

Enmiendas y microorganismos antagonistas para el manejo de *Pseudomonas solanacearum* en tomate

Jorge Ulises Díaz B.¹
Elkin Bustamante²
Vera Sánchez G.³
Andrea Schlönvoigt

RESUMEN. Se estudió el efecto de dos enmiendas y tres microorganismos como posibles factores supresores y antagonistas, respectivamente, del agente causal de la marchitez bacteriana, *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. Los experimentos fueron conducidos en campo e invernadero en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba, Costa Rica. Se establecieron en diseño de parcelas divididas con cuatro repeticiones en el campo y tres en el invernadero. Las parcelas principales se dispusieron en bloques completos al azar. Se evaluaron tres tratamientos (compost comercial, cal dolomítica y un tratamiento sin enmiendas) en las parcelas principales y ocho tratamientos (*P. cepacia*, *Bacillus cereus* y *Glomus occultum* solos y en combinación) en las subparcelas. Los tratamientos con enmiendas se asignaron a las parcelas principales, mientras que los tratamientos con antagonistas se asignaron a las subparcelas. Las variables evaluadas fueron incidencia y severidad de la enfermedad y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Se determinó el efecto de las enmiendas sobre las poblaciones de *P. solanacearum* en tres momentos. En el campo no hubo diferencias significativas entre las variables evaluadas. Las poblaciones de *P. solanacearum* fueron reducidas significativamente en el suelo. En invernadero, las enmiendas redujeron significativamente la severidad de la enfermedad y el ABCPE. Los antagonistas no redujeron significativamente la incidencia y la severidad en el campo e invernadero.

Palabras clave: Marchitez bacteriana, control biológico, incidencia, severidad, ABCPE, *Lycopersicon esculentum*.

ABSTRACT. Amendments and antagonistic microorganisms in *Pseudomonas solanacearum* management in tomato. The effects of two amendments and three microorganisms were studied as possible suppressive and antagonistic factors of bacterial wilt *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. The experiments were conducted in field and greenhouse at the Tropical Agriculture Research and Higher Education Centre (CATIE), located in Turrialba, Costa Rica. Treatments were arranged in a split-plot, using randomized complete block array with four (field) and three (greenhouse) repetitions. Three treatments were evaluated in the main plots and eight in the subplots. The treatments with amendments (commercial compost and dolomit lime) and control plot were assigned to the main plots, while treatments with the antagonists (*P. cepacia*, *Bacillus cereus* and *Glomus occultum* alone and in combinations) were assigned to the subplots. The response variables were disease incidence and severity and the area under disease progress curve (AUDPC). The effect of the amendments was determined on the populations of *P. solanacearum* in three moments. In the field experiment there were no significant differences among treatments. The *P. solanacearum* populations were significantly reduced in the soil. In the greenhouse experiment, the amendments reduced significantly disease severity and the AUDPC. The antagonists did not significantly reduce incidence and severity in both field and greenhouse trials.

Key words: Bacterial wilt, biological control, incidence, severity, AUDPC, *Lycopersicon esculentum*.

¹ Departamento de Protección Agrícola y Forestal, Universidad Nacional Agraria. Apartado 453. Managua, **Nicaragua**. esave@ibw.com.ni ó judiazb@yahoo.com

² Consultor independiente. **Costa Rica**.

³ Laboratorio de Fitopatología, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). **Costa Rica**.

Introducción

La marchitez bacteriana del tomate, causada por *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith, es una enfermedad distribuida en las regiones tropicales y subtropicales y en regiones calientes de clima templado del mundo (Hayward 1991), afectando cultivos alimenticios económicamente importantes, tales como papa, tomate y banano. La enfermedad ha sido registrada en más de 450 especies de plantas, distribuidas en más de 50 familias (Hayward 1994, Prior *et al.* 1998).

El control de la enfermedad es difícil, debido al amplio rango de hospedantes, a su vasta distribución, y a la variabilidad genética del patógeno (Hayward 1991). Como en el caso de otras enfermedades bacterianas vasculares, los productos químicos no son efectivos y las prácticas de saneamiento del cultivo son difíciles de aplicar (Enfinger *et al.* 1979). La estrategia de combate ha sido la obtención de cultivares resistentes (Buddenhagen 1986). Sin embargo, la resistencia varietal fluctúa geográficamente y en el tiempo, debido a la variabilidad de las cepas del patógeno, así como a las condiciones climáticas y ambientales locales (Hartman 1991).

