



“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**Maestría en Sanidad Vegetal**

**Trabajo de Tesis**

Evaluación de la tolerancia de portainjertos de  
tomate y berenjena para el manejo de *Ralstonia*  
*solanacearum* [Smith (1896) Yabuuchi *et al.*, 1996],  
León Nicaragua, 2019

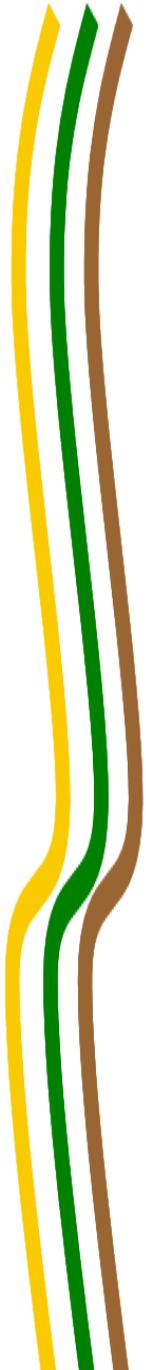
**Autor**

**Ing. Luis Manuel Medina Gómez**

**Asesor**

**Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz**

**Managua, Nicaragua**  
**Enero 2020**





“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**Maestría en Sanidad Vegetal**

**Trabajo de Tesis**

Evaluación de la tolerancia de portainjertos de  
tomate y berenjena para el manejo de *Ralstonia*  
*solanacearum* [Smith (1896) Yabuuchi *et al.*, 1996],  
León Nicaragua, 2019

**Autor**

**Ing. Luis Manuel Medina Gómez**

**Asesor**

**Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz**

Presentado a la consideración del honorable tribunal  
examinador como requisito final para optar al grado de  
Maestro en Ciencias

**Managua, Nicaragua**  
**Enero 2020**

Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable Tribunal Examinador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito para optar al título profesional de:

***Maestro en Ciencias en Sanidad Vegetal***

---

Miembros del Tribunal Examinador

---

Presidente (Grado académico y nombre)

Secretario (Grado académico y nombre)

Vocal (Grado académico y nombre)

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_

## ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
<b>DEDICATORIA</b>	i
<b>AGRADECIMIENTO</b>	ii
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	v
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	vii
<b>RESUMEN</b>	viii
<b>ABSTRACT</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. OBJETIVOS</b>	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
<b>III. MARCO DE REFERENCIA</b>	4
3.1. El cultivo de tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.)	4
3.1.1. Taxonomía, origen y botánica	4
3.1.2. Producción e importancia nutricional	6
3.2. El cultivo de berenjena ( <i>Solanum melongena</i> )	7
3.2.1. Descripción del cultivo de berenjena	7
3.3. El patógeno <i>Ralstonia solanacearum</i>	7
3.3.1. Síntomas	8
3.3.2. Epidemiología de <i>R. solanacearum</i>	9
3.3.3. Manejo de <i>Ralstonia solanacearum</i>	11
3.4. Injertación	15
3.4.1. Importancia de los injertos.	16
3.4.2. Proceso del injerto.	17
3.4.3. Factores ambientales que influyen en el proceso de injertación	17
3.4.4. Infraestructura básica para la injertación	18
3.4.5. Materiales de tomates usados comúnmente en Nicaragua.	18
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	20
4.1. Ubicación de la zona de estudio	20
4.2. Diseño metodológico	20
4.2.1. Recolección de muestras e identificación de <i>Ralstonia solanacearum</i>	20
4.2.2. Comportamiento de patrones a la infección de <i>Ralstonia solanacearum</i>	23
4.2.3. Compatibilidad de patrones tolerantes e híbridos susceptibles a <i>R. solanacearum</i>	25
4.2.4. Evaluación de cultivares injertados en patrones tolerantes a <i>R. solanacearum</i>	28
4.3. Variables evaluadas en etapa de campo	30
4.3.1. Comportamiento de patrones tolerantes y evaluación de cultivares injertados	30
4.3.2. Variables evaluadas en las dos técnicas de injertación	33
4.4. Análisis de los datos	33
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	35
5.1. Aislamiento e identificación de la cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i>	35
5.2. Comportamiento de portainjertos tolerantes a marchitez bacteriana	36
5.2.1. Variables de crecimiento y desarrollo	37
5.2.2. Incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados	38

5.2.3. Severidad de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados	40
5.3. Evaluación de dos técnicas de injertación en el cultivo de tomate	42
5.4. Evaluación de cultivares injertados en portainjertos tolerantes	50
5.4.1. Parámetros de crecimiento y desarrollo	50
5.4.2. Incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados	55
5.4.3. Severidad de marchitez bacteriana	57
5.4.4. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad	59
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	61
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	62
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b>	63
<b>IX. ANEXOS</b>	71

---

## **DEDICATORIA**

A mi madre y padre, aunque ya no estén para ver este logro, sé que por su trabajo día a día, lograron guiar mi camino para seguir creciendo como profesional.

A MSc. Patricia Castillo Altamirano, mi profesora y guía, que a través de sus consejos y pertinencia en el trabajo me inspiraron a tomar este reto para fortalecer mis capacidades como profesional.

Ing. Luis Medina Gómez

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios Padre Todopoderoso, por haberme guiado con sabiduría, fe y dedicación en el transcurso de mis estudios.

Al Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz por su apoyo incondicional, disponibilidad y empeño brindado para la realización de este trabajo.

A Ing. Danessa Ramírez Reynoza y M.Sc. Isaías Sánchez por su apoyo incondicional y por compartir sus experiencias en los aspectos claves de esta investigación.

A mis amigos y compañeros de estudio Ing. Danessa Ramírez, Ing. Ajax Fonseca y Ing. Nelson Degrandes Rodríguez por su amistad, cariño y confianza.

Ing. Luis Medina Gómez

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1	Escala de severidad de la marchitez bacteriana causada por <i>Ralstonia solanacearum</i> en tomate, basada en su sintomatología	32
2	Comprobación de biovar mediante reacciones a cuatro disacáridos y dos alcoholes.	36
3	Promedio de altura en cm, de las repeticiones de cada uno de los tratamientos evaluados	37
4	Área bajo de la curva del progreso de <i>Rasltonia solanacearum</i> en tres cultivares de solanáceas evaluados en el Campus Agropecuario de la UNAN León	41
5	Porcentaje de prendimiento o sobrevivencia de porta injertos utilizando dos técnicas de injertación, bajo las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León	43
6	Porcentaje de prendimiento (sobrevivencia) de dos híbridos injertados utilizando dos técnicas de injertación y dos porta injertos, bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León	45
7	Análisis de las medias de prendimiento (sobrevivencia) desde diferentes parámetros	47
8	Comparación de medias de la variable altura y número de hojas de los cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a <i>Ralstonia solanacearum</i> , bajos las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León	50
9	Comparación de medias para las variables altura, número de flores y número de frutos de los cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> , bajos las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León	52
10	Comparación de medias según Tukey para la incidencia de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	57
11	Comparación de medias según Tukey para la variable severidad de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	58

12	Área bajo de la curva del progreso de <i>Rasltonia solanacearum</i> de cultivares de solanáceas injertados en dos porta injertos tolerante a la bacteria
----	--

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Cámara artesanal Post injertación	28
2	Escala de severidad de la enfermedad	32
3	Crecimiento bacteriano de <i>Ralstonia solanacearum</i> en cloruro de tetrazolium (TZC)	35
4	Porcentaje de incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados con la cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i>	39
5	Porcentaje de severidad de la marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados con la cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i>	40
6	Sobrevivencia de injertos, utilizando dos técnicas de injertación y dos porta injertos bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León	44
7	Comparación de la sobrevivencia de dos híbridos injertados, utilizando dos técnicas de injertación y dos portainjertos diferentes bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León	46
8	Altura en centímetro de yemas de tomates injertadas en dos portainjertos diferentes con dos técnicas de injertación, bajo las condiciones ambientales del Campo Agropecuario de la UNAN León	48
9	Número de hojas de yemas de tomates injertadas en dos portainjertos diferentes con dos técnicas, bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León	49
10	Comportamiento de la variable altura de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	52
11	Comportamiento de la variable número de flores de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	53
12	Comportamiento del número de frutos de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	55

13	Comportamiento de la incidencia de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	56
14	Comportamiento de la severidad de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	58
15	Comportamiento del ABCPE de dos cultivares de tomate injertados en dos patrones tolerantes a una cepa de <i>Ralstonia solanacearum</i> bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	60

---

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO</b>		<b>PÁGINA</b>
1	Puntos de recolectas de plantas con síntomas de marchitez bacteriano	71
2	Ubicación del área del ensayo de la fase de casa malla	71
3	Croquis de campo de la etapa I selección de porta injertos tolerantes a marchitez bacteriana causada por <i>Ralstonia solanacearum</i>	72
4	Diseño de campo de las repeticiones por tratamiento	72
5	Diseño de campo de evaluación de cultivares injertados en portainjertos tolerantes a <i>Ralstonia solanacearum</i> , bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León	73

## RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos económicamente más importantes a nivel mundial y es usado como un cultivo modelo en muchos estudios de investigación. El marchitamiento vascular causado por la bacteria *Ralstonia solanacearum* es un factor limitante para la producción de tomate en muchas regiones incluyendo Nicaragua. Los métodos utilizados para el manejo de la enfermedad han tenido baja eficacia en el campo. Por consiguiente, el objetivo de esta investigación fue generar información sobre el uso de portainjertos tolerantes a *R. solanacearum*, como una estrategia de manejo integrado de la enfermedad. Inicialmente se identificó la cepa bacteriana de *R. solanacearum*, de la cual se preparó una solución que fue inoculada en tomate variedad INTA-L7 e INTA-L5 y en berenjena variedad belleza negra para determinar su tolerancia a la infección bacteriana. En los patrones tolerantes se injertaron yemas de dos híbridos comerciales de tomate mediante dos técnicas de injertación. Se evaluó el comportamiento de los híbridos injertados en patrones tolerantes. Se analizaron variables fenológicas, incidencia, severidad y el ABCPE. Las variables se analizaron estadísticamente y se usó la prueba de Tukey para la separación de medias. La cepa bacteriana identificada fue Raza 1 Biovar III, se seleccionó la variedad de tomate INTA-L7 y la berenjena variedad belleza negra como patrones tolerantes. La técnica de injertación de púa en patrón de berenjena fue la mejor. En los híbridos Pony y Shanty injertados en berenjena se observó la incidencia más baja y la severidad fue nula. Los valores de ABCPE fueron más altos en el híbrido Shanty injertado en INTA-L7. Se concluye que la berenjena se puede usar como patrón tolerante a *R. solanacearum*, la técnica de injertación más eficiente es la de púa y se recomienda realizar un análisis económico de este nuevo método de manejo de la marchitez bacteriana en solanáceas.

**Palabras claves:** marchitez bacteriana, epidemiología, técnica de injerto, Solanáceas

## ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most economically important crops worldwide and is used as a model crop in many research studies. Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is a limiting factor for tomato production in many regions including Nicaragua. The methods used for disease management have had low efficacy in the field. Therefore, the objective of this research was to generate information on the use of rootstocks tolerant to *R. solanacearum*, as an integrated disease management strategy. Initially the bacterial strain of *R. solanacearum* was identified, from which a solution was prepared that was inoculated in tomato variety INTA-L7 and INTA-L5 and in eggplant variety black beauty to determine its tolerance to bacterial infection. In tolerant rootstocks, scions of two commercial tomato hybrids were grafted using two grafting techniques. The behavior of grafted hybrids in tolerant rootstocks was evaluated. Phenological variables, incidence, severity and AUDPC were analyzed. The variables were statistically analyzed and the Tukey test was used for the mean separation. The bacterial strain identified was Race 1 Biovar III, the tomato variety INTA-L7 and eggplant variety black beauty were selected as tolerant patterns. The cleft grafting technique with eggplant as rootstocks was the best. In the Pony and Shanty hybrids grafted in eggplant, the lowest incidence was observed and the severity was zero. ABCPE values were higher in Shanty hybrid grafted in INTA-L7. It is concluded that eggplant can be used as a tolerant rootstock to *R. solanacearum*, the most efficient grafting technique was the cleft one and it is recommended to perform an economic analysis of this new method of managing bacterial wilt in Solanaceae.

**Keywords:** bacterial wilt, epidemiology, grafting technique, Solanaceous

## I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos económicamente más importantes a nivel mundial y se presenta como un cultivo modelo en muchos estudios de investigación (Kimura y Sinha 2008; Caicedo y Peralta 2013; Chen *et al.*, 2015). El fruto de tomate es una fuente de nutrientes importante que incluyen licopeno,  $\beta$ -caroteno, flavonoides y vitamina C, así como derivados del ácido hidroxicinámico. Desde que se descubrió que el licopeno tiene propiedades anti-oxidantes y contra el cáncer, el interés por el cultivo de tomate ha crecido rápidamente (Combet *et al.*, 2014; Bhowmik *et al.*, 2012; Gerszberg *et al.*, 2015). La producción de tomate como un negocio agrícola es una fuente importante de sustento en muchas regiones del mundo, y ofrece un gran potencial para generar empleo (Padilla-Bernal *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2017).

El marchitamiento vascular del tomate causado por la bacteria *Ralstonia solanacearum* (anteriormente *Pseudomonas solanacearum*) es un factor limitante para la producción de tomate en regiones húmedas tropicales (Hayward, 1991). El patógeno tiene aproximadamente 450 especies de plantas como hospedantes (Elphinstone, 2009) y causa grandes pérdidas de rendimiento al tomate (hasta 90%), berenjena (50-60%), pimiento o chile dulce (40-50%) y chile (30-40%) en climas húmedos tropicales (Singh *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2014).

Se han sugerido varios métodos químicos intensivos para el manejo del marchitamiento bacteriano del tomate, los cuales, sin embargo, reducen drásticamente la calidad del suelo y contaminan los cuerpos de agua (Swarnam y Velmurugan, 2013). Aunque se proponen otras prácticas como la rotación de cultivos, variedades resistentes, solarización del suelo, aplicación de enmiendas al suelo y agentes de control biológico, estos métodos tienen una baja eficacia en condiciones de campo. De los métodos antes mencionados, el uso de variedades resistentes parece ser la solución más apropiada para el manejo de la enfermedad (Hanson *et al.*, 1996).

Algunas investigaciones indican que el injerto en portainjertos resistentes es una forma efectiva de manejar el estrés biótico y abiótico en hortalizas (Lee, 1994). Sin embargo, el éxito del injerto depende en gran medida de la selección del patrón y del método de manejo. Se han logrado

avances significativos en las técnicas de injerto de tomate y berenjena en portainjertos resistentes para el manejo de la marchitez bacteriana (Lee 1994; McAvoy *et al.*, 2012; Rivard *et al.*, 2012). Por lo tanto, el procedimiento de injerto con materiales y técnicas disponibles localmente es deseable para la rápida difusión de los beneficios del injerto para los agricultores. La interacción entre portainjerto e injerto mejora el vigor del sistema radicular para una mayor captación de agua y minerales que conduce a un mayor rendimiento (McAvoy *et al.*, 2012).

En Nicaragua no existen reportes del uso de portainjertos resistentes para el manejo de patógenos radiculares y muy particularmente en el cultivo de tomate para el manejo de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*. Se sabe que hay un gran potencial de germoplasma silvestre que puede ser aprovechado como portainjertos para inducir resistencia a patógenos radiculares en las principales variedades comerciales que se encuentran registradas en el país. Por consiguiente, el presente estudio se llevó a cabo con el objetivo fundamental de generar información acerca de la factibilidad del uso de portainjertos de tomate y berenjena para la inducción de tolerancia en dos variedades comerciales de tomate al agente causal de la marchitez bacteriana.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

- Generar información sobre el uso de porta injertos de tomate y berenjena tolerantes a *Ralstonia solanacearum*, causante de la marchitez bacteriana de las solanáceas, como una alternativa dentro de las estrategias de manejo integrado de la enfermedad.

### 2.2. Objetivos específicos

- Identificar mediante características morfológicas y bioquímicas la cepa de *Ralstonia solanacearum* utilizada en el estudio.
- Comparar el comportamiento de las variedades de tomate INTA-L7, INTA-L5 y berenjena variedad belleza negra como patrones tolerantes a la bacteria *Ralstonia solanacearum*.
- Comparar la compatibilidad de los patrones tolerantes a *Ralstonia solanacearum* con dos híbridos Shanty y Pony express susceptibles a la bacteria.
- Evaluar bajo condiciones de casa malla la intensidad de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* en dos híbridos injertados en patrones tolerantes.

### III. MARCO DE REFERENCIA

#### 3.1. El cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

En esta sección se describen aspectos botánicos, taxonómicos, centro de origen y distribución, prácticas agronómicas del cultivo de tomate y su interacción con uno de los organismos patógenos más importantes que afectan a este cultivo, la bacteria *Ralstonia solanacearum*.

##### 3.1.1. Taxonomía, origen y botánica

El tomate cultivado es miembro del género *Solanum* dentro de la familia Solanaceae, la cual incluye más de 3000 especies que ocupan una amplia variedad de hábitats. La Familia Solanaceae, comúnmente conocida como la familia de las solanáceas (hierba mora), también incluye otras plantas cultivadas importantes, como el tabaco, pimiento, papa y berenjena. La clasificación del tomate ha sido objeto de mucha discusión y la diversidad del género ha llevado a reevaluar la taxonomía anterior. El tomate fue originalmente llamado *Solanum lycopersicum* por Linneo en 1753, mientras que Miller (1768) en su libro “The Gardener’s Dictionary” utilizó el nombre *Lycopersicon esculentum* (OECD, 2017; Valdés y Gray, 1998). Durante mucho tiempo, el nombre binomial del tomate fue *Lycopersicon esculentum*, pero investigaciones recientes han demostrado que es parte del género *Solanum* y ahora se le conoce de nuevo en general como *Solanum lycopersicum* (Knapp, 2002; Knapp y Peralta, 2016; Peralta *et al.*, 2008; Spooner *et al.*, 2005, 2003;).

El género *Solanum* consta de aproximadamente 1 500 especies. El clado de tomate (sección *Lycopersicon*, anteriormente reconocido como el género *Lycopersicon*) incluye al tomate cultivado (*Solanum lycopersicum*) y 12 parientes silvestres, todos nativos del oeste de Sudamérica. El tomate se deriva de dos especies ancestrales silvestres, *Solanum pimpinellifolium* y *Solanum cerasiforme*. Otras especies silvestres son útiles para el fitomejoramiento para la obtención de resistencia a enfermedades, mejoramiento del color y los rasgos de calidad deseables (Ranc *et al.*, 2008). Las investigaciones recientes indican que, las tres especies silvestres más estrechamente relacionadas con el tomate cultivado incluyen las

especies de frutos rojos *S. pimpinellifolium* y las especies de frutos anaranjados que se encuentran en las Islas Galápagos, *S. galapagense* y *S. cheesmaniae* (Menda *et al.*, 2013).

El tomate se originó en la región andina que es hoy en día Chile, Bolivia, Ecuador, Colombia y Perú; sin embargo, el sitio original de domesticación no está claro. Se han expresado dos hipótesis para el sitio original de domesticación del tomate: una estipula Perú y la otra México. Sin embargo, se presume que México es probablemente el sitio de domesticación y que Perú es el centro de la diversidad (Larry y Joanne, 2007).

El tomate es una planta herbácea perenne, pero a menudo se cultiva como un cultivo anual, incluso si existen formas bienales y perennes. El tomate se cultiva en climas tropicales y templados en campo abierto o bajo invernadero en clima templado. Los invernaderos se utilizan a menudo para la producción a gran escala. En climas cálidos con la intensidad de luz adecuada para el crecimiento, son necesarios alrededor de 45 días desde la germinación hasta la antesis y 90-100 días para alcanzar el comienzo de la madurez del fruto. El uso final del cultivo, ya sea para el mercado de procesamiento o mercado fresco, determinará los cultivares sembrados, el momento de la cosecha y los procesos de cosecha, que pueden ser manuales o mecánicos (Nuez, 2001).

El hábito de crecimiento de la planta varía de indeterminado a determinado y puede alcanzar hasta 3 metros de altura. La raíz primaria puede crecer varios metros de longitud. El tallo es angular y está cubierto por tricomas vellosos y glandulares que confieren un olor característico. Las hojas están dispuestas alternativamente en el tallo con una filotaxia de 137.5°. Las hojas varían en forma de lobuladas a compuestas, con segmentos dispuestos pinnadamente. Las hojas compuestas tienen típicamente de cinco a nueve folíolos. Los folíolos son peciolados y dentados. Todas las hojas están cubiertas por tricomas glandulares y vellosos (OECD, 2017).

El fruto del tomate es globular u ovoide. Botánicamente, la fruta exhibe todas las características comunes de las bayas; una simple fruta carnosa que encierra su semilla en la pulpa. La piel externa es un tejido delgado y carnoso que comprende el resto de la pared de la fruta y la placenta. El color de la fruta se deriva de las células dentro del tejido carnoso. Los frutos de

tomate pueden ser biloculares o multiloculares. Entre 50 y 200 semillas se encuentran dentro de las cavidades loculares y están encerradas en membranas gelatinosas. En promedio, las semillas son pequeñas ( $5 \times 4 \times 2$  mm) y tienen forma de lentejas. La semilla contiene el embrión y el endospermo y está cubierta por una capa de semilla fuerte, llamada testa. El desarrollo del fruto lleva de siete a nueve semanas después de la fertilización (OECD, 2008).

