



UNIVERSIDAD EARTH

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS EFICACES (EM) A
DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL MANEJO DE AÑUBLO
BACTERIANO EN EL CULTIVO DEL PALMITO (*Bactris gasipaes* K).**

EDWIN OLIVER VÁSQUEZ AGURTO

**Trabajo de Graduación presentado como requisito parcial para optar al título
de Ingeniero Agrónomo con el grado de Licenciatura**

Guácimo, Costa Rica

Diciembre, 2004

Trabajo de Graduación presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero Agrónomo con el grado de Licenciatura

Profesor Asesor

Shuichi Okumoto, Ph.D.

Profesor Asesor

Pánfilo Tabora, Ph.D.

Profesor Asesor

Edgar Alvarado, M.Sc.

Decano

Daniel Sherrard, Ph.D.

Candidato

Edwin Oliver Vásquez Agurto

Diciembre, 2004

DEDICATORIA

A mi adorada mamá Lidia.

A mi ejemplar papá Edwin.

A mi dulce hermanita Diana.

A mi hermano del alma Omar.

A todas las personas que amo...

AGRADECIMIENTO

A Dios por haber escuchado las oraciones de todas aquellas personas que me quieren mucho...

Atte.
Oliver

RESUMEN

La producción de pejibaye para palmito (*Bactris gasipaes K.*), se está viendo afectada por una nueva enfermedad denominada “añublo bacteriano”, se conoce como posible agente causal a la bacteria *Erwinia herbicola*. Dicha enfermedad causa lesiones cloróticas las cuales terminan secando la hoja, ocasionando una reducción en la cantidad de tallos cosechados y por consiguiente una baja en la productividad. Hasta la fecha, no se ha conocido un método de control efectivo.

La investigación se llevó a cabo en la Universidad EARTH, Costa Rica, con el fin de evaluar el efecto de EM (Microorganismos eficaces) sobre la reducción de la infección de la enfermedad en el campo y en laboratorio. El experimento de campo se realizó en un diseño de Bloques Completamente al Azar (BCA) con cinco repeticiones y con tres tratamientos, 50% EM Activado (EMA), 25% EMA y un testigo. Se realizó la prueba *in vitro* para evaluar el efecto antagónico de EM hacia el agente causal *Erwinia herbicola* por medio de la metodología de antagonismo en un medio de cultivo.

En el campo, las aplicaciones de 50% y 25% EMA redujeron de forma altamente significativa la infección de la enfermedad en comparación con el testigo, esto de acuerdo al valor de ABCPE (Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad). El tratamiento con 50% EMA fue el mejor, alcanzando una reducción aproximada del 30%. En la prueba *in vitro*, se observó el efecto antagónico de EMA al patógeno *E. herbicola*, por lo cual el antagonismo fue considerado como uno de los factores que aportan en el mecanismo de acción para la reducción de la enfermedad.

Palabras clave: Palmito, añublo bacteriano, *Erwinia herbicola*, EM, Microorganismos eficaces, infección, ABCPE, campo, *in vitro*, antagonismo

Vásquez, EO. 2004. Efecto de la aplicación de microorganismos eficaces (EM) a diferentes concentraciones para el manejo de añublo bacteriano en el cultivo del palmito (*Bactris gasipaes K.*). Proyecto de Graduación Lic. Ing. Agr., Guácimo, CR, Universidad EARTH. 48 p.

ABSTRACT

The production of pejibaye for palmito (*Bactris gasipaes K.*), is being affected by a new disease called “bacterial mildew”. The bacteria *Erwinia herbicola* is known as a possible causal agent. This disease causes chlorosis, which ends up drying plant leaves, causing a reduction in the quantity of harvested stems (yield). Up to now, there has not been an effective control method known.

This research was carried out at EARTH University in Costa Rica, in order to evaluate the effect of EM (Efficient microorganisms) on the reduction of the disease infection in the field and in the laboratory. The field experiment was designed with CRBD (Completely Randomized Block Design) having three treatments with five replications of 50% EM Activated (EMA), 25% EMA and a control group. The *in vitro* test was done to evaluate EMA's antagonistic effect on the causal agent *Erwinia herbicola* through the methodology of antagonism in a culture medium.

