

EVALUACIÓN DE PRODUCTOS INDUCTORES DE RESISTENCIA EN EL MANEJO DE MÉDULA HUECA DEL TOMATE (*PSEUDOMONAS SPP.*). TEMPORADA 2015-2016

Diego Maeso, Alfredo Fernández, Wilma Walasek
Programa Producción Hortícola. Sección Protección Vegetal. INIA Las Brujas

Resumen

La médula hueca causada por *Pseudomonas* spp. (*P. corrugata*, *P. mediterránea*, entre otras) es frecuente en cultivos de tomate en invernaderos sin control de temperatura en épocas con alta amplitud térmica. Provoca muerte de plantas en periodos de alto valor de la producción. El control se basa en aplicaciones foliares de cúpricos con las consecuentes desventajas (fitotoxicidad, acumulación en suelo, resistencia, control ineficiente). Actualmente se han desarrollado productos comerciales que promueven mecanismos de defensa de las plantas (resistencia sistémica adquirida, SAR, o resistencia sistémica inducida, ISR). El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de algunos de estos productos en el manejo de la médula hueca. En tres experimentos bajo cubierta plástica se compararon: Nacillus (*Bacillus* spp.) y Baktillis (*Bacillus subtilis*) 300 g/100 l (pre-inoculación) y 500 g/100 l (pos-inoculación), Hidro Cup (hidróxido de cobre) 300 g/100 l, Biorend Cobre (quitosano + sulfato de cobre pentahidratado) 300 g/100 l, Bion (acibenzolar S metil) 5 g/100 l, Bio D (quelatos de hidrácido de ácido cítrico de Mn y Zn) 500 ml/100 l frente a un testigo sin tratar. Los productos fueron aplicados al follaje en 8 (2015, 4 pre y 4 posinoculación), 12 (abril-agosto 2016, 6 + 6), y 6 (agosto-diciembre 2016, 3+3) oportunidades. La inoculación se realizó mediante inyección de 50 ml de suspensión bacteriana (1×10^8 UFC/ml) en la axila de una hoja 80-90 días después de la siembra. Se usó un diseño de bloques al azar, con parcelas de 10 plantas. Se evaluó: porcentaje de plantas con síntomas externos, largo de las lesiones, y largo de médula afectada. Nacillus y Baktillis (pre y pos-inoculación), Bio D y Bion presentaron menor porcentaje de plantas afectadas e intensidad de síntomas. Los resultados muestran el potencial de este tipo de productos en el manejo de enfermedades bacterianas en tomate.

Introducción

La médula hueca causada por *Pseudomonas* spp. (*P. corrugata*, *P. mediterránea*, entre otras) es frecuente en cultivos de tomate en invernaderos sin control de temperatura en épocas con alta amplitud térmica. Provoca muerte de plantas en periodos de alto valor de la producción. El control se basa en aplicaciones foliares de cúpricos. Actualmente se han desarrollado productos comerciales que promueven mecanismos de defensa de las plantas (resistencia sistémica adquirida, SAR, o resistencia sistémica inducida, ISR). El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de algunos de estos productos en el manejo de la médula hueca.

Materiales y Métodos

Material vegetal: Tomate cv. Ceta en cultivos bajo cubierta (macrotúneles) realizados en campo experimental de INIA LB.

Diseño experimental: Bloques al azar con cuatro repeticiones (repeticiones formadas por cada macrotúnel). Las parcelas constaban de diez plantas cultivadas en macetas de 20 l con sustrato estéril.

Tratamientos: Los tratamientos fueron aplicados al follaje cada 7-10 días con máquina aplicadora CO₂ a mochila (R&D sprayers, EEUU) con un gasto promedio de agua de 1000 l/ha. En el cuadro 1 se presentan detalles de los tratamientos y en el cuadro 2 de los cultivos de cada experimento.

Inoculación: Las plantas fueron inoculadas mediante la inyección en la axila de una hoja madura de 50 ul de una suspensión bacteriana de aproximadamente 1×10^8 UFC/ml de un aislado local de *Pseudomonas* sp. causante de médula hueca.