### **3.1.2. Producción e importancia nutricional**

Los tomates están dentro del grupo de hortalizas más consumidas en todo el mundo. El tomate se cultiva en todo el mundo para uso local o como cultivo de exportación. En 2017 se cultivaron más de 182 millones de toneladas de tomates en todo el mundo. Esto significó que la producción fue casi un 30% más alta que diez años antes. Esta producción se ha obtenido de un área de aproximadamente 5 millones de hectáreas. En promedio, se cosechan 3.7 kilos por metro cuadrado de esa superficie. Los mayores productores son China e India, aunque el rendimiento en India es bajo y se sitúa por debajo de 2.5 kg por metro cuadrado. Esto contrasta fuertemente con los rendimientos que los productores logran en los Estados Unidos ( $9.03 \text{ kg m}^{-2}$ ), España ( $8.62 \text{ kg m}^{-2}$ ) y Marruecos ( $8.08 \text{ kg m}^{-2}$ ). El rendimiento holandés se destaca por encima del resto del mundo, con un promedio de  $50.7 \text{ kg m}^{-2}$ . En el año 2017, Nicaragua se situó en el puesto número 83 entre los países productores de tomate, cuando se obtuvo una producción de 71 577 toneladas (FAOSTAT, 2018).

El tomate se utiliza para el consumo fresco en ensaladas o se procesa en varias formas, como pasta, puré y jugos; es una fuente rica de vitaminas (A y C), minerales (hierro, fósforo), licopeno, betacaroteno, gran cantidad de agua y pocas calorías. Por ejemplo, un tomate de tamaño mediano puede proporcionar aproximadamente el 28% de la ingesta diaria de referencia (IDR) de vitamina C, el 15% de vitamina A, el 8% de potasio y el 7% de la ingesta diaria recomendada (IDR) de hierro para las mujeres y el 10% de la IDR para los hombres. Los tomates, que en realidad son una fruta y no una verdura, están cargados de todo tipo de beneficios para la salud del cuerpo. Uno de los beneficios más conocidos de comer tomate es su contenido de licopeno. El licopeno es un antioxidante vital que ayuda en la lucha contra la formación de células cancerosas, así como otros tipos de complicaciones de salud y enfermedades. Los radicales

libres en el cuerpo pueden eliminarse con altos niveles de licopeno, y el tomate está cargado de este vital antioxidante. Entre más intenso es el color rojo del fruto de tomate, mayor es el contenido de licopeno (Bhowmik *et al.*, 2012).

### **3.2. El cultivo de berenjena (*Solanum melongena*)**

En esta sección se describen aspectos botánicos, taxonómicos, centro de origen y distribución, prácticas agronómicas del cultivo de berenjena.

#### **3.2.1. Descripción del cultivo de berenjena**

La berenjena (*Solanum melongena*) pertenece a la familia Solanácea, es una planta erecta y herbácea, aunque sus tallos presentan tejidos lignificados que le dan un aspecto arbustivo y anual que crece hasta una altura de 60 a 120 centímetros, presenta un sistema radicular muy potente y profundo. Las hojas son de largo pecíolo, entera, grande, con nerviaciones que presentan espinas y envés cubierto de una vellosidad grisácea y están insertas de forma alterna en el tallo. La flor presenta un número de pétalos, sépalos y estambres que oscila entre 6 y 9. El fruto es una baya alargada o globosa, de color negro, morado, blanco, blanco jaspeado de morado o verde. Presenta pequeñas semillas de color amarillo con un poder germinativo que oscila entre 4 y 6 años (INFOAGRO, 2017).

### **3.3. El patógeno *Ralstonia solanacearum***

El complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* se encuentra entre las bacterias patógenas de plantas más destructivas para los cultivos (Mansfield *et al.*, 2012), lo que genera pérdidas económicas significativas para los productores de todo el mundo y tiene consecuencias dramáticas para la producción sostenible y seguridad alimentaria (Ravelomanantsoa *et al.*, 2018). Este complejo de especies causa el marchitamiento vascular en casi 200 especies de plantas y se encuentra como una infección latente en un rango inusualmente amplio de 450 especies de plantas en aproximadamente 54 familias botánicas, incluidos cultivos alimenticios y de alto valor económico como papa, tomate, tabaco, jengibre y plátano, así como también diversos cultivos hortícolas y plantas ornamentales (Mansfield *et al.*, 2012).

El complejo *Ralstonia* comprende tres especies (Safni *et al.*, 2014) y se clasifica en cuatro linajes principales según su origen geográfico inicial (Prior y Fegan, 2005): *Ralstonia pseudosolanacearum* incluye el filotipo I de Asia y el filotipo III de África, *R. solanacearum* incluye el filotipo II con subdivisiones IIA y IIB de las Américas, y *Ralstonia syzygii* contiene el filotipo IV de Indonesia y probablemente Japón, Filipinas, Corea y Australia (Poussier *et al.*, 2000; Villa *et al.*, 2005; Jeong *et al.*, 2007).

Los filotipos se subdividen a su vez en secuevares, cada uno de las cuales comprende una gran diversidad fenotípica. Las cepas del complejo *Ralstonia* tienen la capacidad de sobrevivir en nichos heterogéneos y plantas asintomáticas (Ravelomanantsoa *et al.*, 2018; Wicker *et al.*, 2012). Por lo tanto, además de la versatilidad y diversidad de estas cepas, la limitada resistencia de hospedante dificulta el manejo de este complejo. Actualmente, no existen prácticas de manejo efectivas contra esta bacteria. Por lo tanto, debido a su impacto social y económico, el complejo *Ralstonia* ha sido ampliamente investigado para comprender aspectos de su biología y diseñar estrategias óptimas y duraderas de manejo de este destructivo patógeno de plantas (Mansfield *et al.*, 2012).

### **3.3.1. Síntomas**

La bacteria *R. solanacearum* infecta las plantas a través de heridas en la raíz o en sitios de emergencia de raíces secundarias, luego coloniza los vasos del xilema y se propaga rápidamente a las partes aéreas de la planta a través del sistema vascular. En los vasos del xilema, la población bacteriana puede multiplicarse ampliamente y alcanzar rápidamente niveles muy altos ( $>10^{10}$  células  $\text{cm}^{-1}$  de tallo en tomate). Los síntomas típicos de la enfermedad incluyen el pardeamiento del xilema, clorosis, retraso en el crecimiento, marchitez y las plantas infectadas generalmente mueren rápidamente (Peeters *et al.*, 2013).

Las hojas más jóvenes son las primeras en verse afectadas y tienen una apariencia flácida, generalmente en el momento más cálido del día. El marchitamiento de toda la planta puede ocurrir rápidamente si las condiciones ambientales son favorables para el patógeno. En condiciones menos favorables, la enfermedad se desarrolla con menos rapidez, puede ocurrir

retraso del crecimiento y se producen grandes cantidades de raíces adventicias en el tallo. Los tejidos vasculares del tallo muestran una decoloración marrón y, si el tallo se corta en forma transversal, pueden verse gotas de exudado bacteriano blanco o amarillento (EPPO, 2018).

Hasta la fecha, se han encontrado muchos factores que contribuyen a la virulencia de *R. solanacearum*, entre los cuales sobresalen el polisacárido extracelular I (PE-I) y el sistema de secreción tipo III (SST-III). Se ha sugerido que el PE-I causa directamente marchitez al bloquear físicamente el sistema vascular y de ese modo altera el movimiento del agua. También se ha planteado la hipótesis de que el PE-I protege a *R. solanacearum* de las defensas antimicrobianas de las plantas al encubrir las características de la superficie bacteriana que podrían ser reconocidas por el hospedante (Meng, 2013; Milling *et al.*, 2011).

El sistema de secreción tipo III (SST-III) tiene un papel central en la patogénesis de muchas bacterias patógenas de plantas y animales. En *R. solanacearum*, el SST-III está codificado por el grupo de genes *hrp*, que abarca una región de 23 kb en el mega plásmido (Cornelis y Gijsegem, 2000). Al igual que en otros grupos principales de bacterias Gram negativas, los genes *hrp* de *R. solanacearum* son determinantes claves para el desarrollo de la enfermedad en hospedantes compatibles y para la inducción de la respuesta de hipersensibilidad (RH) en plantas resistentes. Se estima que *R. solanacearum* produce 70-80 efectores tipo III (Genin y Boucher, 2004). Otros factores de virulencia importantes en *R. solanacearum* son las enzimas que degradan la pared celular (EDPC) y el sistema de secreción tipo II (SST-II). El patógeno *R. solanacearum* secreta varias EDPC, incluidas tres poligalacturonasas (PehA, PehB y PehC), una endoglucanasa (Egl), una pectina metilesterasa (Pme) y una celobiohidrolasa (CbhA). El análisis de disrupción génica reveló que Egl, PehA, PehB y CbhA, cada una de ellas contribuye a la capacidad del patógeno para causar marchitez (Liu *et al.*, 2005).

### **3.3.2. Epidemiología de *R. solanacearum***

La bacteria se mueve a las raíces de la planta hospedante, se adhiere a la epidermis, infecta la corteza y coloniza el xilema, lo que produce la marchitez del hospedante. La entrada de la bacteria a la planta es favorecida por el ataque primario de nematodos noduladores del género

*Meloidogyne* spp. La penetración al interior de los tejidos de la planta ocurre también a través de heridas producidas por el desarrollo de raíces secundarias, heridas producidas por insectos y prácticas culturales. Después de la muerte de la planta, la bacteria es liberada al medio ambiente, donde parece sobrevivir en las plantas hospedantes alternas (malezas), en el suelo y/o el agua, a través de diversas estrategias, como el estado de formas viables, pero no cultivables (FVPNC), la respuesta de supervivencia al hambre, el proceso de conversión fenotípica (CF) o formación de biopelículas, hasta el contacto con un nuevo hospedante (EPPO, 2018).

Las fuentes de inóculo y de dispersión de la bacteria son material vegetal infectado (semillas, plántulas, tubérculos, etc.); residuos infectados; hospedantes alternos y malezas; suelo infestado, agua de riego, equipos, etc.; partes de la planta (por ejemplo, tubérculos) sin síntomas visibles. Como un patógeno nativo de suelo, *R. solanacearum* puede sobrevivir en varios tipos de suelos en todo el mundo. Tiene la capacidad de cambiar de estado virulento a avirulento, mediante un proceso denominado "conversión fenotípica" (CF) que ocurre por la producción reducida de proteínas y polisacáridos extracelulares. Este fenómeno permite que la bacteria resista condiciones adversas y permanezca viable durante períodos muy largos como 2 a 10 años (Poussier *et al.*, 2003).

Con respecto a la temperatura de crecimiento, las cepas de *R. solanacearum* de áreas tropicales tienen una temperatura óptima de 35°C, mientras que la de cepas que se encuentran en altitudes más altas en los trópicos y en áreas subtropicales y templadas es más baja (27°C); no se ha observado crecimiento a 40°C o 4°C. Los valores aproximados mínimos y máximos de temperatura de crecimiento son 8°C-10°C y 37°C-39°C respectivamente. Con respecto a los requisitos de pH, en general, el crecimiento de *R. solanacearum* se inhibe en medios ácidos, pero se favorece en condiciones alcalinas. El patógeno *R. solanacearum* puede crecer en medios líquidos con NaCl al 1% pero poco o nada en NaCl al 2% (EPPO, 2018).

### 3.3.3. Manejo de *Ralstonia solanacearum*

Las estrategias de supervivencia del patógeno han creado dificultades y limitaciones en los planes de manejo a través de medidas preventivas, métodos culturales, método químico y métodos biológicos. Las medidas preventivas tales como la cuarentena, prácticas fitosanitarias, uso de semilla certificada libre de la enfermedad, desinfección de equipos y herramientas, uso controlado del riego por inundación y evitar el riego por aspersión, entre otras medidas, han tenido éxito solamente donde el patógeno no está presente, ya que de lo contrario no son aplicables en lugares infectados (Karim y Hossain, 2018).

El uso de variedades resistentes es el método más efectivo y práctico para controlar la marchitez bacteriana (Grimault *et al.*, 1994). Sin embargo, por un lado, su aplicación ha sido limitada debido a que el patógeno puede sobrevivir en el suelo durante mucho tiempo, puede sobrevivir en una amplia gama de malezas y cultivos voluntarios (Fajinmi y Fajinmi 2010). Por otro lado, la complejidad de la interacción hospedante-patógeno-ambiente hace que el mejoramiento de la resistencia sea extremadamente difícil, ya que *R. solanacearum* es un "complejo de especies heterogéneas" con un amplio rango de hospedantes; alta variabilidad en sus propiedades bioquímicas, reacciones serológicas, proteínas de membrana y conversión fenotípica (Karim y Hossain, 2018).

Se han utilizado plaguicidas como algicidas, fumigantes (metam sodio, 1,3-dicloropropeno y cloropicrina) y activadores de resistencia que generan resistencia sistémica en tomate (validamicina A y validoxilamina) para controlar la marchitez bacteriana. Algunos reportes de investigación señalan que la combinación de bromuro de metilo, 1,3 dicloropropeno o metam sodio con cloropicrina redujo significativamente la marchitez bacteriana en el campo del 72% al 100% y aumentó el rendimiento de tabaco y tomate. El rendimiento en tomate tratado con plaguicidas fue de 1.7 a 2.5 veces mayor que el del control no tratado (Santos *et al.*, 2006). Sin embargo, aunque los plaguicidas ofrecen mayores beneficios netos que otros métodos de control, esto no siempre ha sido el caso. Por ejemplo, si los agricultores usan los plaguicidas de forma indiscriminada o sin el conocimiento adecuado, los plaguicidas pueden convertirse en

contaminantes para el medio ambiente, el suelo, el agua subterránea y ser venenosos para los agricultores (Edwards-Jones, 2008).

En otras investigaciones también se ha demostrado que el uso de diferentes enmiendas orgánicas ha proporcionado un manejo eficiente de la marchitez bacteriana en el cultivo de tomate. Por ejemplo, Youssef y Tartoura (2013) han señalado recientemente que la resistencia de las plantas contra el patógeno de la marchitez bacteriana se mejoró a través del aumento de las actividades de las enzimas ascorbato peroxidasa, monodehidroascorbato reductasa, deshidroascorbato reductasa y glutatión reductasa después de la aplicación de compost.

En los últimos años, muchos estudios han investigado el uso de microorganismos benéficos como agentes de control biológico (ACB) para enfermedades de plantas. Las bacterias antagonistas son los microorganismos más comúnmente estudiados con el propósito de controlar la marchitez bacteriana. La mayoría de las investigaciones se han centrado en cepas avirulentas de *R. solanacearum*, *Pseudomonas* spp y *Bacillus* spp., aunque también se han utilizado otras especies. Los ACB pueden suprimir la enfermedad a través de múltiples mecanismos que incluyen la competencia, la producción de enzimas que degradan la pared celular, antibióticos o sideróforos, y la inducción de resistencia sistémica. Una estrategia común para identificar posibles ACB es aislarlos de la rizosfera de plantas sanas (Kurabachew y Wydra, 2013).

También se ha encontrado que varios hongos que habitan en la rizosfera inducen resistencia contra la marchitez bacteriana del tomate. Muchos estudios se han centrado en los hongos micorrícicos, que desarrollan una relación simbiótica con las raíces de las plantas y también se ha demostrado en algunos casos que inducen resistencia sistémica contra las enfermedades de las plantas. Un estudio preliminar descubrió que la colonización por *Glomus versiformae* inducía la producción de fenol en las raíces de tomate y las protegía contra la infección por *R. solanacearum* (Zhu y Yao, 2004). Una investigación más reciente caracterizó tres hongos endomicorrícicos diferentes por sus capacidades como agentes de control biológico y se descubrió que la supresión de la enfermedad de la marchitez bacteriana variaba entre las especies de hongos (Kim *et al.*, 2016; Tahat *et al.*, 2012).

El injerto es una estrategia importante en el manejo integrado de plagas para patógenos de suelo. En algunas investigaciones se ha reportado el manejo de enfermedades mediante injerto para patógenos fúngicos (*Verticillium*, *Fusarium*, *Pyrenochaeta* y *Monosporascus*), oomicetos (*Phytophthora*), bacterias fitopatógenas (particularmente *Ralstonia*), nematodos noduladores (*Meloidogyne* spp) y varios virus transmitidos por el suelo (Louws *et al.*, 2010).

Al empalmar las plantas de dos cultivares diferentes, el injerto permite al productor aprovechar los beneficios de ambos cultivares en una sola planta. Si bien el injerto se ha utilizado ampliamente en la agricultura durante siglos, principalmente en plantas leñosas, su aplicación a plantas no leñosas como tomate es más reciente (Kubota *et al.*, 2008). En Europa y Asia, el cultivo de tomate injertado representa actualmente una proporción sustancial de la producción total de ese cultivo. Por ejemplo, España utiliza aproximadamente de 50 a 70 millones de plantas injertadas por año, lo que representa aproximadamente el 40% de la producción de tomate del país (Grieneisen *et al.*, 2018).

Los tomates injertados generalmente consisten en un cultivar tradicional como vástago o yema (la parte superior de la planta que produce la fruta) y un portainjerto que puede ser resistente a uno o más patógenos transmitidos por el suelo y/o "vigoroso", lo que significa que el follaje y los frutos crecen a una tasa superior de lo normal (Oztekin *et al.* 2009). La cualidad de vigoroso y resistente pueden existir en un solo portainjerto, o un portainjerto en particular puede tener una característica u otra. A menudo se informa que la calidad "vigorosa" muestra el mayor beneficio en condiciones de cultivo sub óptimas (Albacete *et al.*, 2015). Los vástagos de tomate también pueden injertarse con éxito en portainjertos de otras especies, incluido tabaco, berenjena, papa o varias especies silvestres de *Solanum* (Grieneisen *et al.*, 2018).

Uno de los principales beneficios del uso de la técnica de injerto en tomate radica en la resistencia que presentan la mayoría de los portainjertos disponibles comercialmente a múltiples patógenos, y el potencial de esa resistencia para reducir el costo y los impactos ambientales asociados con el uso de fumigantes en el cultivo de tomate. En algunos casos, el uso de portainjertos resistentes a patógenos ha producido aumentos de rendimiento comparables a los tratamientos de fumigación en sistemas experimentales infestados por patógenos (Gilardi *et al.*,

2013; Kokalis-Burelle *et al.*, 2016). Otros estudios que no incluyeron tratamientos de fumigación han reportado altos rendimientos en campos infestados de patógenos mediante el uso de tomates injertados con portainjertos resistentes a los patógenos involucrados (López-Pérez *et al.*, 2006; McAvoy *et al.*, 2012; Rivard *et al.*, 2012).

Es importante destacar que los términos *resistencia* y *tolerancia* frecuentemente se usan indistintamente en las interacciones hospedante-patógeno, sin embargo, son dos términos diferentes que es conveniente aclarar. La *resistencia* a las enfermedades se refiere a la capacidad de la planta hospedante para controlar la severidad de la infección cuando las condiciones ambientales favorecen al patógeno. En contraste, la *tolerancia* a la enfermedad se describe como la modificación de la biomasa o rendimiento de la planta hospedante después de la infección de un patógeno. Los rasgos de resistencia reducen el daño causado por la enfermedad al prevenir la infección o al limitar el crecimiento y desarrollo posterior del patógeno dentro del hospedante evitando o eliminando la infección. Los rasgos de tolerancia no inhiben la infección, sino que reducen o compensan sus consecuencias negativas de competencia (Horns y Hood, 2012; Veresoglou *et al.*, 2013).

El uso del injerto como un medio para controlar la marchitez bacteriana (*R. solanacearum*) está establecido desde hace mucho tiempo. En estudios realizados en Brunei por Peregrine y Ahmad (1982) demostraron un control efectivo de la enfermedad con la variedad de tomate Roma injertada en portainjertos de *Solanum torvum*. Treinta años después, Cardoso *et al.*, (2012), probaron Hawaii 7996 como portainjerto con tres variedades como vástagos, Santa Clara, Santa Cruz Kada y Debora, en campos infestados de marchitez bacteriana en Bahía, Brasil. El portainjerto Hawaii 7996 tuvo buena compatibilidad con los vástagos seleccionados. Las plantas injertadas mostraron resistencia efectiva, pero todos los controles no injertados resultaron severamente afectados por la enfermedad.

En Taiwán, Lin *et al.*, (1998) evaluaron dos cultivares de tomate locales populares, uno de los cuales era susceptible y el otro moderadamente resistente a la marchitez bacteriana, injertados en 12 portainjertos resistentes a la marchitez bacteriana (seis de tomate y seis de berenjena) en condiciones de invernadero y campo. Una accesión de berenjena y otra accesión de tomate

(Hawaii 1996) fueron los portainjertos más estables entre los 12 probados con una incidencia final de marchitez bacteriana que osciló entre 0% y 3% y 0% a 23%, respectivamente, en comparación con incidencia registrada en los otros portainjertos susceptibles.