In the field, applications of 50 % and 25 % EMA reduced highly significantly the disease, in comparison with the control group, using AUCDP's value (Area Under the Curve of the Disease Progress). The 50 % EMA treatment was better, reaching an approximate reduction of 30%. In the *in vitro* test the EMA's antagonistic effect to pathogenic *E. herbicola* was observed. This antagonism was considered to be one of the action mechanisms for disease reduction.

Key words: palmito, bacterial mildew, *Erwinia herbicola*, EM, Effective microorganisms, infection, AUCDP, field, *in vitro*, antagonism.

Vásquez, EO. 2004. Efecto de la aplicación de microorganismos eficaces (EM) a diferentes concentraciones para el manejo de añublo bacteriano en el cultivo del palmito (*Bactris gasipaes K.*). Proyecto de Graduación Lic. Ing. Agr., Guácimo, CR, Universidad EARTH. 48 p.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
TABLA DE CONTENIDO.....	VII
LISTA DE CUADROS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE ANEXOS.....	XII
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3 REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1 GENERALIDADES DEL PALMITO.....	5
3.2 ENFERMEDADES DEL PALMITO.....	7
3.3 EL AÑUBLO BACTERIANO DEL PALMITO.....	7
3.3.1 <i>Historia y Actualidad de la Enfermedad</i>	9
3.3.2 <i>Diseminación de la Enfermedad</i>	10
3.4 MANEJO ACTUAL DE LA ENFERMEDAD.....	11
3.5 UNA NUEVA VARIEDAD.....	14
3.6 POSIBILIDAD DE MANEJO DE LA ENFERMEDAD CON LA TECNOLOGÍA EM.....	15
4 METODOLOGÍA.....	17
4.1 EXPERIMENTO EN CAMPO.....	17
4.1.1 <i>Ubicación</i>	17
4.1.2 <i>Diseño Experimental</i>	17
4.1.3 <i>Aplicación de los tratamientos</i>	18
4.1.4 <i>Toma de datos y variables evaluadas</i>	19
4.1.5 <i>Análisis estadístico</i>	21
4.2 EXPERIMENTO EN LABORATORIO.....	22
4.2.1 <i>Aislamiento del Patógeno</i>	22
4.2.2 <i>Prueba de Antagonismo</i>	25
4.2.3 <i>Toma de datos y análisis de experimentos</i>	28
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29

5.1	EXPERIMENTO EN EL CAMPO	29
5.1.1	<i>Índice de Severidad</i>	29
5.1.2	<i>Condiciones climáticas durante el período de evaluación</i>	34
5.2	EXPERIMENTO EN LABORATORIO.....	37
6	CONCLUSIONES	40
7	RECOMENDACIONES	41
8	LITERATURA CITADA	42
9	ANEXOS	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro 1. Exportaciones de palmito (<i>Bactris gasipaes</i> K.) en Costa Rica.....	6
Cuadro 2. Grados de severidad evaluados en campo de acuerdo al avance del añublo bacteriano del palmito. Universidad EARTH, 2004.....	19
Cuadro 3. Tratamientos aplicados a los orificios, prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.....	28
Cuadro 4. Análisis de varianza del índice de severidad en la preevaluación. Universidad EARTH, 2004.....	29