Análisis estadístico: Se realizó un análisis de variancia y posterior separación de medias mediante la prueba Duncan. Para ello se utilizó el paquete estadístico Infostat de uso libre (www.infostat.com.ar).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en el ensayo.

Tratamiento	Principio activo	Dosis/100 l	Número de aplicaciones y momento en cada temporada	
			Preventivas	Posinoculación
1. Nacillus preventivo	<i>Bacillus subtilis</i> y otros	300 g	4 10 6	4 2 --
2. Nacillus posinoculación	<i>Bacillus subtilis</i> y otros	500 g	-- -- --	4 6 3
3. Baktillis preventivo	<i>Bacillus subtilis</i>	300 g	4 10 6	4 2 --
4. Baktillis posinoculación	<i>Bacillus subtilis</i>	500 g	-- -- --	4 6 3
5. HidroCup 77%	Hidróxido de cobre	300 g	4 10 6	4 2 --
6. Biorend cobre	Quitosano y Sulfato de Cobre Penta hidratado	150 cc	4 10 6	4 2 --
7. Bion	Acibenzolar S methyl	5 g	4 10 6	4 2 --
8. Bio D Zn Mn	Quelato de hidrácidos de ácido cítrico.	500 cc	4 10 6	4 2 --
9. Testigo sin tratar				

Experimentos:

Se realizaron tres experimentos durante: 1) agosto-diciembre 2015, 2) marzo-agosto 2016 y 3) agosto-diciembre 2016. En el cuadro 2 se muestran las fechas de siembra, trasplante, la temperatura media y la amplitud térmica en cada ciclo.

Cuadro 2. Información correspondiente a los experimentos.

Experimento	1	2	3
	Agosto-diciembre 2015	Marzo-agosto 2016	Agosto-diciembre 2016
Siembra	26/8	28/3	19/8
Transplante	16/10	17/5	47/10
Inoculación	14/11	1/7	14/11
Temperatura media en el ciclo	16,2°C	15,9°C	21,2°C
Amplitud térmica	24,2 °C	16,7°C	16,1°C
Inicio aplicaciones preventivas	12/10	26/4	22/9
Inicio aplicaciones posinoculación	12/11	5/7	14/11



Figura 2. Inoculación. Izquierda infiltración con solución bacteriana en axila de hoja, centro colocación de palillo en herida y derecha asperjado periódico de la zona.

Evaluaciones:

A partir de la aparición de la enfermedad se evaluó semanalmente el porcentaje de plantas que presentaban síntomas externos en la zona inoculada o lejos de ella (incidencia). La severidad fue evaluada por la longitud de la lesión en milímetros. También se registró el porcentaje de plantas que presentaban raíces adventicias.

A fin de ciclo se cortaron longitudinalmente los tallos de todas las plantas para examinar la presencia de desórdenes (coloración anormal de vasos y/o médula, médula esponjosa, etc.), calculándose el porcentaje de plantas afectadas y el porcentaje promedio de médula amarronada (dividiendo por la altura de planta a fin de ciclo).

Todos los valores en porcentaje fueron transformados por la fórmula $\arcsen \sqrt{\%}$ previo a su análisis estadístico.

Se evaluó la altura de las plantas semanalmente. Ante la aparición de síntomas de desórdenes nutricionales en uno de los tratamientos en el experimento 2 se realizó un análisis foliar de contenido de Fe-Zn-Mn.

Resultados

Evolución de la enfermedad

En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los resultados de las evaluaciones de incidencia y severidad de síntomas en los tres experimentos que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

En el experimento 1 (cuadro 3) los valores menores de porcentaje de plantas con síntomas externos a 27 días después de la inoculación fueron presentados por los tratamientos con Nacillus y Baktillis iniciados previo a la inoculación, con Baktillis pos inoculación, e HidroCup.

Cuadro 3. Porcentaje de plantas con síntomas externos de tallo hueco. Experimento 1.