Palada y Wu (2007) reportan el éxito del uso de portainjertos de berenjena para el control de la marchitez bacteriana en tomate cuando se cultivó en varios países del sudeste asiático bajo una combinación de altas temperaturas y fuertes condiciones de lluvia. En tales situaciones, muchas de las líneas de tomate no injertadas no lograron sobrevivir para producir frutos, y por lo tanto el injerto fue de gran beneficio en términos de rendimiento y rentabilidad.

La tecnología de injerto se ha convertido en un componente único en la producción de plantas de las Familias Solanaceae y Cucurbitaceae tanto para el manejo de plagas como para mejorar la productividad de estos cultivos. La disponibilidad inmediata de portainjertos resistentes a enfermedades y el desarrollo de técnicas de injerto altamente eficientes han llevado a una expansión en el uso de plantas injertadas en todo el mundo. Sin embargo, todavía hace falta investigación a profundidad sobre las interacciones portainjerto-vástago y la señalización a larga distancia en relación con la resistencia mejorada en plantas injertadas. Además de la resistencia a enfermedades transmitidas por patógenos de suelo (hongos, bacterias y oomycetes) y nematodos, se requiere de más investigación con respecto a la resistencia a enfermedades foliares y virales en plantas injertadas (Guan y Zhao, 2012).

### **3.4. Injertación**

La injertación es una técnica utilizada para unir dos o más plantas para que crezca como una. El injerto consta de dos partes: la púa (parte superior) y el patrón (proporciona el sistema radicular) (Bilderback *et al.* 2014) citado por (Espinoza, 2015).

La técnica de injerto permite cultivar especies susceptibles a ciertos patógenos sobre suelos infectados; utilizando como base o patrón el sistema radicular de variedades tolerante a patógenos y como parte de desarrollo aéreo se utiliza la variedad susceptible (Villasana Rojas, 2010).

### 3.4.1. Importancia de los injertos

En los cultivos hortícolas, los materiales injertos tienen mucha importancia en el manejo fitosanitario ya que puedes reducir las afectaciones de enfermedades vasculares causadas por hongos y bacterias que está disponible en el suelo. La variedad sensible a cultivar se injerta sobre una planta resistente a la enfermedad que se desea prevenir, así el porta injerto resiste y permanece sano, asegurando el suministro nutrimental a la variedad sensible.

En países desarrollados como Japón, Corea y Estados Unidos, el injerto se ha popularizado en tomate para invernaderos para aumentar la productividad del mismo y prevenir muchas enfermedades, siendo una práctica muy común en sistemas de producción en tomates indeterminados (Kubota 2006) citado por (Espinoza, 2015). En la producción actual, la injertación de yemas de tomate en patrones tolerante ha sido la clave para el manejo de dos enfermedades:

- a. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* FOL), en una de las enfermedades que ocasiona grandes pérdidas en plantaciones comerciales de solanáceas. Los síntomas iniciales que causa este hongo son el amarillamiento de las hojas inferiores y el aspecto decaído de los pecíolos, especialmente en las horas centrales del día. Al principio, los síntomas pueden presentarse sectorialmente en la planta, pudiendo aparecer ramas afectadas mientras otras no muestran ningún síntoma (López Marín, 2016).
- b. *Ralstonia solanacearum* agente causal de la marchitez bacteria en tomate es otra enfermedad del cultivo que en los últimos años ocasionando pérdidas, es una bacteria compleja y está constituida como un patógeno de cuarentena en la Unión Europea por la gravedad de los daños que se reproduce en distintas especies de solanáceas. Los síntomas de esta enfermedad suelen iniciarse con un aspecto marchito o flácido de las hojas superiores de la planta, que suele avanzar con rapidez hasta la marchitez total (Blancard, 1996) citado por (Villasana Rojas, 2010).

### 3.4.2. Proceso del injerto

Para que el injerto entre dos plantas tenga éxito, estas deben ser compatibles o afines, aunque sean de diferente especie, además, debe haber una coincidencia de los tejidos próximos a la capa del cambium que produce un borde, producto de la cicatrización llamado callo (Bekhradi *et al.*, 2009) citado por (Villasana Rojas, 2010).

El desarrollo de un injerto compatible comprende tres procesos: cohesión del porta injerto y la variedad; proliferación del callo en la unión y diferenciación vascular entre ambas partes.

No existe una regla para predecir el resultado de un injerto, aunque en términos generales cuanto más afinidad botánica haya entre las plantas, más probabilidades de éxito en el injerto. Existen desde especies que tienen una relación estrecha y se unen con facilidad, hasta otras no relacionadas entre sí, incapaces de unirse, hay una cicatrización intermedia entre plantas que forman una soldadura, pero con el tiempo muestran deficiencias en la unión o en su hábito de crecimiento (Villasana Rojas, 2010).

### 3.4.3. Factores ambientales que influyen en el proceso de injertación

**Temperatura:** influye poderosamente en la división celular, por lo tanto, en la formación de tejido de callo y la diferenciación de nuevos haces vasculares. Con temperaturas muy bajas o muy altas los procesos se aletargan o paralizan, la temperatura óptima durante la injertación es entre 25°C-28°C.

**Humedad relativa:** los tejidos cortados para la unión del injerto, deben mantenerse bajo condiciones de humedad relativa elevada, pues en caso contrario, las probabilidades de una buena unión entre las partes son reducidas. Las partes expuestas a baja humedad relativa complica el proceso de unión. La humedad relativa óptima para el proceso de injertación oscila entre el 80% y 90% (Villasana Rojas, 2010).

### **3.4.4. Infraestructura básica para la injertación**

**Área de corte:** En este local se han de mantener condiciones climáticas óptimas, tanto para el personal que realiza el trabajo como para las plantas a injertar. Sobre las mesas se colocan las distintas plantas, tanto del patrón como de la variedad a injertar. Es imprescindible que haya suficiente luz para facilitar la visión de los injertadores, al ser un trabajo de gran precisión, pero nunca insolación directa (Gómez Zavala, 2010).

**Túnel de prendimiento:** Los túneles de prendimiento o mesas de cultivo, son las estructuras construidas dentro del túnel a 50-70 cm del suelo, donde se colocan las bandejas, recién injertadas. La cubierta es una lámina de plástico fino que se cierra herméticamente y que conserva en su interior una elevada humedad relativa (Gómez Zavala, 2010).

**La zona de aclimatación:** Es la zona del semillero donde tiene lugar la adaptación de las plántulas, después de sacarlas del período de estancia en túnel o cámara de prendimiento, siendo el paso intermedio, adecuando los injertos al microclima del cultivo definitivo (De la Torre y De Miguel, 2007) citado por (Villasana Rojas, 2010).

### **3.4.5. Materiales de tomates usados comúnmente en Nicaragua**

**Tomate Pony express:** Híbrido muy precoz de cosecha abundante y muy concentrada, adaptado a diferentes áreas de siembra en la región tropical. Fruto con excelente color y firmeza. Resistencia: Fusarium sp. raza F1, F2 y resistencia intermedia a raza F3, algunos nemátodos, mancha bacteriana, ToMV, Verticilium (Hortalizas.com, 2017).

**Tomate Shanty:** Variedad extremadamente productiva, frutos grandes de mucha firmeza. Planta fuerte y productiva, adaptable a diferentes fechas de siembra con capacidad para tolerar condiciones climáticas extremas. Variedad para campo abierto. Resistente a: HR: vd, fol (race 1,2), Pst. IR: TYLCV, TSWV, SI. (Hazera, 2017).

**Tomate INTA Valle Sébaco:** La liberación de esta nueva variedad de semilla de tomate se realizó el Centro de Desarrollo Tecnológico del Valle de Sébaco del INTA. Tiene una polinización libre, comienza a florecer a los 27 días después de haber sido trasplantada y comienza la cosecha a los 70 días después del trasplante. Se caracteriza por presentar buena tolerancia a germinivirus transmitido por mosca blanca. (Mendoza, 2008).

**Berenjena variedad belleza negra:** Es una planta de altura media y semiprecoz. Frutos muy desarrollados, de tipo oval abultado y de color morado oscuro, mide de 0,7-1,0 metros de altura con varias ramificaciones erectas de altura, con varias ramificaciones erectas. (<https://huertoescolarecologico.wordpress.com>, 2016). La berenjena es compatible con varias especies de su misma familia (berenjena, tomate, *Solanum torvum*) algunas de ellas con resistencia suficiente a algunos patógenos de suelo (Alfredo Miguel, Marsal, & Goto, 2009).

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Ubicación de la zona de estudio**

El presente estudio se realizó en dos sitios: el primer sitio se ubicó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria, donde se realizó la identificación de la bacteria patógena *Ralstonia solanacearum* que fue utilizada en el estudio para las inoculaciones artificiales.

El segundo sitio se ubicó en una casa malla del Campus Agropecuario de la UNAN León, 1.5 kilómetro carretera a la Ceiba, en el departamento de León. En estas instalaciones se realizó la selección y evaluación de los patrones tolerantes a marchitez bacteriana y se encuentra entre las coordenadas 12°25'22" de latitud norte y 86°53'12" de longitud oeste (Anexo 2) a una altura de 90 msnm, con un clima que se caracteriza por ser tropical de sabana con pronunciada estación seca entre los meses de noviembre a abril y una estación lluviosa entre los meses de mayo a octubre, con temperaturas promedio de 28.40°C a 30.8°C, observándose la más elevadas en los meses de marzo y abril y la más baja en los meses de diciembre a enero. En cuanto la humedad relativa se reporta en promedio 72.74 % registrada en los meses de mayor precipitación (Barcenás *et al.*, 2017).

### **4.2. Diseño metodológico**

La investigación se desarrolló en varias etapas y en cada una de estas etapas se ejecutó un diseño metodológico diferente, que a continuación se describe:

#### **4.2.1. Recolección de muestras e identificación de *Ralstonia solanacearum***

Esta etapa se dividió en dos fases, que consiste en:

##### **a) Recolección de muestras**

Las muestras fueron recolectadas en parcelas del municipio de la Concordia, departamento de Jinotega (Anexo 1), en el periodo de mayo del 2016. Se seleccionaron plantas de tomate y

chiltoma que presentaban los síntomas típicos de la enfermedad. Los síntomas externos que se tomaron en cuenta fueron marchitez, retraso del crecimiento y coloración amarillenta del follaje. Otros síntomas externos observados fueron hojas dobladas hacia abajo que mostraban epinastia, raíces adventicias que crecían en los tallos y rayas oscuras estrechas que correspondían a los haces vasculares infectados debajo de la epidermis. Los síntomas internos considerados fueron decoloración del tejido vascular, principalmente el xilema y partes de la médula y la corteza (Furusawa *et al.*, 2019).

Se realizó en campo la prueba de flujo (prueba rápida); para esto se utilizó un recipiente transparente y agua normal, luego se colocó un trozo de tallo dentro del recipiente con agua para observar el flujo bacteriano del tallo, lo que preliminarmente indicaba la presencia de la bacteria en los tejidos (Melgar *et al.*, 2012).

#### **b) Aislamiento de *Ralstonia solanacearum***

En laboratorio las muestras que presentaron flujo bacteriano se lavaron bien con agua, se cortaron en fragmentos pequeños de 0.5 a 1 cm aproximadamente, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% por tres minutos y se lavaron posteriormente con agua destilada y se dejaron secar por 30 minutos en papel toalla (Ríos-Morales, 2007). Los trozos de tejidos desinfectados se colocaron en agar nutritivo y se incubaron por 48 horas.

Para aislar la bacteria se utilizó inicialmente un medio de crecimiento de agar sacarosa-peptona (ASP) y se seleccionaron las colonias bacterianas que presentaban las características de *Ralstonia solanacearum* (colonias de superficie lisa, elevación convexa, color blanco cremoso y bordes irregulares), luego se colocaron en el medio cloruro de tetrazolium (TZC) de Kelman (1954) para la identificación mediante las características (colonias de coloración blanco-cremosa con el centro rosado y bordes irregulares) y el tiempo de crecimiento (visibles a partir de las 48 horas de incubación, completándose su desarrollo máximo a las 72 horas) (Ríos-Morales, 2007).

### c) Identificación de la cepa de *Ralstonia solanacearum*

A las colonias de *Ralstonia solanacearum* que crecieron en el medio TZC se les realizó pruebas para determinar las características culturales, morfológicas y fisiológicas utilizando la metodología de Klement *et al.*, (1990). Se realizaron las siguientes pruebas:

- **Prueba de KOH:** La prueba consistió en colocar tres gotas de KOH al 3% sobre un portaobjeto limpio y con un asa desinfectada se tomó una colonia de la bacteria, la cual se mezcló con el KOH, para verificar si se formaba un hilo mucoso (Gram negativa) o no se formaba el hilo (Gram positiva).
- **Prueba de catalasa:** en un portaobjetos se colocó con ayuda del asa parte del cultivo bacteriano luego se le agregó una gota de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada). La efervescencia causada por la liberación del oxígeno libre en forma de gas, indica la presencia de catalasa en el cultivo en estudio.
- **Caracterización bioquímica de las cepas de *Ralstonia solanacearum*:** Se utilizaron carbohidratos específicos para la caracterización de los biovares, basada en la utilización de cuatro disacáridos (Lactosa, Trehalosa, Maltosa y Celobiosa) y la oxidación de dos hexosas alcohólicas (Dulcitol y Sorbitol) (French *et al.*, 1995).

Para realizar estas pruebas bioquímicas se utilizó el caldo base Púrpura de bromocresol (DIFCO) y se alícuoto 100 ml en frascos tapa de rosca, para su posterior esterilización en el autoclave a 121°C por 15 minutos, posteriormente se enfrió el medio y se adiciono 1 ml de solución acuosa de carbohidrato al 10% (Lactosa, Trehalosa, Maltosa y Celobiosa) y las hexosas alcohólicas (Dulcitol y Sorbitol), previamente esterilizado en filtro Millipore 0.45µm de porosidad, para obtener una concentración final al 1% en el medio.

Se utilizó tubos de ensayo de 100 ml y a cada uno se le colocó el medio base al 1% y se le agregó 0.5 ml de la solución de carbohidratos y alcoholes siguiendo los procedimientos de Lelliott y Stead (1987). Luego se procedió a inocular seis tubos con la cepa aislada de *Ralstonia*

*solanacearum*, se inocularon tubos que contenían solamente el medio base, para ser utilizado como testigo (cepas de *Ralstonia sp.* aisladas de plátano raza 1, papa raza 1 y tomate raza 1)

La cepa aislada se conservó en frascos de caldo infusión cerebro corazón (para evitar que mutaran a formas avirulentas (Sánchez Leal, 2005), para luego utilizarla en las pruebas de tolerancia de materiales de solanáceas en la fase de casa malla.

#### **4.2.2. Comportamiento de patrones a la infección de *Ralstonia solanacearum***

Esta parte de la investigación se realizó en una casa malla ubicada al Este del Centro Nacional de Referencia en Agroplasticultura (CNRA) - UNAN León, el cual cuenta con un área total de 640 m<sup>2</sup>, pero, para el estudio se asignó 151.8 m<sup>2</sup> como el área útil para el establecimiento del ensayo, con dimensiones de 11 m de largo y 13.80 m de ancho.

Para evaluar el comportamiento de los patrones con tolerancia a *R. solanacearum* se llevó a cabo una investigación cuasi experimental, donde no se controlan todos los factores que puedan influir en el ensayo ni las condiciones ambientales del mismo. Se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA) para evaluar el efecto de los tratamientos y de las diferentes unidades experimentales. Se establecieron 6 tratamientos con 4 repeticiones para un total de 24 unidades experimentales y 240 plantas como universo.

Cada unidad experimental estaba compuesta por 10 plantas, de las cuales se tomaron 3 plantas como unidad a muestrear. En total se muestreó el 45.8% del universo, la muestra se calculó mediante la fórmula para poblaciones finitas (Normas APA, 2016).

$$n = \frac{N * Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}{e^2 * (N-1) + Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}$$

Dónde,  $n$  = número de muestras;  $N$  = total de la población;  $p$  = proporción esperada (para este caso 0.5);  $q = 1-p$ ;  $Z (1-\alpha/2) = 1.96$  (constante);  $e$  = precisión (se usó un 3% o 0.03).

Los tratamientos que se evaluaron fueron plantas inoculadas y no inoculadas de las variedades de tomate INTA-L7, INTA-L5 y berenjena. Los tratamientos se codificaron de la siguiente

manera: INTA-L7i (inoculada), INTA-L5i (inoculada); Berenji (inoculada); INTA-L7s (sin inocular); INTA-L5s (sin inocular) y Berenjena (berenjs). En total se evaluaron seis tratamientos

El semillero se estableció en bandejas de polietileno de 128 celdas, con sustrato alternativo, elaborado a base de cascarilla de arroz carbonizada y lombrihumus, en proporción de 1:1, previo a la siembra se realizaron prueba de germinación de los cultivos evaluados, las bandejas se dejaron en una cámara de germinación por un lapso de tres días, cubiertas con papel humedecido. Una vez germinadas se colocaron en una casa malla con el manejo agronómico y fitosanitario adecuado. La fertilización fue foliar día de por medio, utilizando 5 gramos de la formulación NPK (12-30-10 + microelementos) y para el manejo de plagas y enfermedades se utilizó insecticidas y fungicidas de manera preventiva con los siguientes pesticidas: Imidaclopric a razón de 2 g L<sup>-1</sup> y Python 24 SC a razón de 2 ml L<sup>-1</sup>.

El trasplante se realizó a los 25 días después del establecimiento del semillero. Éste se hizo en recipientes plásticos (maceteras) de 6.5 litros de volumen, las que se llenó de suelo esterilizado previamente en un horno artesanal a temperaturas máximas de 98°C. El suelo se humedeció previo al trasplante para evitar estrés en las plántulas. Antes de poner las plántulas en el orificio se aplicó 40 ml de solución arrancadora, a base del fertilizante 18-46-0 en dosis de 0.3 libras disuelto en 10 litros de agua para la estimulación del desarrollo radicular (Fintrac, 2000).

La reproducción de las colonias de la cepa de *Ralstonia solanacearum* se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la UNAN León y para éste proceso se utilizó un medio de cultivo de agar nutritivo. El medio de cultivo se preparó para 50 platos Petri, a cada plato se le sembró inóculo puro de la cepa de *Ralstonia solanacearum* y con un aza debidamente flameada se distribuyó en todo el plato para su debido crecimiento, luego de la siembra se sellaron los platos con cinta parafilm y se dejó incubado por 48 horas.

Después de las 48 horas cada plato Petri se lavó con agua destilada de manera que se desprendiera el crecimiento bacteriano del medio de cultivo, la solución bacteriana utilizada tenía una concentración de 10<sup>8</sup> UFC (unidades formadoras de colonias). La concentración se determinó por el grado de turbidez 0.5 escala Mackfarland y se verificó mediante un

espectrofotómetro a fin de que la densidad óptica a 550-660 nm se situara en el rango de 0.7-1.0 (Hernández-Garboza y Bustamante-Rojas, 2001).

Se inocularon 120 plantas a las que se les depositó 50 ml de la suspensión bacteriana y en total se prepararon 6000 ml. La inoculación de la bacteria *Ralstonia solanacearum* se realizó cinco días después del trasplante (ddt), haciendo cortes en la base de las plantas con cuchillas desinfectadas, generando lesiones radiculares para asegurar la introducción y presencia de la bacteria en las plantas (Hernández-Garboza y Bustamante-Rojas, 2001).

En el riego se utilizó goteros localizados con capacidad de descargue de 4 litros por hora, se realizó diariamente por la mañana y por la tarde proporcionando aproximadamente entre 1-3 litros de agua en cada ciclo de riego. El riego incrementó a medida que la planta se desarrolló.

La fertilización se realizó al momento de trasplante y para ello se utilizó fertilización básica con MAP (18-46-0) en dosis de 5 gramos por macetera, a los 15 ddt se aplicó 5 gramos de Urea y 3 gramos de MAP (18-46-0) por macetera, a los 30 días se aplicó 5 gramos de urea y 5 gramos de muriato de potasio (0-0-60) y los 45 días ddt se aplicó 10 gramos de muriato de potasio (0-0-60), a partir de los 20 ddt se realizaron aplicaciones semanales de Bayfolan® y calcio boro, esta dosificación fue calculada en base a literatura (International, 2009).

#### **4.2.3. Compatibilidad de patrones tolerantes e híbridos susceptibles a *R. solanacearum***

A partir de los resultados obtenidos en la selección de portainjertos tolerantes a la marchitez bacteriana, se eligieron dos portainjertos, a los cuales se les injerto yemas de dos híbridos de tomate (Shanty y Pony express) ambos de gran importancia productiva en el país y que son susceptibles al marchitamiento por *Ralstonia solanacearum*, utilizando dos técnicas de injertación (pua y empalme). Es importante señalar que en Nicaragua no existe evidencia de estudios similares de uso de cultivares de tomate injertados, en portainjertos de la misma familia, ya que en el país la injertación está más afianzada para sistemas frutícolas y cafetaleros.