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Pejibaye para palmito, <i>Bactris gasipaes</i> . Universidad EARTH, 2004.	5
Figura 2. Presencia del añublo bacteriano <i>Erwinia herbícola</i> en plantaciones de palmito en Costa Rica.	8
Figura 3. Distribución de los bloques y tratamientos 1, 2 y 3 (testigo, 25% y 50% EMA respectivamente), en el campo experimental. Universidad EARTH, 2004.	18
Figura 4. Diferentes índices de severidad, de acuerdo a su grado de infección. Universidad EARTH, 2004.	20
Figura 5. Cepa de Palmito, candela e hijos, segunda hoja del segundo hijo, hoja evaluada. Universidad EARTH, 2004.	21
Figura 6. Metodología de aislamiento de la bacteria. Laboratorio de Ciencias Naturales. Universidad EARTH, 2004.	24
Figura 7. Aislamiento de <i>Erwinia herbícola</i> (añublo bacteriano del palmito) en medio de cultivo de Agar nutriente, Laboratorio de Ciencias Naturales, Universidad EARTH, 2004.	25
Figura 8. Metodología de prueba de antagonismo. Laboratorio de Ciencias Naturales. Universidad EARTH, 2004.	27
Figura 09. Efecto de los tratamientos 25%, 50% EMA y testigo, sobre el índice de severidad del añublo bacteriano del palmito, durante el período de evaluación. Universidad EARTH, 2004.	30

Figura 10. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad del añublo bacteriano en el cultivo del palmito. Universidad EARTH, 2004.	32
Figura 11. Diferencias entre las ABCPE del testigo absoluto y los tratamientos 50% EM y 25% EM. Universidad EARTH, 2004.	32
Figura 12. Índice de severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos de acuerdo a su grado de infección o avance, antes de empezar las aplicaciones y al finalizar las mismas. Universidad EARTH, 2004.	34
Figura 13. Relación de la precipitación, humedad relativa y la temperatura con el índice de severidad de la enfermedad. Datos climatológicos promedios o totales de 7 días previos a la evaluación. Universidad EARTH, 2004.	36
Figura 14. Resultados visuales de los halos de transparencia, de los tratamientos 1, 2, 3, 4,5 y 6 (100%EMA, 50%EMA+Agua, 25%EMA, 50%EMA+tuna y 100% tuna sola respectivamente) Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.	38
Figura 15. Diámetro promedio en milímetros alcanzado por cada tratamiento. Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.	39

LISTA DE ANEXOS

Anexo	Página
Anexo 1. Severidad del añublo bacteriano según testigo y tratamientos 25% y 50% EM, a través del período de evaluación. Universidad EARTH, 2004.	46
Anexo 2. Análisis de varianza de los datos de área bajo la curva de progreso de la enfermedad. Universidad EARTH, 2004.	46
Anexo 3. Temperatura (TEMP), precipitación (PP) y humedad relativa (% HR) en el área de estudio durante el período de evaluación. Estación meteorológica, Universidad EARTH, 2004.	47
Anexo 4. Datos obtenidos del análisis de correlación Pearson entre severidad y variables climáticas. Universidad EARTH, 2004.	47
Anexo 5. Área de transparencia o inhibición promedio en mm ² alcanzado por cada tratamiento. Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.	48

1 INTRODUCCIÓN

El pejibaye para palmito (*Bactris gasipaes Kunth*) es una de las palmas más importantes de las que crecen en la región tropical, junto con el cocotero (*Cocos nucifera* L.) y la palma aceitera (*Elaeis guineensis*) (León 1987). Este cultivo fue sin duda una de las palmas más importante en la América precolombina, siendo el principal cultivo de los aborígenes del trópico húmedo americano por lo mismo que posee registrado alrededor de 200 nombres (Mora Urpí 1983).

Estudios más recientes sobre este particular cultivo concluyen que han sido descritas 187 especies en el género *Bactris*, de las cuales han sido situadas en alguna ocasión bajo el nombre genérico de *Guilielma*. Aún así varios de estos no resultan siempre siendo el mismo cultivo, por lo tanto aquellos que resulten no ser sinónimos deben constituir las especies más cercanas genéticamente al palmito y por lo tanto deben considerarse de valor potencial en el mejoramiento genético del cultivo.

Este cultivo tuvo gran importancia como alimento en dichas civilizaciones, época en la que su distribución geográfica abarcaba desde el paralelo 15 N hasta el 17 S, Honduras hasta Bolivia (Baracaldo 1980).

Hoy en día el cultivo de esta planta ha ido aumentando considerablemente, tanto que países como Costa Rica y Brasil, se han transformado en grandes exportadores.