En los últimos tiempos, la investigación sobre métodos de control de la marchitez bacteriana ha estado dirigida hacia la evaluación de enmiendas orgánicas e inorgánicas y la aplicación de microorganismos antagonistas en las semillas o las raíces de las plantas antes de la siembra.

La incorporación de varios materiales orgánicos e inorgánicos en suelo infestado con *P. solanacearum* ha demostrado que estos suprimen la marchitez bacteriana del tomate (Michel *et al.* 1997, Michel y Mew 1998, Sood *et al.* 1998). Entre los microorganismos antagonistas de *P. solanacearum* se reportan *P. fluorescens* y *P. cepacia* (Hartman *et al.* 1993, Sood *et al.* 1998), *Bacillus* spp., y hongos micorrízicos vesículo-arbusculares (Sood *et al.* 1998), mutantes no virulentos de *P. solanacearum* (Trigalet *et al.* 1998).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de enmiendas, compost comercial y cal dolomítica, y de microorganismos como *P. cepacia*, *Bacillus cereus* y *Glomus occultum* sobre la incidencia, severidad y poblaciones de *P. solanacearum* en condiciones de campo e invernadero.

Materiales y métodos

Se realizaron dos experimentos, uno en el campo y otro en invernadero. En ambos, se utilizó el material

experimental *P. cepacia* Palleroni & Holmes (Pc), *B. cereus* Frankland & Frankland (Bc), y *G. occultum* (Go) como microorganismos antagonistas, y compost comercial y cal dolomítica como enmiendas. Los antagonistas utilizados pertenecen a la colección mantenida en la Unidad de Fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Se utilizó la variedad de tomate 'Hayslip', susceptible a *P. solanacearum*. Para el semillero se utilizaron bandejas Tray Master No. 51. Como sustrato se utilizó mezcla de suelo esterilizado, granza de arroz y bocashi, en proporción 10:2:1, más 20 g de 10-30-10 (N-P-K) por kilogramo de mezcla de sustrato (Cubillo *et al.* 1998).

El experimento de campo se estableció en la Estación Experimental "La Montaña", del CATIE, ubicado en Turrialba, Costa Rica, 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. Según Kass *et al.* (1995), el suelo del área experimental pertenece al orden Inceptisol, suborden Tropepts, gran grupo Eutropepts, subgrupo Andic y familia Fine, Isohyperthermic, Halloysitic.

Se utilizó un diseño de parcelas divididas con las parcelas principales dispuestas en bloques completos al azar y cuatro repeticiones. En las parcelas principales se ubicaron tres tratamientos: parcelas con compost, parcelas con cal dolomítica y parcelas sin enmiendas. En las subparcelas se ubicaron ocho tratamientos: testigo, los antagonistas solos y en combinación (*P. cepacia*, *B. cereus*, *G. occultum*, *P. cepacia* + *B. cereus*, *P. cepacia* + *G. occultum*, *B. cereus* + *G. occultum* y *P. cepacia* + *B. cereus* + *G. occultum*).

Antes de la incorporación de las enmiendas y del trasplante, se analizó el suelo para conocer el estado de los nutrientes más importantes y otros factores que contribuyen al buen desarrollo de las plantas. Las enmiendas fueron incorporadas el 11 de enero de 1999 (cuatro meses antes del trasplante), a razón de 40 t/ha para el compost y 5 t/ha para la cal dolomítica, según las recomendaciones de Sasaki *et al.* (1994) y Michel y Mew (1998). Las semillas de tomate fueron bacterizadas antes de la siembra con los antagonistas, de acuerdo con la técnica empleada por Mao *et al.* (1998).

La biomasa de las bacterias antagonistas *P. cepacia* y *B. cereus* se obtuvo 24 horas después de cultivarlas en medio de cultivo agar nutriente. La

biomasa de las bacterias, por separado y en combinación, se centrifugó a 6000 rpm, durante diez minutos; luego, se decantó el sobrenadante. Posteriormente, se agitaron en un vortex 20 ml de la solución sucrosa-carboximetil celulosa y 2 ml de los gránulos bacterianos, para lograr una mezcla homogénea. Esta mezcla se utilizó para tratar tres pequeños lotes de semillas de tomate, de 5 g cada uno. Se bacterizaron 5 g de semilla de tomate con *P. cepacia*, 5 g con *B. cereus* y 5 g con una combinación de las dos bacterias (Pc+Bc). En la combinación de las bacterias, la relación fue de aproximadamente 1:1. Cada semilla fue cubierta con cerca de 1×10^6 unidades formadoras de colonias (ufc), medidas con espectrofotómetro, de las bacterias antagonistas. Las semillas se colocaron sobre papel toalla y se dejaron secando durante toda la noche en una cámara de flujo laminar para su siembra al día siguiente.