La selección de los híbridos a injertar se basó en su demanda, ya que Pony express y Shanty son los dos híbridos de tomate que más se establecen en el país por su firmeza, tamaño, tolerancia al sol, transporte y a virus transmitido por mosca blanca, son de alto rendimiento, en promedio estos híbridos producen 3000 a 4000 cajas por manzana. En revisión bibliográfica estos híbridos no reportan algún tipo de resistencia a marchitez bacteriano, pero en los campos de producción estos presentan susceptibilidad significativa a la marchitez bacteriana.

La evaluación de las dos técnicas de injertación se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Referencia en Agroplastiutura, ubicado en el Campus Agropecuario de la UNAN León, en un mini túnel de 45 m<sup>2</sup> el cual se limpió y desinfectó para realizar la investigación. La germinación y manejo del semillero de los portainjertos e híbridos evaluados fueron realizados en el vivero de hortalizas Santa Fe, ubicado a dos km de la ciudad de Estelí sobre la carretera panamericana. Las plántulas fueron entregadas a los 20 días después de germinadas, a excepción de la berenjena que se estableció 15 días antes, esto con el fin de lograr un diámetro adecuado para las yemas de los híbridos de tomates a injertar.

Todo el material fue trasladado al mini túnel ubicado en el Campus agropecuario de la UNAN-León, donde inmediatamente se trasplantaron los portainjertos en vasos de poroplast de 12 onzas y se utilizó un sustrato artesanal a base de cascarilla de arroz carbonizada y lombriabono en proporciones de 1:1. Los híbridos se mantuvieron en las bandejas de polietileno por 48 horas, con el objetivo de dar tiempo al trasplante y estabilización de los portainjertos.

Para desarrollar esta evaluación de técnicas de injertación se implementó una investigación cuasi experimental, donde no se controlan todos los factores que puedan influir en el ensayo, ni las condiciones ambientales del mismo y se analizó información cualitativa y cuantitativa. Se utilizó un diseño completo al azar (DCA) donde se evaluaron 8 tratamientos, cada tratamiento con 3 repeticiones y 9 plantas por repetición, esto sumo un total de 216 plantas como universo y se estableció en un área experimental de 3.5 m<sup>2</sup> (Figura 4). En total se muestreo el 48.5% del universo, la muestra se calculó mediante la fórmula para poblaciones finitas (Normas APA, 2016):

$$n = \frac{N * Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}{e^2 * (N-1) + Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}$$

Dónde,  $n$  = número de muestras;  $N$  = total de la población;  $p$  = proporción esperada (para este caso 0.5);  $q = 1-p$ ;  $Z (1-\alpha/2) = 1.96$  (constante);  $e$  = precisión (en este caso necesitamos un 3% o 0.03).

Los tratamientos evaluados fueron:

T<sub>1</sub>: **B+SH+ P** (Berenjena + Shanty + método de Pua)

T<sub>2</sub>: **B+SH+E** (Berenjena + Shanty + método de empalme)

T<sub>3</sub>: **B+P+P** (Berenjena + Pony express + método de Pua)

T<sub>4</sub>: **B+P+E** (Berenjena + Pony expres + método de empalme)

T<sub>5</sub>: **T+SH+P** (Tomate INTA L7 + Shanty + método de Pua)

T<sub>6</sub>: **T+SH+E** (Tomate INTA L7 + Shanty + método de empalme).

T<sub>7</sub>: **T+P+P** (Tomate INTA L7 + Pony express + método de Pua)

T<sub>8</sub>: **T+P+E** (Tomate INTA L7 + Pony express + método de empalme)

El manejo post injertación es una etapa crítica, por lo tanto, en este periodo el manejo se basó en las condiciones adecuadas de alta humedad relativa (70%-90%) y baja luminosidad (30%-40%) por un periodo de 10 días, para esto se acondicionó el mini túnel para reducir la intensidad de luz y aumentar la humedad relativa como una pequeña cámara hermética artesanal (Figura 1), esto permitió la cicatrización del injerto y gradualmente se fue aumentando la luminosidad y temperatura respectivamente para aclimatizar y crear condiciones normales de ambiente para el momento del trasplante (Villasana-Rojas, 2010).



Figura 1: Cámara artesanal post injertación.

Durante el proceso de climatización (20 días) los cultivares injertados recibieron el manejo nutricional y de enfermedades, se hicieron aplicaciones de 20-20-20 soluble para estimular el desarrollo de las plántulas, igualmente se realizaron aplicaciones de insecticidas y fungicidas de manera preventiva una vez por semana aplicando Imidacloprid a razón de 2 g L<sup>-1</sup> y de Python 24 EC a razón de 1 ml L<sup>-1</sup>.

El periodo de manejo y levantamiento de la información duro 30 días después del proceso de injertación, es importante mencionar que por razones de levantamiento de datos se dejó este tiempo los cultivares injertados en el micro túnel, pero se logró observar que a partir de los 15 después de injertadas los materiales injertados se podían trasplantar a campo definitivo.

#### **4.2.4. Evaluación de cultivares injertados en patrones tolerantes a *R. solanacearum***

La evaluación de los cultivares injertados en patrones tolerantes a *R. solanacearum* se realizó en el Campus Agropecuario de la UNAN León en el periodo de enero a marzo del 2018, el ensayo se desarrolló en la época de verano, periodo donde se reportan altas temperaturas en rangos de 30 °C a 36°C y baja humedad relativa inferiores al 35% (Barcenas *et al.*, 2017)

El propósito de esta etapa es exponer los cultivares injertados a la inoculación de la bacteria *Ralstonia solanacearum* causante de la marchitez bacteriana en tomate y determinar el comportamiento de los cultivares, para esto realizamos una investigación similar a la etapa I de campo como una investigación cuasi experimental.

Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorio (DCA), con 4 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones, para un total 12 unidades experimentales, cada unidad experimental estaba compuesta por 10 plantas las que se establecieron en maceteros, en total se utilizó una población de 120 plantas.

El estudio se realizó en casa malla ubicado al Este del Centro Nacional de Referencia en Agroplasticultura (CNRA) UNAN León, cuenta con un área total de 640 m<sup>2</sup>, el área útil para el establecimiento del ensayo consta de 180 m<sup>2</sup>, con dimensiones de 40 m de largo y 4.5 m de ancho. Los tratamientos evaluados fueron:

T<sub>1</sub>: **B+SH** (Berenjena+Shanty)

T<sub>2</sub>: **B+P** (Berenjena+Pony express)

T<sub>3</sub>: **T+SH** (Tomate INTA L7+Shanty)

T<sub>4</sub>: **T+P** (Tomate INTA L7+Pony express)

Se muestrearon 75 plantas lo que representa el 62.5% del universo, por repetición se muestrearon 6 plantas para un total de 72 unidades de medida. El número de plantas a muestrear se calculó mediante la fórmula para poblaciones finitas (Normas APA, 2016)

$$n = \frac{N * Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}{e^2 * (N - 1) + Z^2 \left(1 - \frac{\alpha}{2}\right) * pq}$$

Dónde,  $n$  = número de muestras;  $N$  = total de la población;  $p$  = proporción esperada (para este caso 0.5);  $q = 1 - p$ ;  $Z (1 - \alpha/2) = 1.96$  (constante);  $e$  = precisión (en este caso necesitamos un 3% o 0.03)

El trasplante se realizó a los 30 días después de injertadas las plantas. Las maceteras utilizadas se llenaron de suelo esterilizado previamente en un horno artesanal a temperaturas máximas de 98°C. El suelo se humedeció previo al trasplante para evitar estrés en las plántulas. Antes de poner las plántulas en el orificio se aplicó una solución arrancadora, a base del fertilizante 18-46-0 en dosis de 0.3 libras de la fórmula disuelta en 10 litros de agua para la estimulación del desarrollo radicular (Fintrac, 2000).

La reproducción de las colonias de la cepa de *Ralstonia solanacearum* se realizó en el Laboratorio de fitopatología de la UNAN León. Se buscó obtener una solución bacteriana en concentración de  $10^8$  unidades formadoras de colonias (UFC); la concentración se determinó por el grado de turbidez de la solución y en total se prepararon 6000 ml de la suspensión bacteriana. La inoculación de la cepa de *Ralstonia solanacearum* se realizó cinco días después del trasplante, haciendo cortes en la base de las plantas con cuchillas desinfectadas, generando lesiones radiculares para asegurar la introducción y presencia de la bacteria en las plantas. Por cada macetera se inocularon 50 ml de la solución bacteriana (Hernández-Garboza y Bustamante-Rojas, 2001).

### **4.3. Variables evaluadas en etapa de campo**

Las variables evaluadas se separaron en base a las etapas de investigación desarrolladas.

#### **4.3.1. Comportamiento de patrones tolerantes y evaluación de cultivares injertados**

- a) **Altura de la planta:** se midió desde la base del tallo hasta el ápice terminal de la planta en cm, utilizando cINTA métrica de 5 metros, la toma de datos de esta variable se inició a los 7 días después de trasplante hasta los 62 días después de transplante.
- b) **Diámetro del tallo:** se midió la base del tallo en mm, utilizando un vernier o pie de rey, la toma de datos de esta variable se inició a los 7 días después de trasplante hasta los 62 días después de transplante.

- c) **Número de hojas:** se contó desde la primera hoja del estrato inferior de la planta hasta el ápice de la planta, la toma de datos de esta variable se inició a los 7 días después de trasplante hasta los 62 días después de transplante.
- d) **Racimos flores:** se contó el número de flores a partir del trasplante, la toma de datos de esta variable se inició a los 7 días después de trasplante hasta los 62 días después de transplante.
- e) **Número de frutos:** se contó el número de frutos y fue acumulativo hasta los 62 días después de trasplantadas las plantas injertadas.
- f) **Incidencia:** se cuantificó el número de plantas enfermas expresada en porcentaje mediante la fórmula (Castaño, 1989):

$$Incidencia = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{total plantas evaluadas}} \times 100$$

- g) **Severidad:** se midió el área de tejido de la planta afectado por la enfermedad mediante la fórmula (Castaño, 1989):

$$Severidad = \frac{\sum \text{número de plantas} \times \text{grado}}{\text{Número de plantas evaluadas} \times \text{grado mayor}} \times 100$$

Para evaluar la severidad de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* se utilizó la escala propuesta por Arteaga y Avendaño (2004) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Escala de severidad de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* en tomate, basada en su sintomatología (Arteaga y Avendaño, 2004).

Valor de la escala	Descripción	Características
0	Severidad nula	Sin presencia de síntomas
1	Severidad baja	Presencia de epinastia en hojas
2	Severidad media	Epinastia y pérdida de turgencia de las hojas
3	Severidad alta	Decaimiento generalizado (marchites)
4	Severidad muy alta	Muerte de la planta



Figura 2. Escala de severidad de la enfermedad: se estimará mediante la escala desarrollada por Kempe y Sequeira (1983), citado por (Arteaga & Avendaño, 2004).

- h) **Área bajo la curva del progreso de la enfermedad:** se midió el avance de la enfermedad en el tiempo, además de su efecto acumulativo en el cultivo, mediante la fórmula (Shaner y Finney, 1977)

$$ABPCE = \sum_i^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

Donde, ABCPE = área bajo la curva de progreso de la enfermedad;  $y_i$  = índice de severidad de la lectura anterior;  $y_{i+1}$  = índice de severidad de la lectura actual;  $t_{i+1}$  = días después del trasplante de la lectura actual;  $t_i$  = días después del trasplante de la lectura anterior

La recolección de datos se realizó dos veces por semana para las variables fenológicas. Para la variable de incidencia y severidad los datos se recolectaron diarios de lunes a viernes. De manera paralela se levantaron los parámetros climáticos de temperatura y humedad relativa. Todos los datos se iniciaron a tomar 24 horas después de la inoculación de la cepa de la bacteria *Ralstonia solanacearum*.

#### **4.3.2. Variables evaluadas en las dos técnicas de injertación**

- a) **Porcentaje de prendimiento:** número de plantas que sobreviven después del proceso de injertación, se evaluó de manera acumulativa en el tiempo, a partir de los cinco días después de injertado.
- b) **Altura:** se midió desde la base del tallo hasta el ápice terminal de la planta en cm, después del proceso de injertación (cinco días después), en general el portainjerto se cortó después de las dos hojas cotiledóneas y las yemas de los híbridos a injertar se cortó antes de las dos hojas cotiledóneas, aproximadamente entre 8 -10 cm de altura.
- c) **Número de hojas:** total de hojas que desarrollo la planta después del proceso de injertación, a cada yema injertada se les dejo las dos últimas hojas, esto fue un indicador para determinar la efectividad y desarrollo del injerto, esta medición se realizó hasta los 30 días después de injertados.

La recolección de datos se realizó diario a partir de los 5 días después de injertados para la variable porcentaje de prendimiento y para las variables fenológicas se tomaron los datos dos veces por semana. De manera paralela se registraron los parámetros climáticos de temperatura y humedad relativa.

#### **4.4. Análisis de los datos**

Todas las variables evaluadas en este estudio fueron sometidas a un análisis de varianza (ANDEVA). En el caso de las variables de incidencia y severidad, antes de proceder con

cualquier tipo de análisis estadístico, se realizó una transformación de los datos de incidencia y severidad con el fin de satisfacer los criterios de normalidad requeridos para el análisis de varianza (ANDEVA). La incidencia se transformó al  $\arccoseno \sqrt{\frac{y(\%)}{100}}$  y la severidad se transformó a la  $\sqrt{SMB + 0.5}$ , donde  $y(\%)$  es la incidencia de las enfermedad (*Ralstonia solanacearum*) y SMB es el valor en la escala de la severidad de *Ralstonia solanacearum* (Quinn & Keough, 2009).

Posteriormente los datos se pasaron al programa estadístico Infostat versión 2008, para determinar el efecto de la media de los tratamientos evaluados, considerando el error experimental de las pruebas y el coeficiente de variación de las mismas. A través del análisis de varianza se determinó si las variables evaluadas presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, además se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey con un nivel de significancia de 95%.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Aislamiento e identificación de la cepa de *Ralstonia solanacearum*

Mediante el medio específico diferencial de cloruro de tetrazolium (TZC) descrito por Kelman (1954) y citado por (Morales, 2007) se logró aislar cultivos bacterianos puros e identificados posteriormente como *Ralstonia solanacearum* mediante las pruebas de caracterización cultural, morfológica y prueba fisiológica.

La cepa aislada presentó un crecimiento superficial lisa con elevación convexa de color blanco cremoso y bordes irregulares; al someterla a reacción con KOH al 3% presentó un hilo al suspender el asa y en el medio específico de TZC hubo crecimiento de colonias de color cremosas y centro rosado (Figura 3).



Figura 3. Crecimiento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* en cloruro de tetrazolium (TZC).

El aislado bacteriano utilizado en la investigación presenta reacciones positivas en la oxidación de cuatro disacáridos (Lactosa, Trehalosa, Maltosa y Celobiosa) y de igual forma en las

reacciones con dos hexosas alcohólicas (Dulcitol y Sorbitol), determinando así, que la cepa de *Ralstonia solanacearum* utilizada en el estudio pertenece al biovar III de la Raza 1. No se realizaron pruebas para confirmar la raza, pero basándose en el hospedero del aislamiento y la sintomatología de la misma se determinó que pertenece a la raza I, de igual forma, la determinación de estas, se basa en literatura citada y trabajos similares realizados en las mismas zonas con cultivos de la misma familia (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comprobación de biovar mediante reacciones a cuatro disacáridos y dos alcoholes.

Pruebas fisiológicas	Biovares				
	1	2	3	4	5
<b>Utilización de disacáridos</b>					
Celobiosa	-	+	+	-	+
Lactosa	-	+	+	-	+
Maltosa	-	+	+	-	+
Trehalosa	-	+	+	-	+
<b>Oxidación de los alcoholes</b>					
Dulcitol	-	-	+	+	-
Sorbitol	-	-	+	+	-

Según el estudio de distribución y variabilidad de *Ralstonia solanacearum* realizados en la misma zona y en los mismos cultivos de solanáceas concluyen que el biovar más común en la zona de Jinotega es el biovar 3 de la raza 1 (Morales, 2007), esto nos confirma que la cepa utilizada en el estudio es *Ralstonia solanacearum* raza 1 biovar 3.

## 5.2. Comportamiento de portainjertos tolerantes a marchitez bacteriana

El análisis de algunas características de crecimiento y desarrollo de los portainjertos utilizados en esta investigación suministraron información básica de su comportamiento ante la infección causada por *Ralstonia solanacearum*, información que es clave para la selección de los mismos. En este sentido se analizó el comportamiento de las variables altura, diámetro y número de hojas de los tratamientos inoculados con la bacteria y sus respectivos testigos.

### 5.2.1. Variables de crecimiento y desarrollo

En el Cuadro 3 se describe el comportamiento de las medias de las variables altura, diámetro y número de hojas de los tratamientos evaluados. En general, los tratamientos inoculados con la bacteria *Ralstonia solanacearum* presentan valores mayores en comparación a los tratamientos no inoculados (testigos), resultados que pueden estar influenciados por el manejo de las planta y características propia de los materiales.

Según el análisis de varianza realizado para la variable altura, se encontró diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $R^2 = 0.98$ ; C.V. = 10.17) entre los tratamientos evaluados. Al comparar las variedades inoculadas con la cepa de *Ralstonia solanacerum* y las mismas variedades sin inocular, se observó que las inoculadas alcanzaron mayor altura siendo INTA-L5-i la que registró la mayor altura con 51.6 cm, seguido de INTA-L7-i con 46.9 cm y el tratamiento Berenj-i fue la que registró el menor valor con 27.4 cm; los tratamientos sin inocular en las tres variedades presentaron menor altura (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de altura (cm), diámetro (mm) y número de hojas en los tratamientos (variedades de tomate y berenjena) evaluados.

Variable	Tratamientos					
	INTA-L7-i	INTA-L7-s	INTA-L5-i	INTA-L5-s	Berenj-i	Berenj-s
Altura (cm)	46.9 bc	46.2 b	51.6 d	49.2 cd	27.4 a	25.1 a
Diámetro (mm)	7.5 c	7.4 bc	6.9 a	7.1 ab	7.4 bc	6.8 a
Número de hojas	23 bc	22 bc	24 cd	26 d	21 ab	20 a

En lo que respecta al diámetro, el análisis de varianza determinó que hubo diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $R^2 = 0.97$ ; C.V. = 8.93) entre los tratamientos. El comportamiento de las medias en los tratamientos inoculados fue mayor en INTA-L7-i con valor de 7.5 mm, seguido de Berenj-i con 7.4 mm y el tratamiento con menor valor de diámetro fue Berenj-s con un valor de 6.8 mm. Si se analizan las variedades de manera independiente con respecto al factor inoculación, hay diferencia en relación a las medias del diámetro, ya que las plantas inoculadas presentan valores mayores en dos de las variedades, en INTA-L7 y

Berenjena. En la variedad INTA L5 el comportamiento fue lo contrario, el valor más alto se da en INTA-L5-s con 7.1 mm en comparación al INTA-L5-i que registro 6.9 mm (Cuadro 3).

En cuanto al número de hojas, el análisis de varianza determinó que existen diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $R^2 = 0.96$ ; C.V. = 16.85) entre los tratamientos. En la variedad INTA-L5-s se registraron 26 hojas, seguido del tratamiento INTA-L5-i con 24 hojas; el tratamiento con menor número de hojas fue el Berenj-s con un valor de 20 hojas (Cuadro 3).

En general esta característica de desarrollo vegetativo está directamente relacionada al comportamiento propio de las variedades o cultivares, la inoculación de la cepa de *Ralstonia solanacearum* no influye estadísticamente en el comportamiento de las variables evaluadas.

#### **5.2.2. Incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados**

Solo se analizaron los tratamientos inoculados con la cepa de *Ralstonia solanacearum* (INTA-L7-i, INTA-L5-i y Berenj-i) y se obviaron los otros tratamientos porque no tenían inóculo bacteriano. A través del análisis de varianza se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $R^2 = 0.77$ ; C.V. = 159.93) con respecto a la incidencia de la marchitez bacteriana. El tratamiento INTA-L5-i fue el que registró el mayor porcentaje de incidencia con un 14.24%, seguido del tratamiento INTA-L7i con 2.27% y el tratamiento que presentó menos incidencia fue Berenj-i con un 0.52%. Entre estos dos últimos no existen diferencias.

