientos microbianos.

Tratamientos microbianos	ABCPE			ISE		
	Tratamientos sustratos			Tratamientos sustratos		
	CMP ¹	CD ²	SSE ³	CMP	CD	SSE
Testigo relat. (Tg)	10.3	26.3	31.5	0.7	1.4	1.8
<i>P.cepacia</i>	6.0	15.7	49.8	0.5	0.9	2.6
<i>B.cereus</i> (Bc)	14.7	18.8	15.5	0.8	1.1	1.0
<i>G.occultum</i> (Go)	20.7	20.8	17.7	1.3	1.3	1.1
Pc+Bc	14.5	18.8	28.3	0.9	1.1	1.6
Pc+Go	19.7	18.8	20.7	1.3	1.1	1.3
Bc+Go	21.8	18.5	31.5	1.3	1.3	1.8
Pc+Bc+Go	18.7	15.5	22.2	1.2	1.0	1.3
P > F		0.3778			0.3573	

¹CMP = compost; ²CD = cal dolomítica; ³SSE = suelo sin enmiendas.

Anexo 16. Valores de temperatura y humedad relativa obtenidos en el Experimento I de invernadero.

NUM/DIAS	DDINOC	TEMPERATURA (°C)			HUMEDAD RELATIVA (%)		
		Mañana	Tarde	AVG	Mañana	Tarde	AVG
1	08/06/99	34	33	33.5	81	83	82
2	09/06/99	32	33	32.5	80	82	81
3	10/06/99	35	35	35	82	84	83
4	11/06/99	34	33	33.5	80	82	81
5	12/06/99	32	32	32	81	83	82
6	13/06/99	36	34	35	80	81	80.5
7	14/06/99	36	34	35	80	82	81
8	15/06/99	34	32	33	81	83	82
9	16/06/99	36	35	35.5	82	84	83
10	17/06/99	34	33	33.5	82	85	83.5
11	18/06/99	32	31	31.5	83	84	83.5
12	19/06/99	33	32	32.5	82	83	82.5
13	20/06/99	32	32	32	81	84	82.5
14	21/06/99	36	35	35.5	80	81	80.5
15	22/06/99	34	33	33.5	80	82	81
16	23/06/99	30	29	29.5	80	82	81
17	24/06/99	36	35	35.5	82	83	82.5
18	25/06/99	34	33	33.5	82	84	83
19	26/06/99	34	32	33	81	82	81.5
20	27/06/99	30	28	29	82	83	82.5
21	28/06/99	33	32	32.5	82	83	82.5
22	29/06/99	34	31	32.5	80	82	81
23	30/06/99	36	35	35.5	80	82	81
24	01/07/99	28	25	26.5	80	81	80.5
25	02/07/99	20	24	22	80	82	81
26	03/07/99	29	25	27	81	82	81.5
27	04/07/99	23	22	22.5	82	82	82
28	05/07/99	33	22	27.5	81	81	81
29	06/07/99	30	28	29	80	81	80.5
30	07/07/99	34	26	30	80	81	80.5
31	08/07/99	32	28	30	80	82	81
32	09/07/99	22	32	27	82	80	81
33	10/07/99	33	32	32.5	79	80	79.5
34	11/07/99	30	22	26	80	82	81
35	12/07/99	28	29	28.5	81	80	80.5
		Promedio general		31.23	Promedio general		81.54

Anexo 17. Valores de temperatura y humedad relativa obtenidos en el Experimento II de invernadero.

NUM/DIAS	DDINOC	TEMPERATURA (°C)			HUMEDAD RELATIVA (%)		
	Fecha	Mañana	Tarde	AVG	Mañana	Tarde	AVG
1	11/07/99	30	22	26	80	82	81
2	12/07/99	28	29	28.5	81	80	80.5
3	13/07/99	32	30	31	80	81	80.5
4	14/07/99	34	28	31	79	80	79.5
5	15/07/99	30	26	28	81	81	81
6	16/07/99	32	26	29	80	82	81
7	17/07/99	19	29	24	82	81	81.5
8	18/07/99	34	30	32	80	81	80.5
9	19/07/99	30	28	29	80	82	81
10	20-Jul	25	30	27.5	82	80	81
11	21/07/99	24	22	23	81	82	81.5
12	22/07/99	31	25	28	81	82	81.5
13	23/07/99	23	21	22	81	81	81
14	24/07/99	24	24	24	80	81	80.5
15	25/07/99	25	25	25	81	81	81
16	26/07/99	21	21	21	82	81	81.5
17	27/07/99	20	25	22.5	80	81	80.5
18	28/07/99	22	25	23.5	82	81	81.5
19	29/07/99	28	34	31	81	81	81
20	30/07/99	28	23	25.5	81	81	81
21	31/07/99	29	25	27	81	81	81
22	01/08/99	32	33	32.5	80	80	80
23	02/08/99	30	28	29	81	81	81
24	03/08/99	31	27	29	81	81	81
25	04/08/99	36	24	30	81	81	81
26	05/08/99	31	24	27.5	81	81	81
27	06/08/99	35	32	33.5	80	80.5	80.25
28	07/08/99	25	28	26.5	81	81	81
29	08/08/99	23	22	22.5	81	81	81
30	09/08/99	28	30	29	81	81	81
31	10/08/99	32	25	28.5	80	80	80
32	11/08/99	25	28	26.5	80	80	80
33	12/08/99	22	26	24	81	81	81
34	13/08/99	30	24	27	81	81	81
35	14/08/99	32	25	28.5	81	81	81
36	15/08/99	36	21	28.5	81	81	81
37	16/08/99	36	37	36.5	81.5	81.5	81.5
38	17/08/99	37	26	31.5	81.5	81	81.25
39	18/08/99	35	25	30	81.5	81	81.25
40	19/08/99	33	27	30	81	81	81
41	20/08/99	23	27	25	82	81	81.5
42	21/08/99	38	42	40	81	81	81

43	22/08/99	37	21	29	81	81	81
44	23/08/99	35	27	31	81	82	81.5
45	24/08/99	35	26	30.5	81	81	81
46	25/08/99	34	30	32	81	82	81.5
47	26/08/99	35	38	36.5	82	81	81.5
		Promedio general		28.36	Promedio general		80.95

Leyenda:

- DDINOC = días después de la inoculación.
- AVG = Promedio de dos mediciones, una a las 10:00 a.m. y otra a las 3:00 p.m.