Antes de sembrar las semillas bacterizadas, se colocaron 4 g de inóculo del hongo micorrízico *G. occultum* en la parte media del sustrato con el que se llenaron las bandejas. Posteriormente, se procedió a colocar dos semillas en cada orificio de las bandejas. De esta forma quedaron conformados los tratamientos con los tres antagonistas solos y en combinación. Las plántulas se transplantaron al 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 de tomate.

Después del trasplante se aplicó riego. Se hicieron dos aplicaciones de insecticidas para combatir crisomélidos y seis aplicaciones de fungicidas para el control de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. El control de malezas fue manual. Se fertilizó con una fórmula completa (N-P-K) en el momento del trasplante y con 18-5-15-6-2 (N-P-K-Mg-B) durante el inicio de la floración.

Se realizaron tres monitoreos de las poblaciones de *P. solanacearum*: en enero (antes de la incorporación de las enmiendas), en abril (antes del trasplante) y en septiembre (etapa de fructificación). La toma de muestras y el conteo de las poblaciones se hizo siguiendo la técnica empleada por Michel *et al.* (1997).

En el experimento de invernadero, se utilizó un diseño de parcelas divididas. En las unidades principales se colocaron tres tratamientos (sustrato con compost, sustrato con cal dolomítica y sustrato sin enmiendas). El sustrato consistió en una mezcla de suelo estéril y arena. El suelo fue sometido a análisis de fer-

tilidad antes de ser esterilizado en hornos a 200°C, por 4 horas. En las subunidades se ubicaron ocho tratamientos (tres antagonistas solos y cuatro combinaciones de ellos más un tratamiento testigo). Las raíces de 63 plantas de tomate de dos semanas de germinadas fueron sumergidas por una hora en una solución bacteriana a una concentración de aproximadamente 1×10^8 ufc/ml de los antagonistas solos y en combinación. Las raíces de las plantas del tratamiento testigo fueron sumergidas por una hora en agua destilada, según la técnica empleada por Misaghi *et al.* (1992). Inmediatamente después, las plantas tratadas y sin tratar fueron sembradas en vasos plásticos de doce onzas de capacidad, que contenían los tres tipos de sustratos. En los tratamientos con el hongo endomicorrízico *G. occultum*, se depositaron 2 g de inóculo del hongo inmediatamente debajo del sistema radicular de las plantas para conformar los tratamientos solos con el hongo antagonista y los tratamientos en combinación con las dos bacterias antagonistas.

A los 27 días después de la siembra (dds), las plantas de tomate fueron trasplantadas en macetas de 3,75 kg de capacidad que contenían los tres tipos de sustratos mencionadas anteriormente. Las plántulas fueron trasplantadas con el suelo contenido en los vasos y adherido a las raíces. Nueve días antes del trasplante, se inocularon 63 macetas con una suspensión bacteriana del aislamiento TL8-1 de *P. solanacearum*. Esta suspensión se obtuvo de platos Petri con el medio agar cloruro de tetrazolio (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), medida con espectrofotómetro, de acuerdo con lo propuesto por Michel y Mew (1998). En cada maceta se depositó 20 ml de la suspensión bacteriana. En este experimento no se hicieron heridas a las raíces de las plantas. El aislamiento TL-8 fue obtenido del Lote #8 de la Estación Experimental "La Montaña", sitio donde posteriormente se estableció el experimento de campo. Este aislamiento fue seleccionado en pruebas preliminares de invernadero, ya que presentó un grado de patogenicidad del aislamiento (GPA) de 3,5, considerado elevado según el criterio de Adhikari *et al.* (1993) y, a los nueve días después de la inoculación, produjo el máximo (4) índice de severidad de la enfermedad (ISE), según la escala de Kempe y Sequeira (1983).