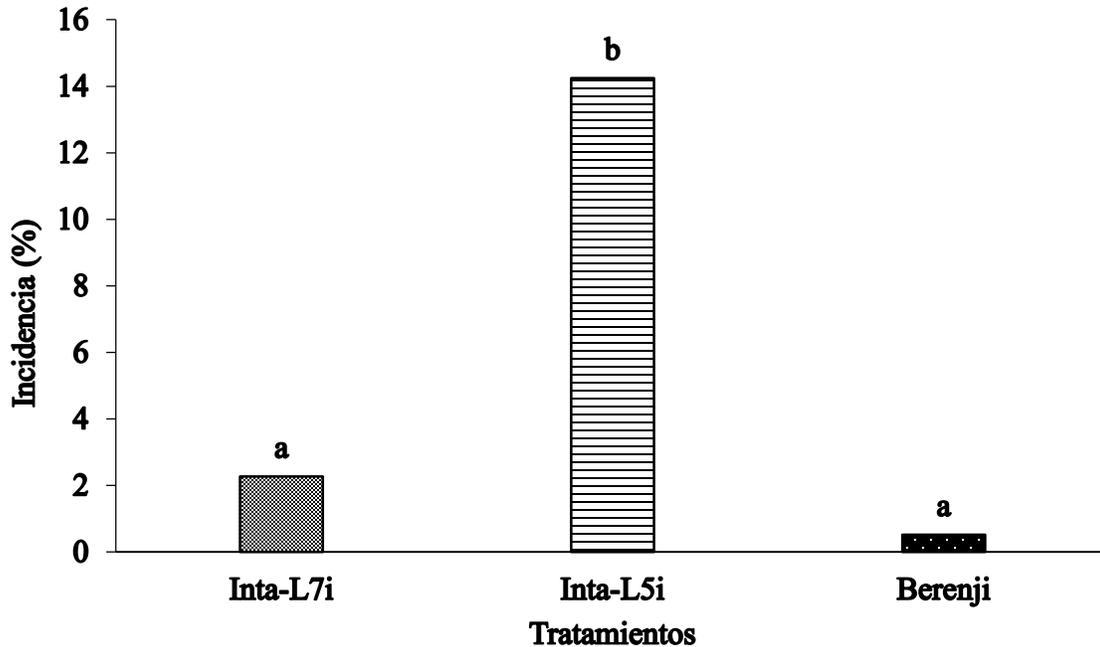


Figura 4. Porcentaje de incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados con la cepa de *Ralstonia solanacearum*.

En Nicaragua no se han hecho estudios de incidencia y tolerancia de estos cultivares frente al marchitamiento bacteriano causado por *Ralstonia solanacearum*, por tanto, no se puede hacer comparaciones con evidencia técnica científica, solamente con lo observado en experiencia de campo, donde estos cultivares (INTA L7 y Berenjena) son menos afectados por la bacteria, bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

Algunas investigaciones indican que el tomate injertado en patrones de berenjena tuvo una mayor área foliar, mayor peso seco de raíces y tallos y no se infectaron con la bacteria *R. solanacearum* (Palada y Wu, 2007). En otro estudio, Zhang *et al.*, (2010) injertaron un cultivar comercial de tomate en portainjertos de tomate con resistencia a marchitez bacteriana y los resultados mostraron que los portainjertos de tomate inhibieron efectivamente la propagación de la bacteria *R. solanacearum* en tallos de tomate y, por lo tanto, se redujo sustancialmente la incidencia de la enfermedad.

### 5.2.3. Severidad de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados

El análisis de varianza para la variable de severidad de los tratamientos inoculados determina que hay diferencia significativa ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $R^2 = 0.77$ ;  $CV = 166.08$ ) entre los tratamientos evaluados, pero al analizar la interacción entre ddi x trat el análisis de varianza determina que no existe diferencia significativa ( $p = 0.089$ ;  $\alpha = 0.05$ ), esto indica que los días después de inoculación no influyen sobre el comportamiento de las medias de la severidad de cada uno de los tratamiento inoculados.

Todos los tratamientos tienen comportamientos diferentes en relación a la severidad de la marchitez bacteriana, el tratamiento Berenj-i es el que presentó menor valor con 0.0 %, seguido del tratamiento INTA L7i con un valor de 2.18 % y tratamiento INTA L5-i fue el que presentó mayor severidad con 12.06 %, este último indica que este cultivar es susceptible a la marchitez bacteriana causada por la cepa de *Ralstonía Solanacearum* (Figura 5); y no puede ser usado como patrón o portainjerto.

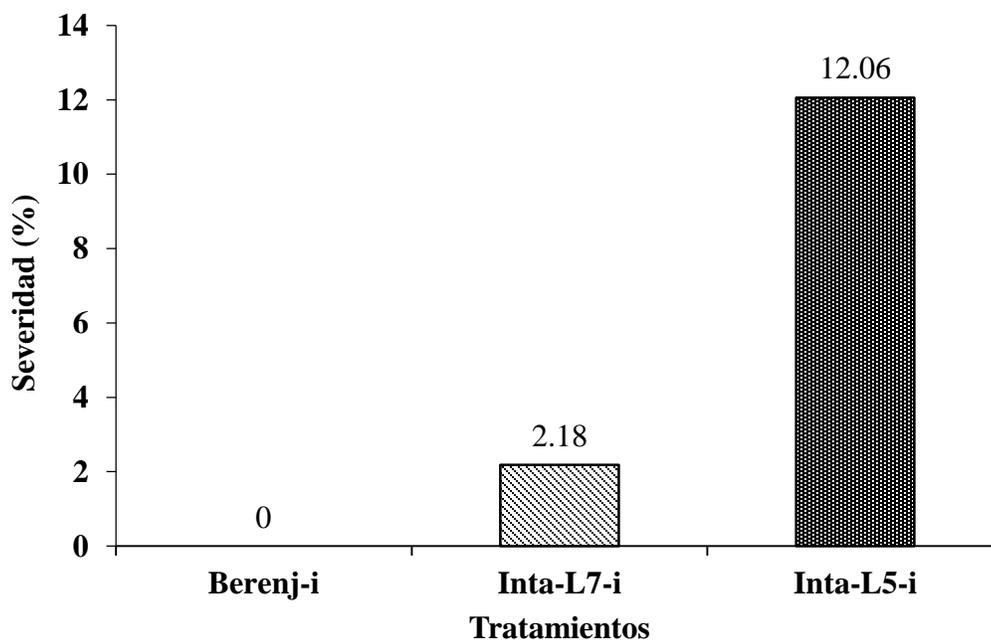


Figura 5. Porcentaje de severidad de la marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados con la cepa de *Ralstonia solanacearum*.

El análisis de varianza detectó diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 196.42 y  $R^2 = 0.76$ ) entre tratamientos evaluados con respecto al área bajo la curva de progreso de *Ralstonia solanacearum* (ABCPRs), igualmente el análisis demuestra que hay diferencias significativas entre las repeticiones de cada tratamiento ( $p = 0.0001$ ) (Cuadro 4). El valor del ABCPRs del tratamiento INTA-L5 fue el más alto con 2808.2% días, el segundo tratamiento con mayor ABCPRs acumulado de las repeticiones fue INTA-L7 con 524.10%, respecto al tratamiento de berenjena el ABCP de *Ralstonia solanacearum* fue cero, la enfermedad no se presentó.

Según la prueba estadística de Tukey se forman dos grupos con medias diferentes (Cuadro 4) siendo el tratamiento INTA-L5i presentó media de 16.72 % significativamente diferente en relación al segundo grupo conformado por los tratamientos INTA-L7i (3.12%) y berenjena (0%).

Cuadro 4. Área bajo de la curva del progreso de *Ralstonia solanacearum* en tres cultivares de solanáceas evaluados en el Campus Agropecuario de la UNAN León.

Trat.	Repetición				Total ABCPR S	Media por tratamiento o ABCPRs	Media por día ABCPRs	Tukey
	1	2	3	4				
INTA-L5i	749.9	245.9	299.7	1512.6	2808.2	702.05	16.72	a
INTA-L7i	283	58.3	116.4	66.4	524.1	131.025	3.12	b
Berenji	0	0	0	0	0	0	0	b

Al comparar los diferentes tratamientos en el tiempo días después de inoculado (ddi), se observó que en los primeros 9 ddi, la enfermedad tuvo un comportamiento similar en todos los tratamientos, sin embargo, a partir del día 10 ddi, en el tratamiento INTA-L5-i inició el desarrollo de la enfermedad, con un valor de ABCPRs de 2.075%, a partir de la fecha el ABCP incrementó hasta alcanzar el valor más alto a los 42 ddi con un valor de 78.075%. En relación al tratamiento INTA-L7-i la enfermedad se presentó a los 30 ddi con un ABCPRs de 2.075% y

el valor máximo lo alcanzó a los 35 ddi con un ABCPRs de 21.86%; su comportamiento en el tiempo no fue progresivo reportando como media entre los días de medición de 3.12% muy por debajo del progreso del ABCPRs de INTA-L5-i que tiene como valor medio diario de 16.72%.

Al analizar las interacciones del ABCPRs entre el ddi  $\times$  tratamiento el análisis de varianza demostró que existen diferencias significativas en la interacción ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ) el desarrollo de la enfermedad en cada tratamiento inicio en diferentes momentos, siendo el tratamiento INTA-L5i el primero en desarrollar la enfermedad, lo que indica la susceptibilidad de este cultivar a la enfermedad marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

En general, la inoculación de la bacteria en los tratamientos de esta etapa demostró que los cultivares INTA-L7 y berenjena toleran la enfermedad marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*. Los efectos en estos cultivares fueron nulo (berenjena) y poco significativo (INTA-L7i) en comparación al cultivar INTA L5i que fue el cultivar que presentó mayor grado de incidencia, severidad y ABCPE, indicando que este último no tolera la enfermedad y que puede ser más agresiva si las condiciones ambientales favorecieran más al patógeno. Es importante destacar que el sitio donde se realizó la investigación no proporcionó las condiciones óptimas para el desarrollo máximo de la enfermedad, además, en el país no existe información de tolerancia de estos cultivares ante esta bacteria. Este estudio es el primero en evidenciar con datos cuantitativos la tolerancia de estos cultivares ante la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum* y que puede servir para futuras investigaciones.

### **5.3. Evaluación de dos técnicas de injertación en el cultivo de tomate**

Según el análisis de varianza hubo diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 14.70 y  $R^2 = 0.55$ ), entre los tratamientos evaluados (patrón + técnica de injertación); el mayor porcentaje de prendimiento o sobrevivencia se observó cuando se utilizó como patrón berenjena mediante la técnica de púa (B+P) con un 92%, seguido del tratamiento de berenjena con la técnica de empalme con un 86%. Esto indica que la berenjena es una especie de planta que por sus características morfológicas del tallo y raíces es adecuado para ser usado como portainjerto para cualquier tipo de solanáceas. El tratamiento que presentó menor porcentaje de prendimiento

fue el portainjerto tomate INTA-L7 más la técnica de empalme con un 74% de sobrevivencia (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de prendimiento o sobrevivencia de portainjertos utilizando dos técnicas de injertación, bajo las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León.

<b>Portainjerto</b>	<b>Técnica de injertación</b>	
	<b>Empalme</b>	<b>Púa</b>
Berenjena	86% b	92% c
Tomate INTA L7	74% a	83% b

En la Figura 6 se describe el comportamiento de sobrevivencia de los injertos utilizando dos técnicas y dos portainjertos tolerantes a la marchitez bacteriana. Los registros de sobrevivencia se tomaron a partir de los 5 días después de injertados, siendo los tratamientos cuyo portainjerto era berenjena los que iniciaron con mejores promedios de sobrevivencia en comparación a los tratamientos cuyo portainjertos era tomate (INTA-L7). Este comportamiento se mantuvo constante para el tratamiento de berenjena más la técnica de Púa (B+P) que a partir de los 10 días después de injertados se equilibró la sobrevivencia con un porcentaje de 90%, los otros tres tratamientos siguieron bajando los porcentajes de sobrevivencia hasta llegar a los 27 días donde el tratamiento cuyo portainjerto era tomate (INTA-L7) más la técnica de empalme obtuvo los porcentajes más bajos con 61%.

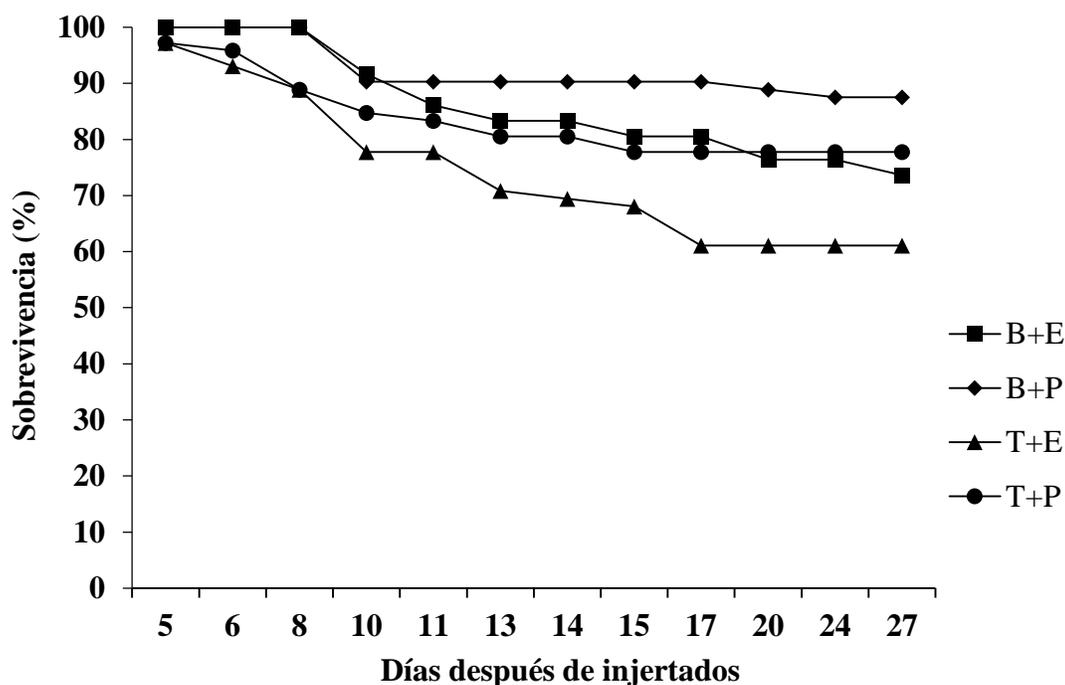


Figura 6. Supervivencia de injertos, utilizando dos técnicas de injertación y dos portainjertos bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León.

El análisis de varianza determinó que existen diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ), en los porcentajes de supervivencia de los híbridos injertados en los dos portainjertos tolerantes y utilizando las dos técnicas de injertación. Los injertos del híbrido Shanty utilizando la técnica de púa y empalme en el portainjerto berenjena obtienen los mayores porcentajes de supervivencia llegando a un 99% (técnica de púa) y un 90% (técnica de empalme) respectivamente. Entre ambos tratamientos hubo diferencias significativas según la prueba de Tukey. Igualmente, el híbrido Shanty injertado en portainjerto de tomate (INTA-L7) obtiene un alto porcentaje de supervivencia (90%). En general, los mejores resultados de supervivencia se dan con las yemas de Shanty, quizás se deba a que es un híbrido adaptado a condiciones climáticas similares a las del Campus agropecuario de la UNAN León donde se realizó la investigación (Cuadro 6).

En cuanto a las yemas del híbrido Pony express, los mejores resultados de supervivencia se obtuvieron utilizando como portainjerto la berenjena y la técnica de púa con un valor de 85% de supervivencia. Las yemas de Pony Express injertadas en tomate (INTA-L7) presentaron

porcentajes de sobrevivencia de 64% utilizando la técnica de empalme y un 77% utilizando la técnica de púa (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de prendimiento (sobrevivencia) de dos híbridos injertados utilizando dos técnicas de injertación y dos portainjertos, bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León.

<b>Tratamiento</b>	<b>Patrón</b>	<b>Técnica</b>	<b>Híbrido</b>	<b>Prendimiento (%)</b>
T+E+P	Tomate INTA L7	Empalme	Pony	64 a
T+P+P	Tomate INTA L7	Púa	Pony	77 b
B+E+P	Berenjena	Empalme	Pony	82 bc
T+E+SH	Tomate INTA L7	Empalme	Shanty	84 bc
B+P+P	Berenjena	Púa	Pony	85 bc
T+P+SH	Tomate INTA L7	Púa	Shanty	90 c
B+E+SH	Berenjena	Empalme	Shanty	90 c
B+P+SH	Berenjena	Púa	Shanty	99 d

Al analizar la sobrevivencia en el tiempo (Figura 7) se observa que el híbrido Shanty injertado en el portainjerto de berenjena con la técnica de púa, presenta una sobrevivencia del 100% hasta los 20 días después de injertados, pasando el periodo crítico para los materiales injertos que son los primeros 10 días después del proceso de injertación. Según (Rojas, 2010) en investigaciones similares realizadas en tomate en Nuevo León, México, afirma que el mayor porcentaje de mortalidad en los injertos de tomates se da en los primeros 10 días después de injertación y que durante este periodo es necesario mantener alta humedad relativa y baja luminosidad para evitar deshidratación de las yemas injertadas.

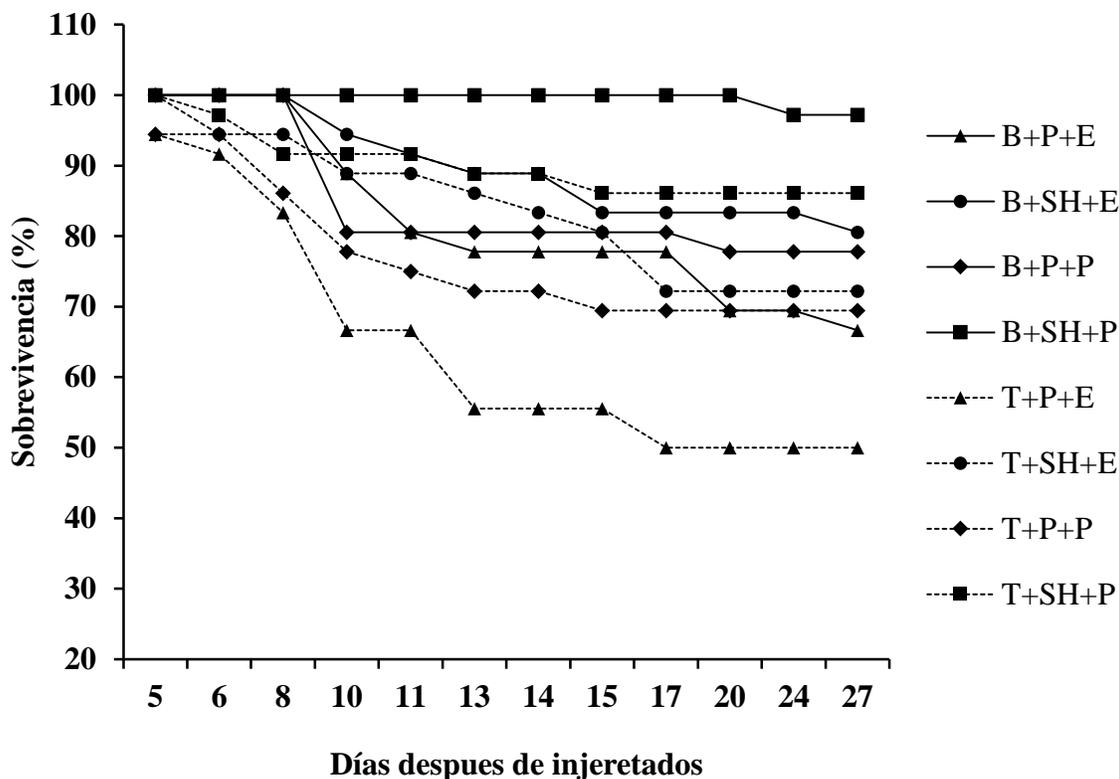


Figura 7. Comparación de la sobrevivencia de dos híbridos injeretados, utilizando dos técnicas de injertación y dos portainjertos diferentes bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León.

Durante este periodo crítico las yemas del híbrido Pony Express, injertadas en tomate con la técnica de púa y empalme (T+P+P; T+P+E) presentan un descenso pronunciado de la curva de sobrevivencia, seguido siempre del híbrido Pony express injertado en berenjena con la técnica de púa (B+P+P), esto se debe a que el híbrido Pony express presenta mejores resultados de desarrollo en zonas de mayor altitud y menor temperatura, quizás estos factores influyeron en que las yemas se deshidratan y no pegaran en los porta injertos, en las condiciones donde se desarrolló el ensayo.

A los 27 días después del registro de sobrevivencia, se observó que las yemas del híbrido Pony Express injertadas en tomate con la técnica de púa, presentó el menor porcentaje de sobrevivencia con un valor de 50% y el de mayor sobrevivencia fue el híbrido Shanty injertado en el portainjerto de berenjena con la técnica de púa (B+SH+P) obteniendo un valor de 97% de sobrevivencia.

Los resultados demuestran que la berenjena como patrón registró una media de sobrevivencia de 89.16 seguido de tomate INTA-L7 con un valor de 78.78; en cuanto a los híbridos evaluados Shanty registro los valor más altos en sobrevivencia con una media de 90.89 seguido de Pony con 77.04; al analizar las técnicas de injertación utilizadas se reporta que la técnica de Púa presentó una media de 87.82, superior a las obtenidas en la técnica de Empalme de 77.04, esto se debe a la fijeza y contacto que tienen las yemas en los porta injertos, que es superior con la púa (Cuadro 7).