Según Mora Urpí y Gainza (1999), el cultivo de palmito presenta un alto grado de rusticidad, lo cual le permite adaptarse a una amplia gama de condiciones agro- ecológicas, y lo convierte en una buena alternativa para pequeños y medianos productores. Como cultivo de diversificación, el palmito se ha constituido en una opción interesante, lo que ha movido una expansión significativa del área de siembra en los últimos años en Costa Rica.

El pejobaye para palmito se sembró en Costa Rica a inicios de la década del 70 y desde entonces el cultivo se ha desarrollado hasta convertirse en la actualidad en uno de los rubros de exportación más importantes dentro de los no tradicionales, por eso su importancia económica. Según la Promotora de Comercio exterior de Costa Rica, Procomer (2003) las exportaciones para el año 2003 fueron de 12 232 177 Kg lo cual brinda una entrada neta al país de 20 820 168 dólares, esto tomando en cuenta el precio de 236.5 colones cada 150 g de palmito.

En Costa Rica su producción tecnificada y la ampliación de su consumo son relativamente recientes, esto permitió que la expansión de su siembra y el enorme interés despertado entre productores de pequeña, mediana y gran dimensión, se diera repentinamente. Este crecimiento inusitado, no pudo ser igualado por otro paralelo de investigación que mejorara el paquete tecnológico necesario para mantener niveles competitivos a escala mundial (Molina 2000).

A pesar de su alto potencial, algunos aspectos importantes de la producción agronómica del palmito han sido pocos estudiados. El manejo de los suelos, la nutrición y los problemas fitosanitarios son quizás unos de los que menos atenciones han recibido, por lo que la información disponible sobre este tema es escasa y poco concluyente.

En los últimos años, se ha presentado una enfermedad denominada "añublo bacteriano", que afecta tanto las plantas adultas como los hijos de cosecha, la cual provoca lesiones cloróticas o de amarillamiento en las hojas (INTA 2003).

Se conoce como posible causante a la bacteria *Erwinia herbícola* la que según Vargas, *et al.* (2003) presenta colonias amarillas en medios de cultivo.

Según la Cámara Nacional de Productores de Palmito, CANAPPA, (2004) el añublo bacteriano ha disminuido la producción hasta un 55%, aparte de la consecuencia que esta enfermedad ocasiona en la rentabilidad del negocio.

La gran problemática que envuelve a esta enfermedad es que hasta la fecha no se han reportado métodos de control o mitigación eficientes, el control químico presenta un mal manejo y baja rentabilidad. Por lo tanto la importancia de la búsqueda de nuevas alternativas de manejo de la infección, amigables con el medio ambiente y económicamente sustentables.

En la Universidad EARTH, desde 1997, se viene evaluando el uso de microorganismos eficaces, EM, para el control de patógenos que causan enfermedades en las plantas. Se ha informado de resultados positivos para el control de sigatoka negra en banano (Moya 2001) y de igual manera, control de marchites bacteriana en el cultivo de chile dulce (Morales y Sáenz 2000).

Por lo tanto se consideró explorar el uso de EM para el manejo del añublo bacteriano en palmito.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que brinden los microorganismos eficaces (EM) sobre el manejo del añublo bacteriano del palmito

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de EM sobre la reducción del añublo bacteriano
2. Identificar el grado de infección de la enfermedad, su incidencia y el grado de severidad en el campo.
3. Observar la epidemiología de la enfermedad a través del tiempo que se lleva acabo la evaluación.
4. Observar los cambios en los síntomas de la enfermedad a causa de la aplicación de EM.
5. Evaluar efecto antagónico del EM al agente causal in vitro.

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 GENERALIDADES DEL PALMITO

En América Central el cultivo del palmito se extiende predominantemente en la región caribeña donde se adapta bastante bien, de preferencia a menos de los 1000msnm, por su origen de suelos de baja fertilidad su fertilización no es muy costosa, pero aun así su crecimiento es más vigoroso en cuanto más fértil sea el sustrato en que se desarrolle. No soporta mal drenaje ni mucha luz (Vargas 2000).