Las plantas se regaron diariamente. A los 36 dds, fueron fertilizadas con la fórmula 10-30-10 (N-P-K), en una dosis de 5 g/maceta. Para combatir el mildiú polvoriento fue necesaria la aplicación de azufre a los cinco días después del trasplante, a una dosis de 1,5 g/l. Una vez concluido el experimento, se tomaron muestras de suelo para conocer los cambios ocurridos en cuanto a fertilidad, pH y contenido de Ca durante el período de experimentación.

En el campo se evaluó la incidencia con la fórmula propuesta por James (1983): $I = N^\circ \text{ de plantas enfermas} / N^\circ \text{ total de plantas evaluadas (sanas y enfermas)}$, y la severidad de la marchitez según la escala de Kemp y Sequeira (1983): 0 = plantas sanas; 1 = 25% del follaje marchito; 2 = 26-50% del follaje marchito; 3 = 51-75% del follaje marchito; 4 = 76-100% del follaje marchito. Las evaluaciones se realizaron durante siete semanas después del trasplante. En el invernadero se registró el ISE durante cuatro semanas después de la inoculación de las macetas con el patógeno. Se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante la siguiente fórmula:

$$ABCPE = \left[\sum_{i=1}^n ((X_{i+1} + X_i) / 2) (t_{i+1} - t_i) \right],$$

donde X_i es la medida de la severidad de la enfermedad en la i -ésima observación, y t es la medida del tiempo. El conteo de poblaciones de *P. solanacearum*

y las demás variables mencionadas se sometieron a análisis de varianza. Para el análisis de los datos se utilizó el programa SAS, versión 6.1.

Resultados y discusión

En el campo no se observaron diferencias significativas ni en los tratamientos con enmiendas y sin ellas, ni en los tratamientos con antagonistas para la variable ISE. El menor valor de incidencia fue observado en parcelas enmendadas con compost, y el mayor en las parcelas que no recibieron enmienda (Fig. 1A).

Los valores menores en porcentaje de incidencia fueron para los tratamientos *G. occultum*, *P. cepacia*+*B. cereus* y *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum*. Todos fueron mejores que el testigo, aunque estadísticamente no hubo diferencias entre ellos (Fig. 1B). Para las variables ISE y ABCPE en el campo no se encontró diferencias significativas en ninguno de los tratamientos.

Los resultados del estudio de campo indican que las enmiendas (compost y cal dolomítica) y microorganismos antagonistas no tuvieron un efecto supresor significativo, en el corto plazo, sobre la incidencia y severidad de *P. solanacearum*. A pesar de esto, sí hubo tratamientos como G_o , P_c+B_c y $P_c+B_c+G_o$, que mostraron reducción de los valores del ABCPE, la incidencia y la severidad; sin embargo, esta reducción no fue significativa.