Para este estudio, el análisis de las interacciones fueron claves para determinar técnicamente la forma y método más adecuado para injertar híbridos de tomate bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León; al tomar la interacción de patrón × técnica se reporta que la interacción berenjena × empalme obtiene la mayor media de sobrevivencia con un valor de 92.21 seguido de la berenjena × púa con un valor de 86.1; la interacción que registro medias bajas fue tomate × empalme con un valor de 74.13 (Cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de las medias de prendimiento (sobrevivencia) desde diferentes parámetros

<b>Parámetro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Media</b>
Patrón	Tomate	78.78 a
	Berenjena	89.16 b
Hibrido	Pony	77.04 a
	Shanty	90.89 b
Técnica	Empalme	80.11 a
	Pua	87.82 b
Patrón x Técnica	Tomate x Empalme	74.13 a
	Tomate x Pua	83.43 b
	Berenjena x Pua	86.1 b
	Berenjena x Emplame	92.21 c

La berenjena es el factor más relevante dentro de las interacciones analizadas, en todas las interacciones donde está el factor berenjena, se reportan los valores más altos de sobrevivencia. En el caso del híbrido Shanty, no importando la técnica de injertación este registra los valores superiores, Shanty es un híbrido que se adapta más a las condiciones calientes en comparación al híbrido Pony Express que es más apto para zonas intermedias y temperaturas moderadas. Este

último híbrido en el estudio registró los menores valores de sobrevivencia, bajo las condiciones del Campo Agropecuario de la UNAN León, esto no quiere decir que bajo otras condiciones de menor temperatura los porcentajes de sobrevivencias sean superiores.

En cuanto al comportamiento de las variables fenológicas se determinó que los tratamientos cuyo portainjerto (patrón) era berenjena las yemas presentaron mayor crecimiento en comparación a los porta injertos de tomate, podemos considerar que las características morfológicas de la berenjena influye sobre el desarrollo de las yemas de tomate, esta presenta mayor crecimiento radicular y por tanto la planta sustrae mayor cantidad de agua y nutrientes que son aprovechados por el injerto (yema) (Figura 8).

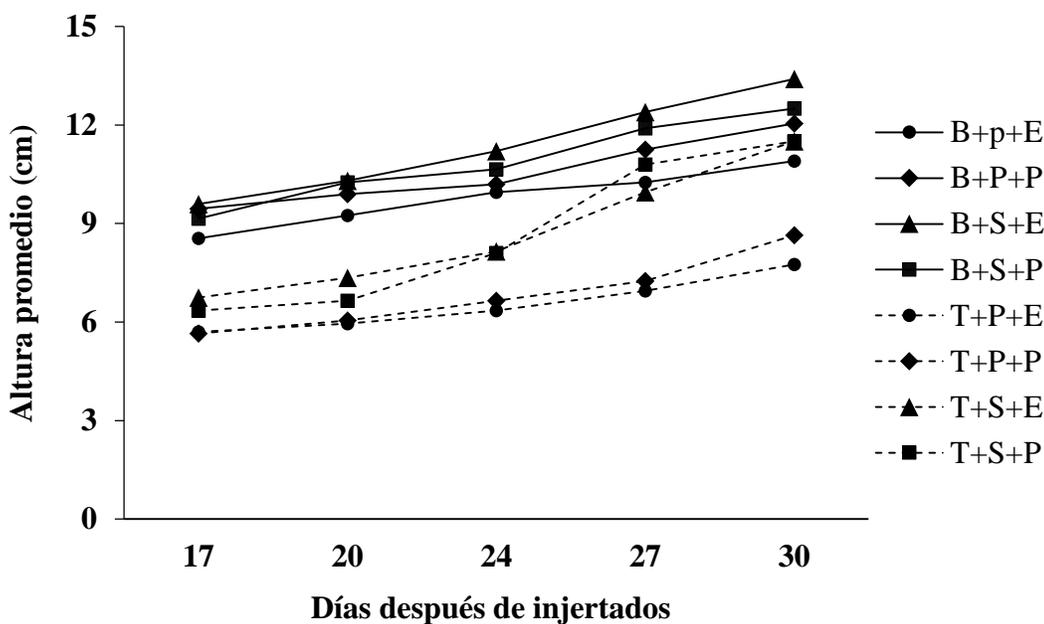


Figura 8. Altura promedio (cm) de yemas de tomates injertadas en dos portainjertos diferentes con dos técnicas de injertación, bajo las condiciones ambientales del Campo Agropecuario de la UNAN León.

En cuanto al número de hojas emitidas después del proceso de injertación se determinó que a partir de los 17 días de injertados las yemas iniciaron a emitir hojas, siendo los tratamientos cuyo portainjerto era berenjena los que emitieron en menor tiempo el mayor número de hojas en comparación a los tratamientos que tenían como porta injerto tomate (INTA-L7) que presentaron el menor número de hojas (Figura 9).

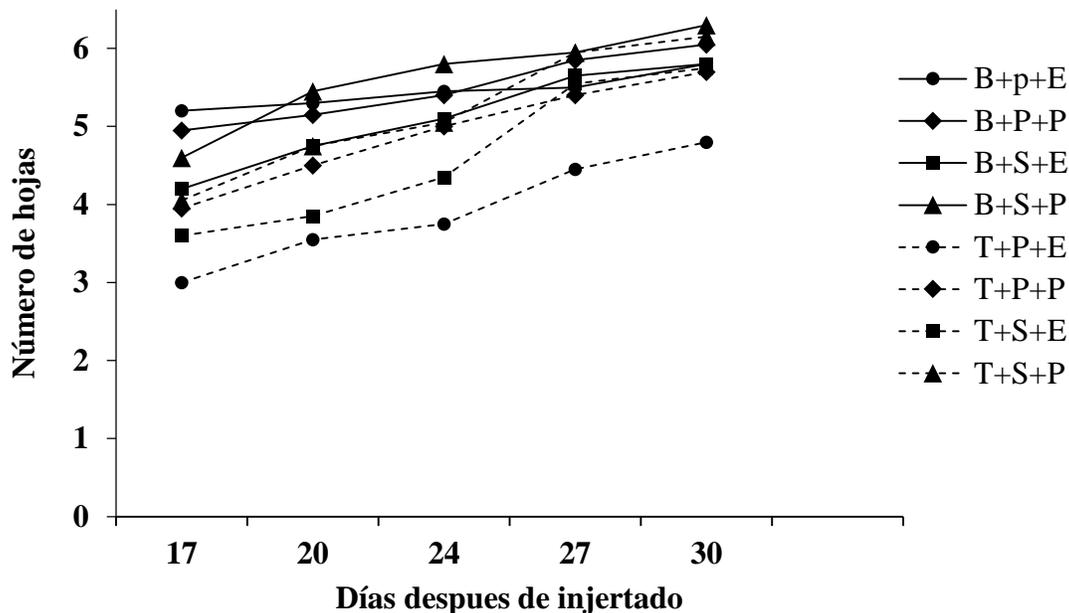


Figura 9. Número de hojas de yemas de tomates injertadas en dos portainjertos diferentes con dos técnicas, bajo las condiciones ambientales del campo agropecuario de la UNAN León.

Mediante el análisis de varianza para las variables altura y número de hojas se reporta que existe diferencia significativa; para la altura ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 24.11;  $R^2 = 0.83$ ), las yemas cuyo portainjerto es berenjena presentaron medias superiores con valores entre 10.57 cm y 11.38 cm y la menor altura la presentó los injertos cuyo patrón era tomate con el método de empalme y púa con 6.54 cm y 6.85 cm respectivamente.

Para el número de hojas el análisis de varianza demuestra que hay diferencia significativa entre los tratamientos ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 4.88;  $R^2 = 0.97$ ); los injertos donde se utilizó patrones era berenjena presentaron el mayor número de hojas con promedios de 5.62 para el tratamiento berenjena más el híbrido Shanty con el método de púa (B+P+S) y 5.48 para el tratamiento berenjena más el híbrido Pony con el método de púa (B+P+P); siempre los tratamientos donde el patrón era tomate registraron los datos inferiores en relación al número de hojas con valores de 3.91 hojas en promedio (Cuadro 8).

Cuadro 8. Comparación de medias de la variable altura y número de hojas de los cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a *Ralstonia solanacearum*, bajos las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León

	<b>Patrón +Técnica + Híbrido</b>	<b>Medias</b>
Altura	T+E+P	6.54 a
	T+P+P	6.85 a
	T+P+S	8.68 ab
	T+E+S	8.74 ab
	B+E+P	9.78 bc
	B+P+P	10.57 bc
	B+P+S	10.89 bc
	B+E+S	11.38 c
Número de hojas	T+E+P	3.91 a
	T+E+S	4.62 b
	T+P+P	4.91 c
	B+E+S	5.19 d
	T+P+S	5.41 bc
	B+E+P	5.45 e
	B+P+P	5.48 e
	B+P+S	5.62 e

#### 5.4. Evaluación de cultivares injertados en portainjertos tolerantes

Se evaluaron dos cultivares (Shanty y Pony express) susceptibles a marchitez bacteriana injertados en dos portainjertos (patrones) tolerantes a la enfermedad y se evaluó el comportamiento de algunas características de crecimiento y desarrollo de los cultivares injertados y de intensidad de la enfermedad marchitez bacteriana.

##### 5.4.1. Parámetros de crecimiento y desarrollo

Mediante el análisis de varianza al 95% de confiabilidad se determinó que para la variable altura, hay diferencia significativa ( $p = 0.0001$ ; C.V. = 4.44;  $R^2 = 0.99$ ;  $\alpha = 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados y según Tukey (Cuadro 9) se forman cuatro grupos diferentes; el tratamiento que registra el valor más alto fue el T+Shanty con 48.63 seguido de B+Pony con 46.09 cm de altura y el menor valor lo registra el T+Pony con 41.93; podemos decir que las yemas del híbrido Shanty tienen mejor desarrollo en el portainjerto de Tomate a las yemas del híbrido de Pony,

esto quizás se deba las condiciones climáticas y características propias del híbrido como adaptación a zonas calientes y mayor desarrollo vegetativo.

Sin embargo, al analizar el crecimiento de las yemas de los dos híbridos utilizando como porta injerto berenjena, el híbrido Pony Express presenta mejor desarrollo (46.9 cm) en comparación a Shanty que presentó 43.71cm. En el número de flores estadísticamente hay diferencias significativa ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 50.61;  $R^2 = 0.73$ ) y según la prueba de Tukey (Cuadro 9) se forman dos grupos con medias diferentes; los tratamientos B+Shanty; T+Shanty y T+Pony con medias estadísticamente iguales con valores de 1.79 a 2.39 flores y el tratamiento con mayor número de flores es el B+Pony con un valor de 3.28, estas medias no reflejan el potencial productivos de estos híbridos, ambos son de crecimiento determinado y como se establecieron en maceteros esto pudo limitar el desarrollo de la planta, por crecimiento limitado de las raíces y absorción de nutrientes. Estos datos también se verifican con el número de frutos que están por debajo de los parámetros normales según información técnica de estos híbridos.

En relación al comportamiento del número de frutos existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ; C.V. = 26.61,  $R^2 = 0.92$ ), el tratamiento con mayor número de frutos fue el B+Pony con un valor de 7.29 y por debajo de los tratamientos T+Shanty, B+Shanty y T+Pony; este último con un valor de 3.11 frutos (Cuadro 9).

En la figura 10 se describe el comportamiento en el tiempo de la altura de la planta de dos cultivares de tomate injertados en porta injertos tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum*; esta evaluación se desarrolló en un periodo de 55 días, donde se observó desde un principio que los tratamiento de T+Shanty y B+Pony presentaron mayor crecimiento hasta los 41 días después de trasplante, a partir de esta fecha el crecimiento se frena para los cultivares que de Pony express, esto coincide con el cambio de etapa fenológica, las plantas entran en proceso de formación de frutos, a partir de esta fecha los cultivares de Shanty mantuvieron su crecimiento, esto se debe a que este cultivar es extremadamente productiva, Planta fuerte y tolerar condiciones climáticas extremas; la fructificación es más tardía en comparación al híbrido Pony express, este último es una planta precoz y compacta de alto rendimiento y adaptable a muchas condiciones agroclimáticas (Hortalizas.com, 2017).

Cuadro 9. Comparación de medias para las variables altura, número de flores y número de frutos de los cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum*, bajo las condiciones ambientales del Campus Agropecuario de la UNAN León.

Variable	Tratamientos	Medias
Altura	T+Pony	41.93 a
	B+Shanty	43.71 b
	B+Pony	46.09 c
	T+Shanty	48.63 d
Número flores	B+Shanty	1.79 a
	T+Shanty	2.18 a
	T+Pony	2.39 a
	B+Pony	3.28 b
Número de frutos	T+Pony	3.11 a
	B+Shanty	3.56 ab
	T+Shanty	3.82 b
	B+Pony	7.29 c

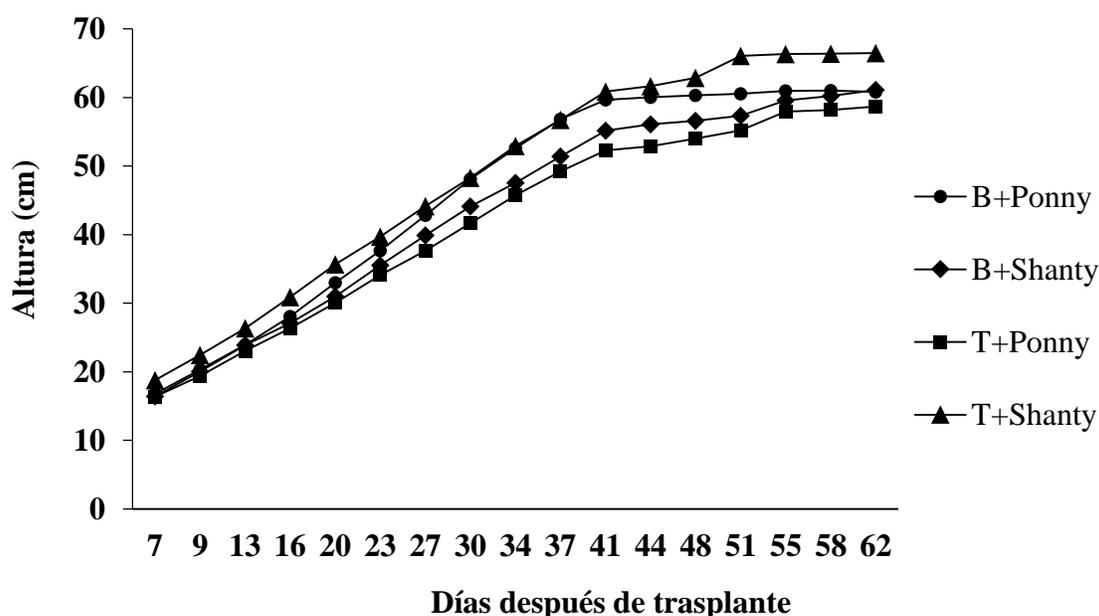


Figura 10. Comportamiento de la variable altura de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

El comportamiento de la floración (Figura 11) los tratamientos evaluados fueron variables, hubo fluctuaciones en el número de racimos florales de los dos cultivares injertados en dos porta injertos tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum*, todos los tratamientos iniciaron su floración a los 7 días después de trasplantado, pero el tratamiento berenjena más Pony express (B+Pony) presentó el mayor número de racimos florales desde el inicio de la etapa llegando a obtener el mayor número de flores a los 27 días después de trasplantado con un valor promedio de 7.7 racimos de flores. El tratamiento INTA L7 más Pony (T+Pony) presentó un comportamiento similar con un valor de 7.1 racimos de flores, los dos tratamientos cuya yema de crecimiento era el cultivar Shanty los promedios de racimos florales en el tiempo se mantuvieron por debajo de Pony. Todos los tratamientos logran los puntos máximos de número de flores entre los 27 y 34 días después de trasplantado, a partir de ese periodo la curva decrece, sin embargo, los tratamientos cuya yema de crecimiento era Shanty presentan un repunte en la floración a los 55 días después de trasplantado.

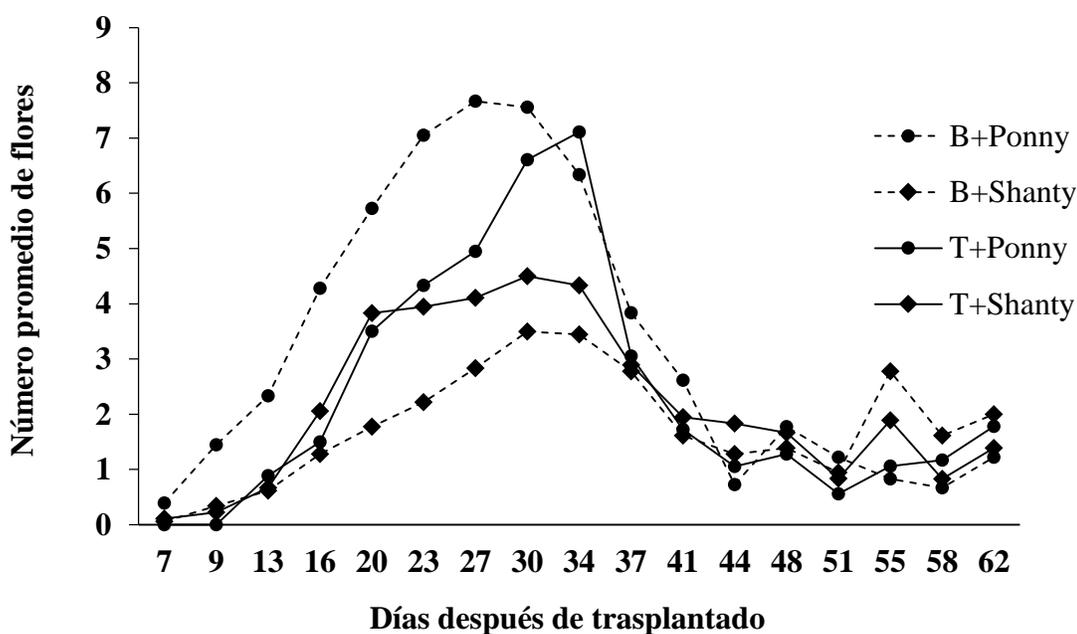


Figura 11. Comportamiento de la variable número de flores de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

En la Figura 12 se describe el comportamiento de número de frutos acumulados de los dos cultivares injertados en dos porta injertos tolerantes a una cepa de *Rasltonia solanacearum*; durante el periodo de evaluación de esta etapa, el tratamiento berenjena más Pony (B+Pony) presentó mayor número de frutos logrando obtener como promedio máximo 13.7 frutos por planta a los 62 días después de trasplante, en este tratamiento la formación de frutos se anticipó 5 días en relación a los otros tres tratamientos que iniciaron la formación de fruto a los 16 días de trasplantados, estos tres tratamientos tuvieron un comportamiento similar en el números de frutos hasta los 48 días, donde el tratamiento Tomate más Pony (T+Pony) disminuye el número de frutos en relación a los tratamientos T+Shanty y B+Shanty, prácticamente el número de frutos de estos dos últimos fueron similares, no hay diferencias en cuanto los porta injertos utilizados, llegando a los 62 días con 9 frutos acumulados en promedio, el menor valor los obtuvo el tratamiento T+Pony con un valor acumulativo de 7.1 frutos por planta.

El bajo número de frutos obtenidos en los tratamientos se deben a diferentes factores principalmente al establecimiento en maceteros y a las temperaturas que se presentaron en la casa malla, el ensayo se estableció en el periodo donde se reportan las temperaturas más altas, esto más la poca fertilización utilizada influyo en la poca producción. Según la FHIA (2011), una planta de tomate Pony express bajo condiciones adecuadas puede producir entre 44 a 50 frutos en promedio y una planta de Shanty puede producir entre 34 y 40 frutos en promedio, datos que están por encima de los reportados en la investigación, considerando que es necesario evaluar estos materiales injertados a campo abierto y con un manejo agronómico y nutricional adecuado para ver si hay cambios en los rendimientos.