Tratamiento	4/12 20 dpi ¹	11/12 27 dpi
1. Nacillus preventivo	43 ab ²	45 ab
2. Nacillus posinoculación	35 a	30 a
3. Baktillis preventivo	40 ab	33 a
4. Baktillis posinoculación	30 a	28 a
5. HidroCup 77%	43 ab	30 a
6. Biorend cobre	65 c	58 bc
7. Bion	43 ab	38 ab
8. Bio D Zn Mn	23 a	43 ab
9. Testigo sin tratar	60 bc	68 c

¹ dpi: días pos inoculación

² Los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al 5% por la prueba Duncan de rangos múltiples

En el experimento 2 los tratamientos que recibieron aplicaciones con Bion, Baktillis y Nacillus preventivamente presentaron el menor porcentaje de plantas con síntomas externos a los 26 días después de la inoculación. Respecto a la severidad de estas lesiones los tratamientos que presentaron menor longitud de lesiones externas a los 40 días después de la inoculación

fueron los que recibieron aplicaciones de Nacillus y Baktillis preventivamente y de Bio D. Estos tratamientos a su vez también fueron los que presentaron menor porcentaje de plantas con médula amarronada a fin del experimento.

Cuadro 4. Porcentaje de plantas con síntomas externos e internos de tallo hueco y longitud de lesiones externas. Experimento 2.

Tratamiento	% plantas con síntomas externos		Largo lesiones (mm)	promedio	
	14 dpi ¹	26 dpi		externas	% promedio de médula amarronada
			33 dpi	40 dpi	53 dpi
1. Nacillus preventivo	48 ab ²	50 ab	2 a	4 a	6 a
2. Nacillus posinoculación	58 abc	63 abcd	5 ab	8 ab	8 ab
3. Baktillis preventivo	35 a	40 ab	4 ab	6 a	6 a
4. Baktillis posinoculación	60 abc	65 bcd	4 ab	9 ab	8 ab
5. HidroCup 77%	70 bc	78 cd	8 b	16 b	7 ab
6. Biorend cobre	58 abc	60 abcd	5 ab	7 ab	7 ab
7. Bion	35 a	35 a	4 a	11 b	11 b
8. Bio D Zn Mn	40 ab	50 abc	6 a	4 a	4 a
9. Testigo sin tratar	83 c	83 d	11 ab	8 ab	8 ab

¹ dpi: días pos inoculación

² Los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al 5% por la prueba Duncan de rangos múltiples

En el experimento 3 los tratamientos que recibieron aplicaciones con Bio D, Nacillus y Baktillis preventivamente, Biorend Cobre y Bion presentaron menor porcentaje de plantas con síntomas externos a los 17 días pos inoculación. Todos los tratamientos presentaron menores valores de largo de lesiones externas y porcentaje de plantas con lesiones internas frente al testigo sin tratar. También en el experimento 3 se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en la presencia de raíces adventicias siendo los tratamientos a base de Bio D, Bion los que presentaron menor porcentaje de plantas con este desorden.

Cuadro 5. Porcentaje de plantas con síntomas externos e internos de tallo hueco y longitud de lesiones externas. Experimento 3.

Tratamiento	% plantas con síntomas externos	Largo promedio lesiones externas (mm)	% promedio de plantas con médula amarronada	% plantas con raíces adventicias	
				17 dpi	37 dpi
1. Nacillus preventivo	31 ab ²	29 a	20 a	31 bcd	59 bc
2. Nacillus posinoculación	61 bc	58 ab	8 a	51 d	83 c
3. Baktillis preventivo	38 ab	33 a	30 a	8 a	55 abc
4. Baktillis posinoculación	55 abc	31 a	31 a	39 cd	74 c
5. HidroCup 77%	50 abc	39 a	8 a	18 ab	51 abc
6. Biorend cobre	40 ab	39 a	18 a	28 bc	73 c
7. Bion	43 ab	38 a	6 a	3 a	23 ab
8. Bio D Zn Mn	24 a	22 a	3 a	5 a	16 a
9. Testigo sin tratar	78 c	99 b	80 b	44 cd	82 c

¹ dpi: días pos inoculación

² Los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al 5% por la prueba Duncan de rangos múltiples

En el cuadro 6 se presentan resultados de la evaluación de altura de plantas correspondientes al experimento 2 en el que se observaron diferencias estadísticamente significativas a los 113 días luego de la siembra. Los tratamientos cuyas plantas presentaron menor altura promedio fueron los que recibieron aplicaciones a base de Baktillis (posinoculación), Bion y Bio D. Las diferencias desaparecieron a los 141 días luego de la siembra.