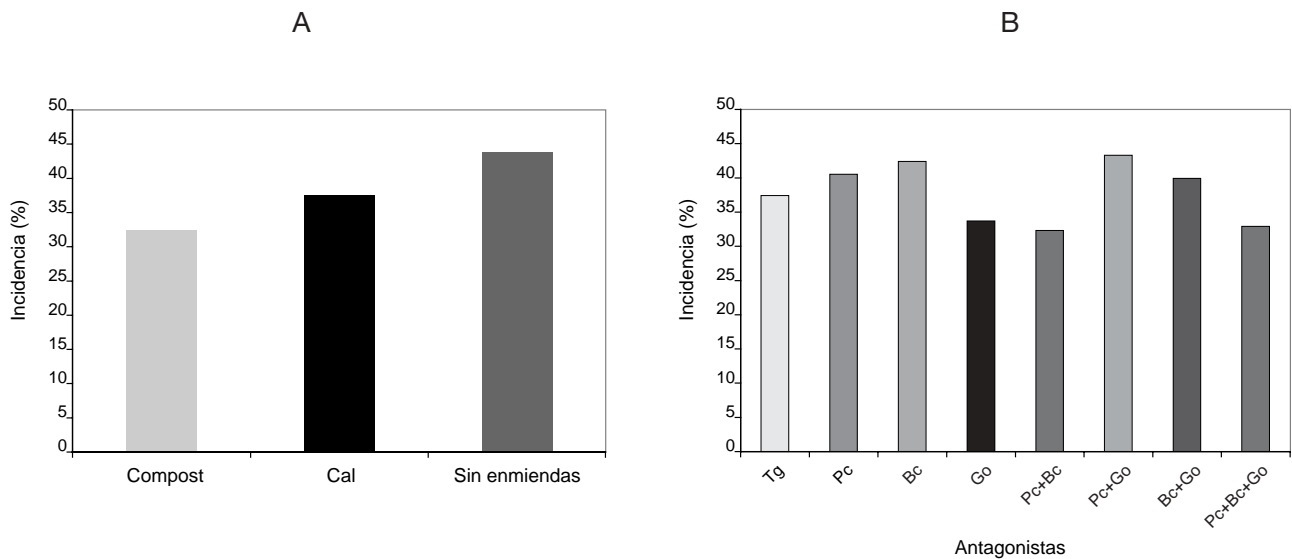


Figura 1. (A) Efecto de enmiendas sobre la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate. (B) Efecto de microorganismos antagonistas sobre la incidencia de la marchitez bacteriana en tomate. Estación Experimental La Montaña, Turrialba, Costa Rica. 1999.

En este estudio en particular, una de las 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 facilitaron el ingreso de la bacteria al sistema radicular de las plantas al alimentarse de este.

Otro factor muy importante fueron las condiciones climáticas durante el trasplante y en el período posterior a este. Durante el trasplante, predominó un período seco que no permitió un buen establecimiento de las plántulas. Posteriormente, estas plantas estuvieron sometidas a intensas lluvias, que contribuyeron a aumentar los niveles de inóculo de *P. solanacearum* en el suelo y a su diseminación de plantas enfermas a plantas sanas. Las lluvias posibilitaron también un rápido desarrollo del tizón tardío (*P. infestans*), que no permitió seguir evaluando el impacto de *P. solanacearum* sobre los rendimientos del cultivo de tomate.

Otro aspecto relevante es la relación que existe entre el tamaño de la población de una bacteria antagonista 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 posibles rasgos 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 han mencionado anteriormente (*Phyllophaga* spp., condiciones climáticas adversas, tizón tardío, tipo de compost, tamaño de la población antagonista introducida) pudieron ser el principal obstáculo para que los antagonistas introducidos con las semillas no hayan hecho manifiesto su potencial supresor sobre el agente causal de la marchitez bacteriana.

Las poblaciones de *P. solanacearum* en el campo tuvieron un comportamiento fluctuante durante el período de evaluación (enero-septiembre) y en los dos primeros muestreos no se detectaron diferencias en el número de ufc/g de suelo de *P. solanacearum* en las parcelas con enmiendas (compost y cal dolomítica) y en las parcelas sin enmiendas. En el tercer muestreo,

se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en el número de ufc/g de suelo entre las parcelas con enmiendas y las parcelas sin enmiendas. En las parcelas con enmiendas no se detectaron diferencias significativas en las poblaciones de *P. solanacearum* (Fig. 2).

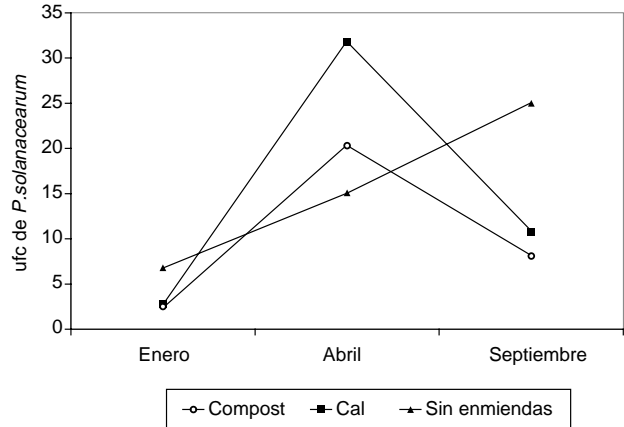


Figura 2. Comportamiento de las poblaciones de *P. solanacearum* en parcelas con enmiendas de compost (40 t/ha), cal dolomítica (5 t/ha) y en parcelas sin enmiendas. Estación Experimental "La Montaña", Turrialba, Costa Rica. 1999.