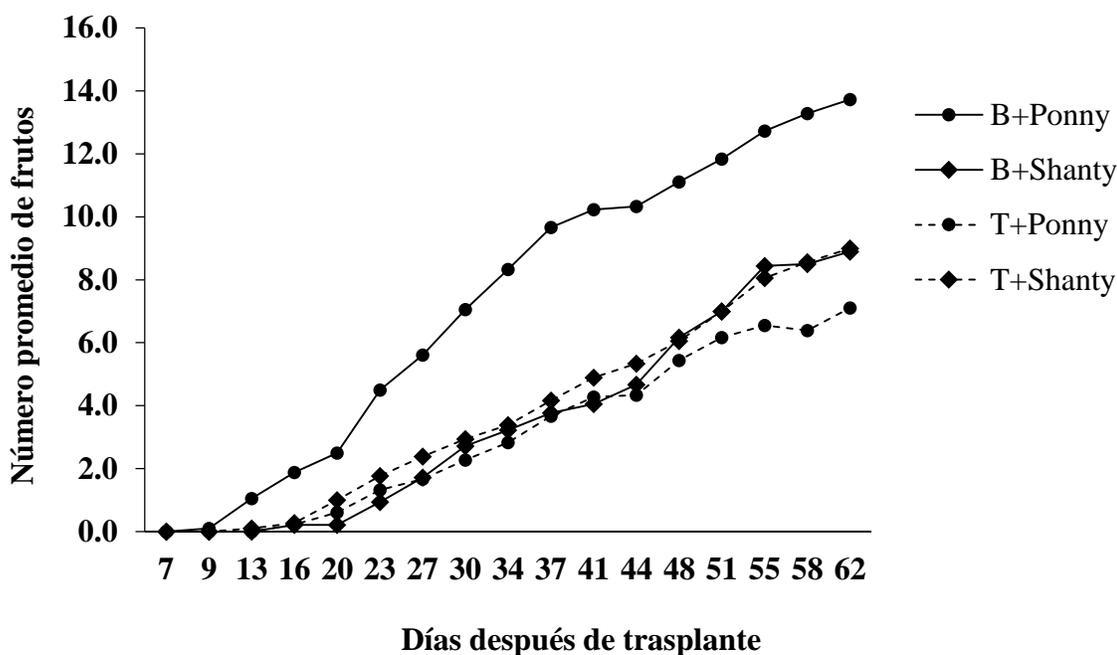


Figura 12. Comportamiento del número de frutos de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

#### 5.4.2. Incidencia de marchitez bacteriana en los tratamientos inoculados

La sintomatología de marchitamiento bacteriano inició a presentarse a partir de los 31 días después de trasplantada o bien a los 26 DDI, siendo los tratamientos cuyo porta injerto (patrón) era tomate los que presentaron los primeros síntomas con un 3.3 %, el tratamiento S+Shanty presentó la mayor incidencia en relación a los otros tratamientos, este logró obtener a los 63 días un porcentaje de incidencia de 36.7%; sin embargo, el tratamiento S+Pony presentó tendencia similar en el tiempo llegando a obtener un promedio de 30% de incidencia a los 63 días después del registro de incidencia. En los tratamientos cuyo portainjerto era berenjena, la sintomatología se presentó más tarde, a los 52 días después de trasplante o a los 47 DDI y la incidencia para los B+Pony y B+Shanty oscilaron entre 3.3 y 6.7 % respectivamente (Figura 13).

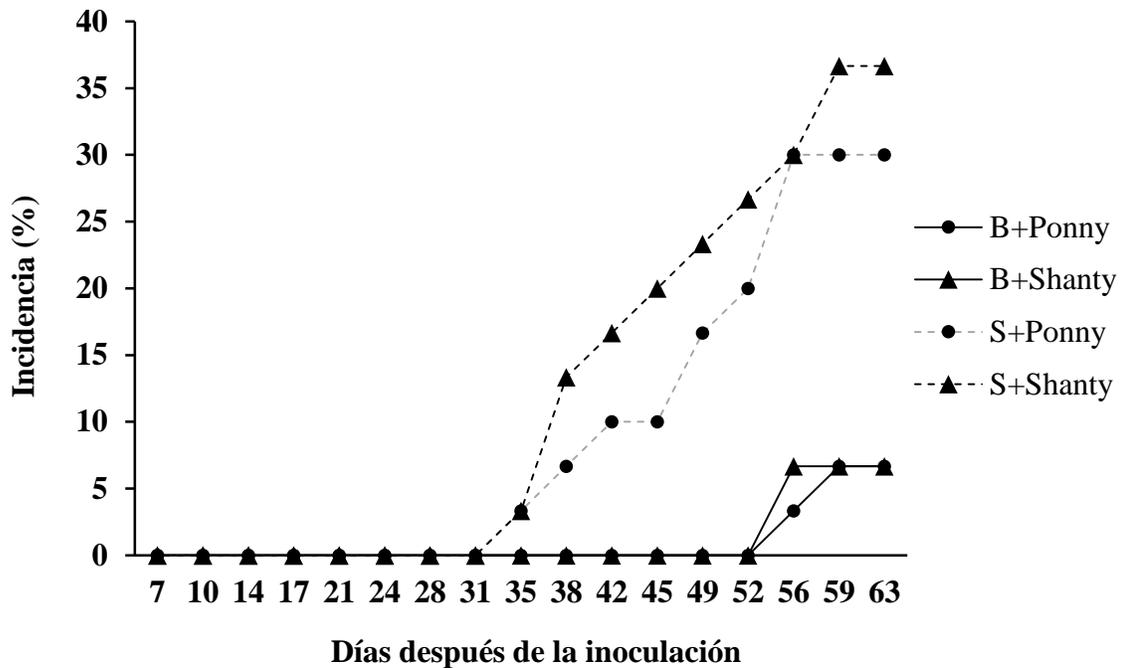


Figura 13. Comportamiento de la incidencia de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajos las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

Mediante el análisis de varianza determinamos que existe diferencia significativa ( $p = 0.0001$ ;  $CV=117.50$ ;  $R^2 = 0.65$  y  $\alpha = 0.05$ ) entre los tratamientos, según la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 10), existen dos grupos diferentes significativamente, los tratamientos B+Pony y B+Shanty presentan los menores porcentajes de incidencia con 0.98 % y 1.18 % respectivamente y son estadísticamente iguales, pero diferentes en relación a los S+Pony y S+Shanty que presentaron medias de 9.22 % y 12.16 entre estos dos últimos tratamientos las medias no presentan diferencias significativas; los porcentajes de incidencia aumentaron a medida que la planta cambiaba de etapa fenológica, paso de desarrollo vegetativo a la etapa de floración y fructificación.

Cuadro 10. Comparación de medias según Tukey para la incidencia de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

<b>Tratamiento</b>	<b>Media</b>
B+pony (Berejena + Pony)	0.98 a
B+ Shanty (Berenjena + Shanty)	1.18 a
S+pony (Tomate INTA L7 +Pony)	9.22 b
S+Shanty (Tomate INTA L7 +Shanty)	12.16 b

#### 5.4.3. Severidad de marchitez bacteriana

Para evaluar la severidad se tomaron mediciones en plantas fijas, esto permitió valorar el porcentaje de avance de la severidad en el tiempo (figura 14), prácticamente los promedios del porcentaje de severidad de los tratamientos B+Pony y B+Shanty fue de 0 sin presencia, en cambio el comportamiento de los tratamientos S+Shanty y S+Pony expres fueron diferentes, el porcentaje de severidad de las plantas infestadas en estos tratamientos fueron creciendo linealmente, los porcentajes de severidad del tratamiento S+Shanty se mantuvieron siempre por encima del tratamiento S+Pony, obteniendo a los 63 días después de trasplante los valores máximos de severidad de 75% para el tratamiento S+Shanty y 66.7% para el tratamiento S+Pony.

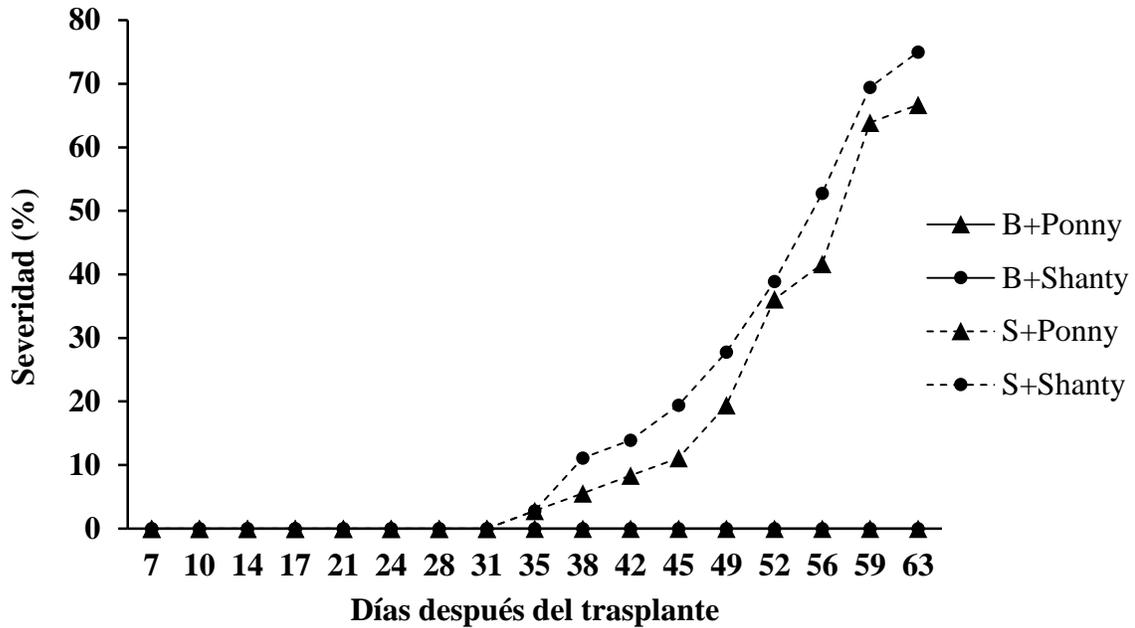


Figura 14. Comportamiento de la severidad de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

El análisis de varianza determinó que existe diferencia significativa ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $CV = 0.99$ ;  $R^2 = 64.90$ ) entre los tratamientos evaluados y según la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 11). Los tratamientos B+Pony y B+Shanty presentaron 0.0% de severidad respectivamente en ambos tratamientos y son estadísticamente iguales, pero diferentes en relación al tratamiento S+Pony que presentó un promedio de severidad de 15.03% y del tratamiento S+Shanty que presentó el mayor porcentaje de severidad de 18.30%.

Cuadro 11. Comparación de medias según Tukey para la variable severidad de la enfermedad de dos cultivares de tomate injertados en patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

Tratamiento	Media
B+Shanty (Berenjena + Shanty)	0.0 a
B+Pony (Berejena + Pony)	0.0 a
S+Pony (Tomate INTA L7 +Pony)	15.03 b
S+Shanty (Tomate INTA L7 +Shanty)	18.30 c

#### 5.4.4. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad

El análisis de varianza detectó diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ;  $CV = 47.45$  y  $R^2 = 0.98$ ) entre tratamientos evaluados con respecto al área bajo la curva de progreso de *Rasltonia solanacearum* (ABCPRS) (Cuadro 12). El valor del ABCPE del tratamiento S+Shanty presentó el mayor acumulado de la enfermedad con 2929%, el segundo tratamiento con mayor ABCPE acumulado fue S+Pony con 829%. En el tratamiento de berenjena el ABCPE fue cero.

Cuadro 12. Área bajo de la curva del progreso de *Rasltonia solanacearum* de cultivares de solanáceas injertados en dos portainjertos tolerante a la bacteria

Tratamientos	Repetición			Total ABCPRS	Media por tratamiento ABCPRS	Media por día ABCPRS	Tukey
	1	2	3				
B+Pony	0	0	0	0	0	0.00	c
B+Shanty	0	0	0	0	0	0.00	c
S+Pony	942	829	612	2383	794	49.65	b
S+Shanty	954	1067	908	2929	976	61.02	a

Según la prueba estadística de Tukey se forman tres grupos con medias diferentes (Cuadro 12) siendo el tratamiento S+Shanty el que presentó media de 61.02% significativamente diferente en relación al segundo grupo tratamientos S+Pony 49.65% y los tratamientos B+Pony y B+Shanty forman el tercer grupo con media de 0%, la enfermedad no se desarrolló, aunque en los tejidos habían presencia de la bacteria.

Al analizar las interacciones del ABCPRS entre el ddi x tratamiento el análisis de varianza demostró que existe diferencia significativa en la interacción ( $p = 0.0001$ ;  $\alpha = 0.05$ ) el desarrollo de la enfermedad inicio en diferentes momentos, siendo los tratamientos S+Shanty y S+Pony los primeros en iniciar la enfermedad, lo que ratifica que el portainjerto de tomate de INTA L7 puede presentar la enfermedad en baja incidencia a como se reporta en la primera etapa de esta investigación.

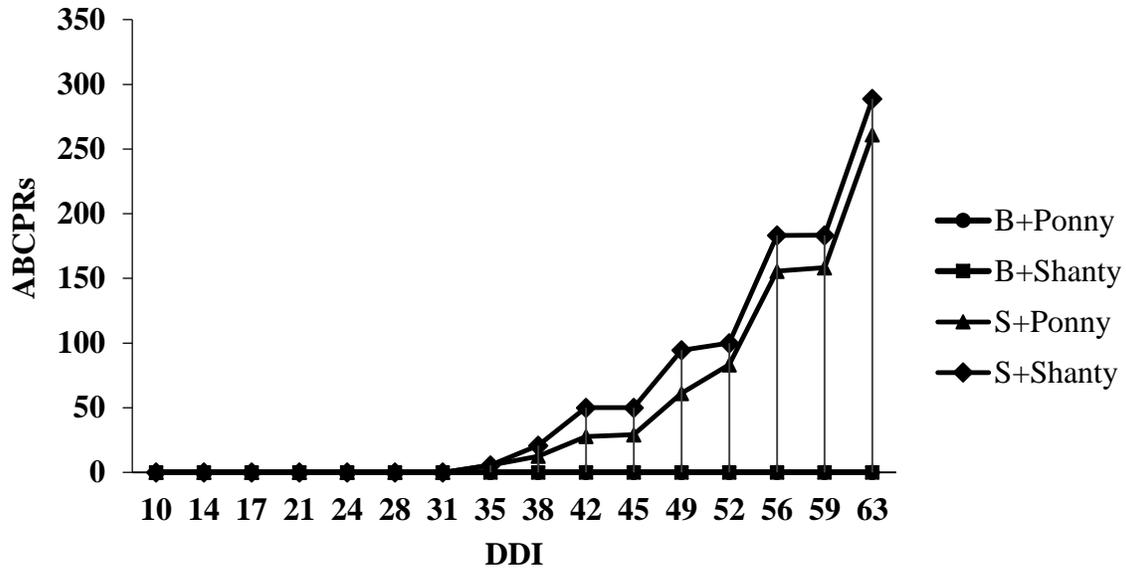


Figura 15: Comportamiento del ABCPE de dos cultivares de tomate injertados en dos patrones tolerantes a una cepa de *Ralstonia solanacearum* bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

En la Figura 15 se comparan los diferentes tratamientos en el tiempo días después de inoculado (ddi), se observó que en los primeros 31 ddi, la enfermedad no se presentó, el comportamiento fue similar en todos los tratamientos, sin embargo, a partir del día 35 ddi los tratamientos que tenían como portainjerto Tomate (S+Shanty y S+Pony) iniciaron la enfermedad con promedios de ABCPRs para S+Shanty y S+Pony de 5.55; para los injertos con portainjertos de berenjena presentaron un ABCPRs de cero durante el ensayo. El comportamiento del ABCPE del tratamiento S+Shanty fue superior durante todo el ciclo del ensayo, en relación a los otros tratamientos, al completar la toma de datos a los 63 ddi el tratamiento S+Shanty y S+Pony acumularon medias de 288.89 y 261.10 respectivamente; entre ambos tratamientos estadísticamente hay diferencias significativas.

En general la inoculación de la bacteria *Ralstonia solanacearum* en los cultivares injertados en dos portainjertos permitió verificar que el portainjerto de berenjena tolera la enfermedad en condiciones de casa malla, esto no quiere decir que en suelos infestados por esta bacteria los resultados de 0% de presencia sean iguales, pero puede ser una alternativa para disminuir los efectos drásticos de la enfermedad de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

## VI. CONCLUSIONES

La cepa de *Ralstonia solanacearum* utilizada en el estudio, se identificó y caracterizó bioquímica como biovar III, raza I.

La variedad berenjena belleza negra presenta mayor tolerancia a la inoculación artificial de la bacteria *Ralstonia solanacearum*; la variedad INTA – L7 presenta una tolerancia intermedia a la enfermedad; y la variedad INTA-L5 presenta baja tolerancia.

La variedad berenjena belleza negra como portainjerto de yemas de tomate de Pony express y Shanty es compatible para las técnicas de injertación evaluadas.

En los tratamientos cuyo portainjerto era berenjena, la incidencia se retardó en comparación con los otros tratamientos, mientras que la severidad fue cero en los tratamientos con portainjerto de berenjena.

## VII. RECOMENDACIONES

Utilizar en los sistemas de producción de tomate, la injertación como opción de manejo para disminuir la incidencia de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

Utilizar berenjena variedad belleza negra como patrón de injertación de los híbridos de tomate de alto rendimiento, para disminuir la incidencia de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

Eliminar las raíces adventicias que emiten las yemas injertadas y evitar los aporques excesivos en campo para que las yemas injertadas no tengan contacto con el suelo.

Realizar evaluaciones económicas de un sistema de producción de tomate injertados, bajo condiciones de campo abierto y a un nivel mínimo comercial.

Evaluar bajo otras condiciones ambientales (mayor humedad relativa, menor temperatura, mayor precipitación) el comportamiento de los portainjertos estudiados en esta investigación.

Evaluar en los portainjertos el comportamiento de la incidencia y severidad de la marchitez bacteriana utilizando diferentes cepas de *Ralstonia solanacearum*.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Albacete, A., Martínez-Andujar, C., Martínez-Pérez, A., Thompson, A.J., Dodd, I.C., and Pérez-Alfocea, F. 2015. Unravelling rootstock X scion interactions to improve food security. *Journal of Experimental Biology* 66:2211-2226.
- Alfredo Miguel, Marsal, J. I., & Goto, R. (2009). Injerto de berenjena. *Phytoma*.
- Arteaga, C., & Avendaño, S. 2004. Manejo de marchitez bacteriana del tomate (*Burkholderia solanacearum*), con ocho tratamientos a nivel de invernadero. Salvador.
- Bárceñas, M. 2017. Condiciones climáticas del Campus Agropecuario junio 2017. *Boletín Climático*.
- Bhowmik, D., Kumar, K. P. S., Paswan, S., and Srivastava, S. 2012. Tomato - a natural medicine and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1:33-43.
- Caicedo, A., and Peralta, I. 2013. Basic information about tomatoes and the tomato group. In *Genetics, Genomics and Breeding of Tomato* (Eds B. E. Liedl, J. A. Labate, J. R. Stommel, A. Slade & C. Kole), pp. 1–36. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Cardoso, S.C., Soares, A.C.F., Brito, A. de S., dos Santos, A.P., Laranjeira, F.F., de Carvalho, L.A. 2012. Evaluation of tomato rootstocks and its use to control bacterial wilt disease. *Ciências Agrarias, Londrina*. 33:595-604.
- Castaño, J. (1989). Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nematodos en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Colombia.
- Chen, H.-M., Lin, C.Y., Yoshida, M., Hanson, P., and Schafleitner, R. 2015. Multiplex PCR for detection of tomato yellow leaf curl disease and root-knot nematode resistance genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 9:44-56.
- Combet, E., Jarlot, A., Aidoo, K.E., and Lean, M.E.J. 2014. Development of a nutritionally balanced pizza as a functional meal designed to meet published dietary guidelines. *Public Health Nutrition* 17:2577-2586.
- Cornelis, G.R., and Van Gijsegem, F. 2000. Assembly and function of type III secretory systems. *Annual Review of Microbiology* 54:735-774.
- Edwards-Jones, G. 2008. Do benefits accrue to ‘pest control’ or ‘pesticides?’: a comment on Cooper and Dobson. *Crop Protection* 27:965-967.

- Elphinstone, J.G. 2009. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. In: Allen C, Prior P, Hayward AC, editors. The current bacterial wilt situation: a global overview. St. Paul (MN): APS Press; p. 9-28.
- Espinoza, V. P. (2015). Adaptación a un protocolo para la producción de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) injertadas bajo condiciones de El Zamorano, Honduras. Honduras.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). 2018. *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* and *R. syzygii* (*Ralstonia solanacearum* species complex). EPPO Bulletin 48:32-63.
- Fajinmi, A. A. and Fajinmi, O. B. 2010. An overview of bacterial wilt disease of tomato in Nigeria. Journal of Agriculture 5:242-247.
- FAOSTAT. 2018. Production – Crops – Area harvested / Production quantity Tomatoes – 2017. FAO Statistics online database, Food and Agriculture Organization, Rome. <https://www.fao.org/faostat/en> (acceso 21 junio 2019).
- Fintrac CDA. 2000. Solución arrancadora. Tegucigalpa, Honduras.
- French, E.B., Gutarra, L., Aley, P., and Elphinstone, J. 1995. Culture media for *Ralstonia solanacearum* isolation, identification and maintenance. Fitopatología 30:126-130.
- Furusawa, A., Uehara, T., Ikeda, K., Sakai, H., Tateishi, Y., Sakai, M., and Nakaho, K. 2019. *Ralstonia solanacearum* colonization of tomato roots infected by *Meloidogyne incognita*. Journal of Phytopathology 167:338-343.
- Genin, S., and Boucher, C. 2004. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. Annual Review of Phytopathology 42:107-134.
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., and Kononowicz, A.K. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 120:881-890.
- Gilardi, G., Gullino, M.L., Garibaldi, A. 2013. Critical aspects of grafting as a possible strategy to manage soil-borne pathogens. Scientiae Horticulturae 149:19-21.
- Google earth. 2017. Google earth. Obtenido de <https://earth.google.es>
- Grieneisen, M.L., Aegerter, B.J., Stoddard, C.S., and Zhang, M. 2018. Yield and fruit quality of grafted tomatoes, and their potential for soil fumigant use reduction. A meta-analysis. Agronomy for Sustainable Development 38:1-16.
- Grimault, V., Anais, G., and Prior, P. 1994. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plant with different levels of resistance to bacterial wilt. Plant Pathology 43:663-668.