Cuadro 6. Altura promedio de plantas en el experimento 2.

Tratamiento	Altura promedio de planta (cm)	
	19/7 (113 dds ¹)	16/8 (141 dds)
1. Nacillus preventivo	105 bc ²	127
2. Nacillus posinoculación	106 bc	125
3. Baktillis preventivo	101 abc	130
4. Baktillis posinoculación	95 a	120
5. HidroCup 77%	105 bc	130
6. Biorend cobre	108 c	133
7. Bion	99 ab	126
8. Bio D Zn Mn	99 ab	127
9. Testigo sin tratar	103 abc	127

¹ dds: días después de la siembra

² Los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al 5% por la prueba Duncan de rangos múltiples

También en el experimento 2 se observaron a los 113 días pos siembra síntomas de deficiencia de hierro en el tratamiento que recibió aplicaciones de Bio D Zn Mn. En el cuadro 7 se presentan los resultados del análisis foliar de plantas de los diferentes tratamientos. Como se observa ese tratamiento presentó menores valores de hierro y valores más altos de Zn y Mn lo cual pudo haber provocado los síntomas observados.

Cuadro 7. Resultados del análisis foliar efectuado en plantas del experimento 2 (113 días pos siembra).

Tratamiento	Hierro	Zinc	Manganeso
1. Nacillus preventivo	144	74	194
2. Nacillus posinoculación	110	64	179
3. Baktillis preventivo	117	62	192
4. Baktillis posinoculación	108	64	177
5. HidroCup 77%	134	71	223
6. Biorend cobre	119	68	215
7. Bion	120	70	229
8. Bio D Zn Mn	105	157	256
9. Testigo sin tratar	116	59	169

Conclusiones

- Los tratamientos presentaron diferencias en el porcentaje de plantas afectadas (incidencia) y la intensidad de síntomas externa e interna.
- Las parcelas tratadas con Nacillus, Baktillis, Bio-D y Bion mostraron en general menor incidencia y severidad de la enfermedad.
- Se deberá estudiar la evolución de la inducción y su persistencia para formular una recomendación de uso a nivel comercial.
- Un aspecto a destacar es que la resistencia inducida por estos productos es efectiva también para otras enfermedades del cultivo.

Bibliografía

Jacobsen, B. J., Zidack, N. K., & Larson, B.J. 2004. The role of Bacillus-based biological control agents in integrated pest management systems: Plant diseases. *Phytopathology* 94:1272-1275.

Garbelottl de Jall, N., Lulz, C., da Rocha Neto, A.C. & Di Plero, R.M. 2014. High-density chitosan reduces the severity of bacterial spot and activates the defense mechanisms of tomato plants. *Tropical Plant Pathology*, vol. 39(6):434-441, 2014.

Li, B., Shan, C., Ge, M., Wang, L., Fang, Y, Wang, Y. Xie, G. & Sun, G. 2013. Antibacterial Mechanism of Chitosan and its Applications in Protection of Plant from Bacterial Diseases. *Asian Journal of Chemistry*; Vol. 25, No. 18 (2013), 10033-10036.

Scortichini, M. 2014. Field efficacy of chitosan to control *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, the causal agent of kiwifruit bacterial canker. Eur. J. Plant Pathol. (2014) 140:887-892.

Scortichini, M. 2016. Field efficacy of a Zinc-copper-hydracid of citric acid biocomplex compound to reduce oozing from winter cankers caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Journal of Plant Pathology (2016), 98 (3), 651-655.

Ustun, N.; Demir, G.; Saygili, H., 2005. Possibilities for control of tomato pith necrosis by using copper compounds and plant activators. Acta Horticulturae 2005 No. 695 pp. 321-326

Walters, D., Walsh, D., Newton, A., & Lyon, G. 2005. Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology 95: 1368-1373.

Walters, D., Ratsep, J. & Havis, N. 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. Journal of Experimental Botany, Vol. 64, No. 5, pp. 1263-1280, 2013