Las poblaciones de *P. solanacearum* en el campo se redujeron significativamente ($P \leq 0,05$) ocho meses después de la aplicación de las enmiendas. Michel *et al.* (1997) redujeron las poblaciones de *P. solanacearum* a cero a las cuatro semanas de aplicar una enmienda de urea + CaO (200 kg N + 5000 kg CaO), la cual elevó el pH del suelo hasta 8,2. En este estudio en particular, el tiempo necesario para reducir las poblaciones de la bacteria en el suelo fue más prolongado (ocho meses), debido a que no se aplicó urea como en el trabajo de Michel *et al.* (1997), y el pH se mantuvo por debajo de 6, lo que hace suponer que la urea tiene un efecto perjudicial por sí misma sobre la bacteria o su efecto es sinérgico, al aumentar el efecto supresor del Ca sobre las poblaciones de la bacteria de la marchitez.

En el experimento de invernadero, los valores del ABCPE (compost: 15,8; cal dolomítica: 19,2; y sin enmiendas: 27,2) y del índice de severidad de la enfermedad (Fig. 3) fueron significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos sustratos, pero no entre tratamientos microbianos ni en los tratamientos sustratos con tratamientos microbianos. El antagonista *B. cereus* mostró tendencia a reducir la severidad de la

marchitez bacteriana en el invernadero (datos no presentados).

En el sustrato con compost se observaron los valores promedio más bajos del ABCPE y del ISE, indicando que en este experimento sí hubo una respuesta positiva del compost, al disminuir el efecto de la severidad de la enfermedad sobre las plantas inoculadas con el patógeno.

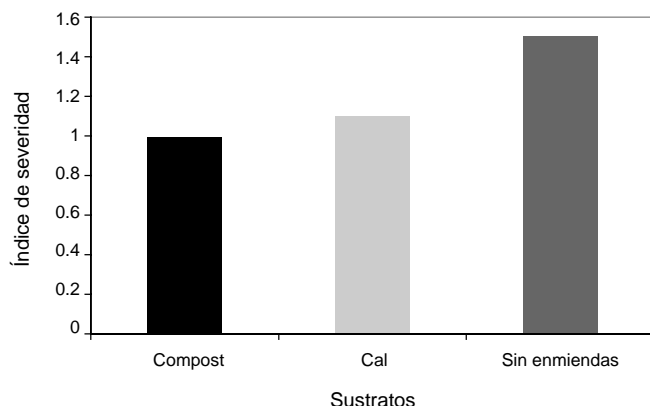


Figura 3. Efecto de enmiendas sobre la severidad de la marchitez bacteriana (*P. solanacearum*) en tomate. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 1999.

En el invernadero, las enmiendas redujeron significativamente la severidad de la marchitez bacteriana y los valores del ABCPE. Hernández Garboza (1997), en un estudio bajo condiciones de invernadero, observó que las plantas que crecieron sobre sustratos con enmiendas orgánicas presentaron los menores grados de severidad de la marchitez bacteriana, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio.

La mezcla de microorganismos no aumentó su capacidad de reducir la severidad de la marchitez bacteriana. Esta misma tendencia fue encontrada por Ryder *et al.* (1999), quienes encontraron que una mezcla de dos cepas de *B. cereus*, M22 y A47-3 (en una proporción de cerca de 1:1) controló menos la enfermedad toma-todo en trigo que los aislamientos inoculados por separado. Estos resultados sugieren que existe incompatibilidad entre las cepas.

Sood *et al.* (1998) reportan que *G. 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, *G. fasciculatum*, mostraron síntomas de marchita-

miento a los 35 días de la inoculación y un 100% de marchitamiento a los 44 días de la inoculación. En este estudio, *G. occultum* presentó valores bajos del ABCPE y del ISE, pero no logró suprimir completamente el patógeno, lo cual sugiere que puede haber una especificidad antagonista-patógeno para el caso de *G. mosseae*.

Estos microorganismos podrían ser útiles en un sistema de control integrado de la enfermedad. Se debe tener en cuenta que en este estudio se utilizó una variedad de tomate susceptible a la marchitez bacteriana, lo cual indudablemente influye 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 que le brinde ventajas ecológico-competitivas, principalmente a aquellos antagonistas que vayan a ser introducidos en el campo, donde las condiciones son completamente diferentes a las de laboratorio o invernadero. Tanto en el campo como en el invernadero, las plantas y los antagonistas estuvieron expuestos a una elevada presión del inóculo, que sin duda influyó negativamente en sus respuestas de defensa y supresión, respectivamente. Esto plantea la necesidad de conocer con antelación la cantidad de inóculo presente en el campo antes de introducir antagonistas en las semillas o a través de otro medio, con el fin de introducir poblaciones de antagonistas que superen ampliamente las poblaciones del patógeno y puedan suprimirlo o desplazarlo de ese nicho ecológico.