- Gómez Zavala, L. A. (2010). Uso de injertos y contemodo de fenoles solubles totales en genótipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) resistentes y susceptible a *Fusarium oxysporum* sp. *licopersici* raza 3. . Montecillo, Mexico.
- Guan, W., and Zhao, X. 2012. Defense mechanisms involved in disease resistance of grafted vegetables. *HortScience* 47:164-170.
- Hanson, P.M., Wang, J.F., Licardo, O., Hanudin, S.Y.M., Hartman, G.L., Lin, Y.C., Chen, J.T. 1996. Variable reactions of tomato lines to bacterial wilt evaluated at several locations in Southeast Asia. *HortScience* 31:143-146.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* 29:65-87.
- Hazera. (2017). hazeralatinamerica.com. Recuperado el 2017, de <https://www.hazeralatinamerica.com/>.
- Hernández-Garboza, L. H., y Bustamante-Rojas, E. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 62:18-28.
- Horns, F., and Hood, M.E. 2012. The evolution of disease resistance and tolerance in spatially structured populations. *Ecology and Evolution* 2:1705-1711.
- Hortalizas.com. (2017). Hortalizas. Recuperado el 2017, de <https://www.hortalizas.com/directorio/producto/pony-express/>
- INFOAGRO. (Enero de 2017). Cutivo de berenjena. Obtenido de Cultivo de berenjena: <http://www.infoagro.com/hortalizas/berenjena.htm>
- International, C. 2009. Manual técnico para el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*). Programa de diversificación agrícola, 32.
- Jeong, Y., Kim, J., Kang, Y., Lee, S., and Hwang, I. 2007. Genetic diversity and distribution of Korean isolates of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Disease* 91:1277-1287.
- Karim, Z., and Hossain, M.S. 2018. Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potato: focus on natural bioactive compounds. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management* 4:73-92.
- Kim, B-S., French, E., Caldwell, D., Harrington, E.J., and Iyer-Pascuzzi, A.S. 2016. Bacterial wilt disease: Host resistance and pathogen virulence mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 95:37-43.
- Kimura, S., and Sinha, N. 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*): a model fruit-bearing crop. *Cold Spring Harbor Protocols* 3:1-9.

- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C. 1990. *Methods in phytobacteriology*. Budapest, Hungary. Budapest: Akadémiai Kiadó. 568 p.
- Knapp, S. 2002. Tobacco to tomatoes: A phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany* 53:2001-2022.
- Knapp, S., and Peralta, I.E. 2016. The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and its botanical relatives. In: *The Tomato Genome*. Causse, M., Giovannoni, J., Bouzayen, M., and Zouine, M. (eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 259 p.
- Kokalis-Burelle, N., Butler, D.M., Hong, J.C., Bausher, M.G., McCollum, G., Roskopf, E.N. 2016. Grafting and Paladin Pic-21 for nematode and weed management in vegetable production. *Journal of Nematology* 48:231-240.
- Kubota, C., McClure, M.A., Kokalis-Burelle, N., Bausher, M.G., Roskopf, E.N. 2008. Vegetable grafting: history, use, and current technology status in North America. *HortScience* 43:1664-1669.
- Kurabachew, H., and Wydra, K. 2013. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by, *Ralstonia solanacearum*. *Biological Control* 67:75-83.
- Larry, R. and Joanne, L. 2007. Genetic resources of tomato. In: Razdan, M.K. and A.K. Mattoo (eds.). *Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2. Tomato*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire. 658 p.
- Lee, J.M. 1994. Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods, and benefits. *HortScience* 29:235-239.
- Lelliott, R.A., and Stead, D.E. 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 216 p.
- Lin, C-H., Wu, D.L., Imai, H., Wang, J-F. 1998. Grafting with resistant tomato and eggplant rootstocks to control tomato bacterial wilt. *Plant Pathol Bulletin* 7:216-217.
- Liu, H., Zhang, S., Schell, M.A., and Denny, T.P. 2005. Pyramiding unmarked deletions in *Ralstonia solanacearum* shows that secreted proteins in addition to plant cell-wall-degrading enzymes contribute to virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18: 1296-1305.
- López Marín, L. M. (2016). *Manual técnico del cultivo de tomate (Solanum lycopersicum)*. San Jose, Costa Rica.

- López-Pérez, J.A., Le Strange, M., Kaloshian, I., and Ploeg, A.T. 2006. Differential response of Mi gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Crop Protection* 25:382-388.
- Louws, F.J., Rivard, C.L., and Kubota, C. 2010. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropod and weeds. *Scientiae Horticulturae* 127:127-146.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S.V., Machado, M.A., Toth, I., Salmond, G., and Foster, G.D. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13:614-629.
- McAvoy, T., Freeman, J.H., and Rideout, S.L. 2012. Evaluation of grafting using hybrid rootstocks for management of bacterial wilt in field tomato production. *HortScience* 47:621-625.
- Melgar, J.C., Rivera, J.M., Brown, J., y Weller, S. 2012. Marchitez bacteriana en solanáceas: su reconocimiento y manejo integrado. Lima, Cortés, Honduras: FHIA. 19 p.
- Mendoza, F. (4 de Septiembre de 2008). *El Nuevo Diario*.
- Menda, N., Strickler, S.R. and Mueller, L.A. 2013. Review: Advances in tomato research in the post-genome era. *Plant Biotechnology* 30:243-256.
- Meng, F. 2013. The virulence factors of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 4:1-3.
- Milling, A., Babujee, L., and Allen, C. 2011. *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants. *PLoS One* 6:1-10.
- Normas APA. (2016). <http://normasapa.net>. Recuperado el 2016, de <http://normasapa.net>: <http://normasapa.net/formula-muestra-poblacion>
- Nuez, F. 2001. *El cultivo del tomate*. Ediciones Mundi-Prensa. 793 p.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2008. Consensus document on compositional considerations for new varieties of tomato: Key food and feed nutrients, toxicants and allergens. Series on the safety of novel foods and feeds, No. 17, OECD, Paris. 42 p.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2017. Tomato (*Solanum lycopersicum*). In: Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment, Volume 7: OECD Consensus Documents, OECD Publishing, Paris. 246 p.

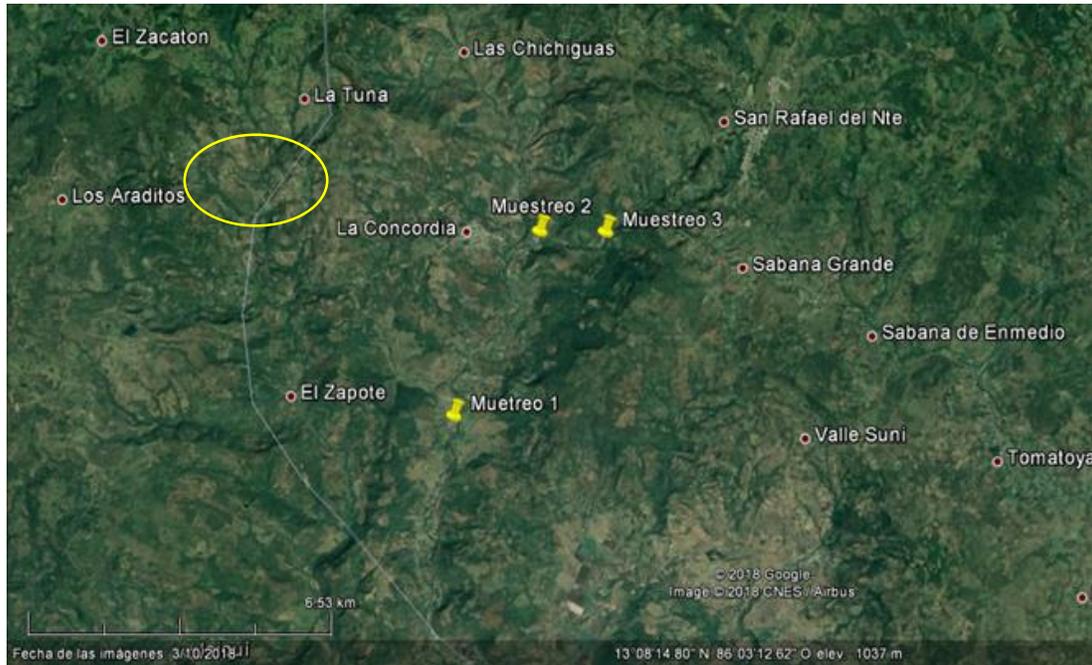
- Oztekin, G.B., Giuffrida, F., Tuzel, Y., Leonardi, C. 2009. Is the vigour of grafted tomato plants related to root characteristics? *Journal of Food Agriculture and Environment* 7:364-368.
- Palada, M.C., and Wu, D.L. 2007. Increasing off-season tomato production using grafting technology for peri-urban agriculture in Southeast Asia. *Acta Horticulturae* 742:125-131.
- Padilla-Bernal, L.E., Lara-Herrera, A., Reyes-Rivas, E., and González-Hernández, J.R. 2015. Assessing environmental management of tomato production under protected agriculture. *International Food and Agribusiness Management Review* 18:193–211.
- Peralta, I.E., Spooner, D.M., and Knapp, S. 2008. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic Botany Monographs* 84:1-186.
- Peregrine, W.T.H., Ahmad, K.B. 1982. Grafting – a simple technique for overcoming bacterial wilt in tomato. *Tropical Pest Management* 28:71-76.
- Peeters, N., Guidot, A., Vaillieu, F., and Valls, M. 2013. *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Molecular Plant Pathology* 14:651-662.
- Poussier, S., Trigalet-Demery, D., Vandewalle, P., Goffinet, B., Luisetti, J., and Trigalet, A. 2000. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* as assessed by PCR-RFLP of the *hrp* gene region, AFLP and 16S rRNA sequence analysis, and identification of an African subdivision. *Microbiology* 146:1679-1692.
- Poussier, S., Thoquet, P., and Trigalet-Demery, D. 2003. Host plant-dependent phenotypic reversion of *Ralstonia solanacearum* from non-pathogenic to pathogenic forms via alterations in the *phcA* gene. *Molecular Microbiology* 49:991-1003.
- Prior, P., and Fegan, M. 2005. Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. *Acta Horticulturae* 695:127-136.
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. 2009. *Experimental design and data analysis for biologists*. New York, USA. Cambridge University Press, New York US: Eighth printing.
- Ranc, N., Muñoz, S., Santoni, S., and Causse, M. 2008. A clarified position for *Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme* in the evolutionary history of tomatoes (Solanaceae). *Biomedcentral Plant Biology* 8:130.
- Ravelomanantsoa, S., Vernière, C., Rieux, A., Costet, L., Chiroleu, F., Arribat, S., Cellier, G., Pruvost, O., Poussier, S., Robène, I., Guérin, F., and Prior, P. 2018. Molecular epidemiology of bacterial wilt in the Madagascar highlands caused by Andean (Phylotype IIB-1) and African (Phylotype III) brown rot strains of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Frontier in Plant Science* 8:1-17.

- Ríos-Morales, G. 2007. Distribución y variabilidad de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith, agente causal de marchitez bacteriana en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L), en tres departamentos del norte de Nicaragua (Estelí, Matagalpa y Jinotega). Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía. Managua, NI. 44 p.
- Rivard, C.L., O'Connell, S., Peet, M.M., Welker, R.M., and Louws, F.J. 2012. Grafting tomato to manage bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in the southeastern United States. *Plant Disease* 96:973-978.
- Safni, I., Cleenwerck, I., De Vos, P., Fegan, M., Sly, L., and Kappler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64:3087-3103.
- Sánchez Leal, L. C. 2005. Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas. 21.
- Santos, B.M., Gilreath, J.P., Motis, T.N., Noling, J.W., Jones, J.P., and Norton, J.A. 2006. Comparing methyl bromide alternatives for soilborne disease, nematode and weed management in fresh market tomato. *Crop Protection* 25:690-695.
- Shaner, G., & Finney, R. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67, 1051-1056.
- Silva, R.S., Kumar, L., Shabani, F., and Picanço, M.C. 2017. Assessing the impact of global warming on worldwide open field tomato cultivation through CSIRO-Mk3-0 global climate model. *Journal of Agricultural Science* 155:407-420.
- Singh, S., Singh, D.R., Chand, S., Birah, A., Roy, S.D. 2013. Analysis of perspectives of self-sufficiency in vegetable production under tropical conditions. *International Journal of Vegetable Science* 21:53-68.
- Singh, S., Singh, D.R., Kumar, K., and Birah, A. 2014. Eco-friendly management modules for bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of tomato for protected cultivation in a tropical island ecosystem. *Biological Agriculture & Horticulture* 30:219-227.
- Spooner, D.M., Hettterscheid, W., Berg, R.G., and Branderburg, W.A. 2003. "Plant nomenclature and taxonomy – an horticultural and agronomic perspective". *Horticultural Reviews* 28:1-60.
- Spooner, D.M., Peralta, I.E. and S. Knapp, S. 2005. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. *Taxon* 54:43-61.

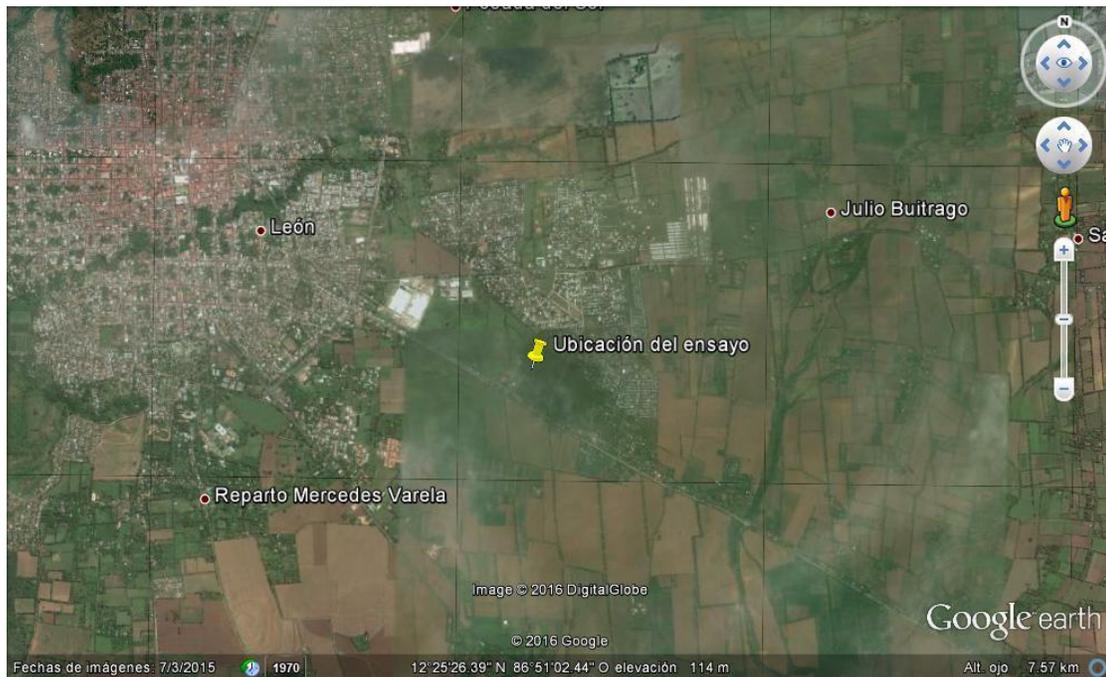
- Swarnam, T.P., Velmurugan, A. 2013. Pesticide residues in vegetable samples from the Andaman Islands. India. Environmental Monitoring and Assessment 185:6119-6127.
- Tahat, M.M., Siiam, K., and Othman, R. 2012. The potential of endomycorrhizal fungi in controlling tomato bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* under glasshouse conditions, African Journal of Biotechnology 11:13085-13094.
- Valdes, V.M., and Gray, D. 1998. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum* [L.] Karsten). Seed Science and Technology 26:309-318.
- Veresoglou, S.D., Barto, E.K., Menexes, G., Rillig, M.C. 2013. Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. Plant Pathology 62:961-969.
- Villa, J. E., Tsuchiya, K., Horita, M., Natural, M., Opina, N., and Hyakumachi, M. 2005. Phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum* species complex strains from Asia and other continents based on 16S rDNA, endoglucanase, and hrpB gene sequences. Journal of General Plant Pathology 71:39-46.
- Villasana-Rojas, J. A. 2010. Efecto del injerto en la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo condiciones de invernadero en Nuevo León. Tesis M.C. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. Nuevo León, MX. 84 p.
- Wicker, E., Lefeuvre, P., de Cambiaire, J.-C., Lemaire, C., Poussier, S., and Prior, P. 2012. Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. ISME Journal 6:961-974.
- Youssef, S.A., and Tartoura, K.A.H. 2013. Compost enhances plant resistance against the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* via up-regulation of ascorbate-glutathione redox cycle. European Journal of Plant Pathology 137:821-834.
- Zhang, Y.Y., Li, H.J., Shen, Y.H., Li, H.X. 2010. Screening of tomato rootstocks with resistance to bacterial wilt. China Vegetables 2:68-70.
- Zhu, H.H., and Yao, Q. 2004. Localized and systemic increase of phenols in tomato root induced by *Glomus versiformae* inhibits *Ralstonia solanacearum*. Journal of Phytopathology 152:537-542.

## IX. ANEXOS

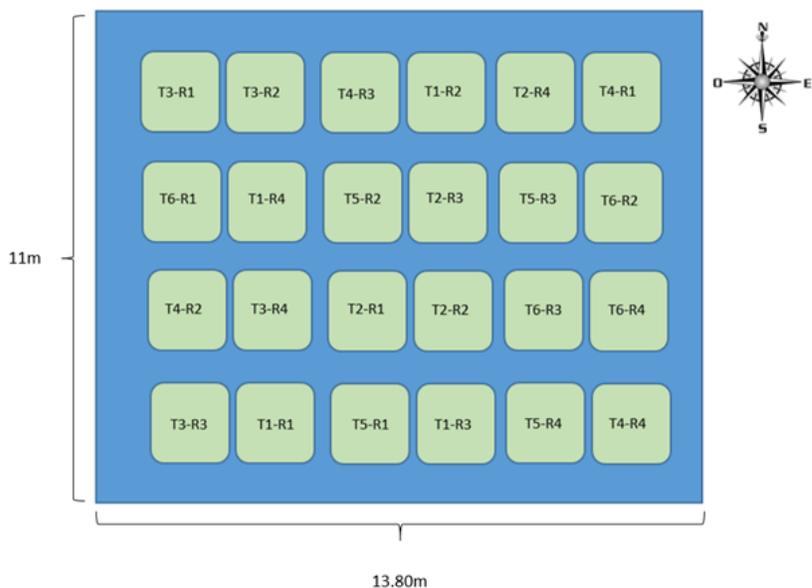
Anexo 1: Puntos de recolectas de plantas con síntomas de marchitez bacteriano (Google earth, 2017).



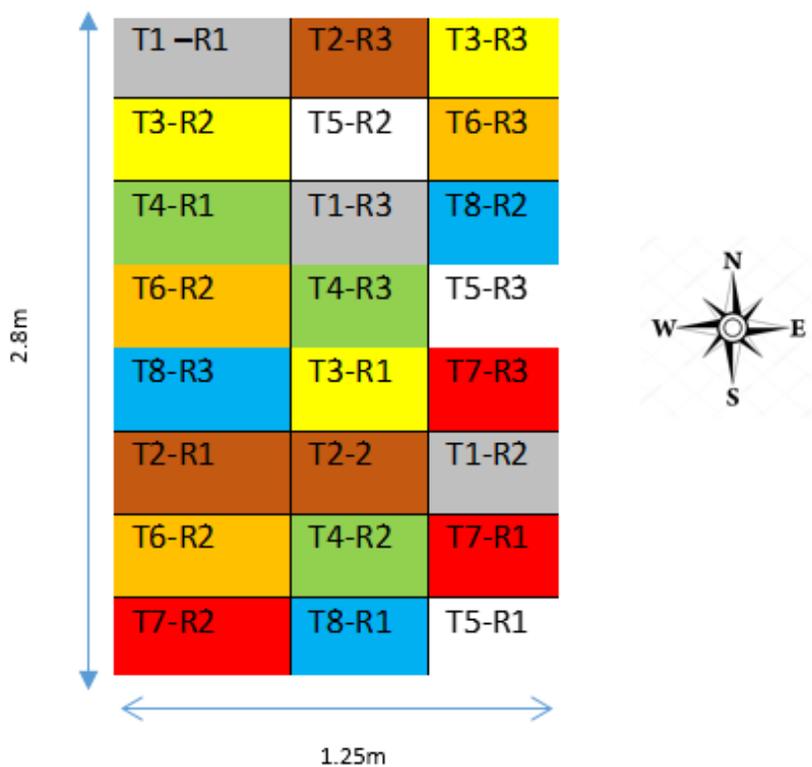
Anexo 2. Ubicación del área del ensayo de la fase de casa malla (Google earth, 2017).



Anexo 3: Croquis de campo de la etapa I selección de porta injertos tolerantes a marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacerum*.



Anexo 4: Diseño de campo de las repeticiones por tratamiento.



Anexo 5: Diseño de campo de evaluación de cultivares injertados en portainjertos tolerantes a *Ralstonia solanacearum*, bajo las condiciones del Campus Agropecuario de la UNAN León.