En conclusión, las poblaciones de *P. solanacearum* fueron reducidas significativamente en las parcelas con enmiendas ocho meses después de la incorporación de estas últimas en el campo. El compost comercial utilizado en este estudio no redujo significativamente la incidencia y la severidad de la marchitez bacteriana en el campo; en invernadero, la severidad fue reducida significativamente en los sustratos enmendados; los tratamientos *G. occultum*, *P. cepacia*+*B. cereus* y *P. cepacia*+*B. cereus*+*G. occultum* mostraron una tendencia a reducir la incidencia y la severidad de la enfermedad en el campo. El antagonista *B. cereus* mostró la tendencia a reducir la severidad de la marchitez bacteriana en invernadero.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero suministrado por el Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) para la ejecución de esta investigación.

Literatura citada

- Adhikari, TB; Manandhar, JB; Hartman, GL. 1993. Characterisation of *Pseudomonas solanacearum* and evaluation of tomatoes in Nepal. In Hartman, GL; Hayward, AC. eds. Bacterial wilt. Proceedings of an International Symposium held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 132-137.
- Buddenhagen, IW. 1986. Bacterial Wilt revisited. In Persley, GJ. 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.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1998. Evaluación de recipientes y mallas para el manejo de *Bemisia tabaci* mediante semilleros cubiertos, en tomate. Manejo Integrado de Plagas 51:29-35.
- Enfinger, JM; McCarter, SM; Jaworsky, CA. 1979. Evaluation of chemicals and application methods for control of bacterial wilt of tomato transplants. Phytopathology 69:637-640.
- Hartman, GL. 1991. Screening for bacterial wilt resistance in tomato: seedling response to *Pseudomonas solanacearum*. Bacterial Wilt Newsletter 7:1-2.
- _____; Hong, WF; Hanudin; Hayward, AC. 1993. Potential of biological and chemical control of bacterial wilt. In Hartman, GL; Hayward, AC. eds. Bacterial wilt. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992. ACIAR Proceedings No. 45. p. 322-326.
- Hayward, AC. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annual Review of Phytopathology 29:65-87.
- _____. 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In Hayward, AC; Hartman, GL. eds. Bacterial wilt, the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*., Wallingford, UK, CAB International p. 9-24.
- Hernández Garboza, LR. 1997. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 77 p.
- James, WC. 1983. Crop loss assessment. In Johnston, A; and Booth, C. Plant pathologist's pocketbook. 2 ed. Wales, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. p. 131-143.
- Jjemba, PK; Alexander, M. 1999. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. Soil Biology & Biochemistry 31:623-632.
- Kass, DCL; Jiménez, M; Kaffman, JH.; Herrera-Reyes, C. 1995. Reference soils of the Turrialba valley and slopes of the Irazu volcano. Soil Brief Costa Rica 2. Turrialba, CR, CATIE, ISRIC. 26 p.
- Kempe, J; Sequeira, L. 1983. Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. Plant Disease 67: 499-503.
- Mao, W; Lewis, JA; Lumsden, RD; Hebbbar, KP. 1998. Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. Crop Protection 17:535-542.
- Michel, VV; Wang, JF; Midmore, DJ; Hartman, GL. 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, VV; Mew, TW. 1998. Effect of soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils. Phytopathology 88:300-305.
- Misaghi, IJ; Olsen, MW; Billotte, JM; Sonoda, RM. 1992. The importance of rhizobacterial mobility in biocontrol of bacterial wilt of tomato. Soil Biology & Biochemistry 24:287-293.
- Prior, P; Allen, C; Elphinstone, J. 1998. Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects, Berlin, DE, Springer Verlag.
- Ryder, MH; Yan, Z; Terrace, TE; Rovira, AD; Tang, W; Correll, RL. 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 and Biochemistry 31:19-29.
- Sasaki, S; Alvarado, MA; Kam, AL. 1994. Manual del curso básico de agricultura orgánica. Alajuela, CR. Universidad de Costa Rica. 30 p.
- Sood, AK; Kalha, CS; Parashar, A. 1998. Ecofriendly methods for the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. Bacterial Wilt Newsletter 15.
- Trigalet, A; Trigalet-Demery, D; Feuillade, R. 1998. Aggressiveness of French isolates of *Ralstonia solanacearum* and their potential use in biocontrol. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 28:101-107.