En el ámbito internacional existen dos variedades de palmito (tallos inmaduros) que se comercializan con mayor influencia, una es de tipo silvestre (*Euterpe oleracea*) explotada principalmente por Brasil y la otra que se cultiva técnicamente (*Bactris gasipaes*) la cual se muestra en la Figura 1, esta última ya se está estableciendo en la mayoría de países productores por su valiosa precocidad (Mora Urpí 1999).



Figura 1. Pejibaye para palmito, *Bactris gasipaes*. Universidad EARTH, 2004.

En los últimos años en Costa Rica se ha incrementado su cultivo, sin embargo, factores como el bajo precio del producto por la reducción de la demanda en el mercado internacional ocasionaron que no se diera el manejo adecuado a las plantaciones y como resultado, aumentarían los problemas por plagas y enfermedades (Alpízar *et al.* 2002).

En datos generales las exportaciones en Costa Rica venían aumentando hasta aproximadamente el año 1997, debido al comportamiento macroeconómico de Brasil que había permitido el crecimiento de las ventas costarricenses en el mercado francés (Montero 1999).

En contraste, según nos muestra el Cuadro 1 a partir del año 2000 las exportaciones vienen disminuyendo esto causado por los diversos problemas fitosanitarios que está presentando el cultivo lo cual obliga a los agricultores a abandonar la producción de palmito.

Dicho fenómeno ha causado el abandono de áreas e inversiones en plantas de proceso las cuales se amparan en el posible aumento de las exportaciones en mercados exclusivos y el desarrollo de nuevos productos, lo cual indica mayor valor agregado.

Cuadro 1. Exportaciones de palmito (*Bactris gasipaes K.*) en Costa Rica.

AÑO	KILOGRAMOS	DOLARES
2000	15.048.926	24.888.744
2001	14.433.003	23.493.827
2002	13.510.415	22.315.610
2003	12.232.177	20.820.168

Fuente: Ministerio de Exportaciones (Procomer: Inteligencia de mercados) (2003)

3.2 ENFERMEDADES DEL PALMITO

Según Vargas (2000), las enfermedades del palmito han sido estudiadas en Costa Rica desde 1972. Hasta el presente, 27 patógenos han sido identificados.

En Costa Rica existen aproximadamente 904 hectáreas de palmito afectadas por las principales plagas y enfermedades entre los períodos 2001 y 2002, lo cual nos brinda un total de 10 812 000 tallos producidos en las zonas afectadas, y por lo tanto un valor en dólares de la producción afectada de 1 351 500 (INTA 2003).

En el caso específico del palmito se han reportado pudriciones ocasionadas por *Erwinia* o por *Phytophthora* así como la mancha negra del follaje causada por *Colletotrichum sp*, las cuales, por el momento no son un problema muy grande en el cultivo. En cualquier caso su combate es preventivo con prácticas que mejoren el drenaje y la aireación del follaje.

Dentro de las plagas se encuentra la taltuza, roedor subterráneo que se come el rizoma de pejibaye. También se ha reportado el ataque de coleópteros procedentes de banano o coco tales como el *Rhynchophorus palmarum* y *Metamasius hemipterus*, de los cuales se sospecha que existe una relación directa con la enfermedad del añublo bacteriano.

En general en la actualidad el cultivo del palmito se ha visto afectado por una serie de problemas fitosanitarios los cuales disminuyen rotundamente su producción y comercialización.

3.3 EL AÑUBLO BACTERIANO DEL PALMITO

La producción de palmito ha sido diezmada fuertemente por una enfermedad denominada añublo bacteriano del palmito, causada posiblemente por la bacteria *Erwinia herbícola* y caracterizada por lesiones foliares que inician con zonas cloróticas sobre las que aparece un exudado y se forman vesículas, que luego se necrosan.

En Costa Rica la enfermedad viene tomando auge y tal como lo muestra la Figura 2 podemos observar que ya en la actualidad un 24% de las fincas productoras de palmito se ven afectadas por esta infección.

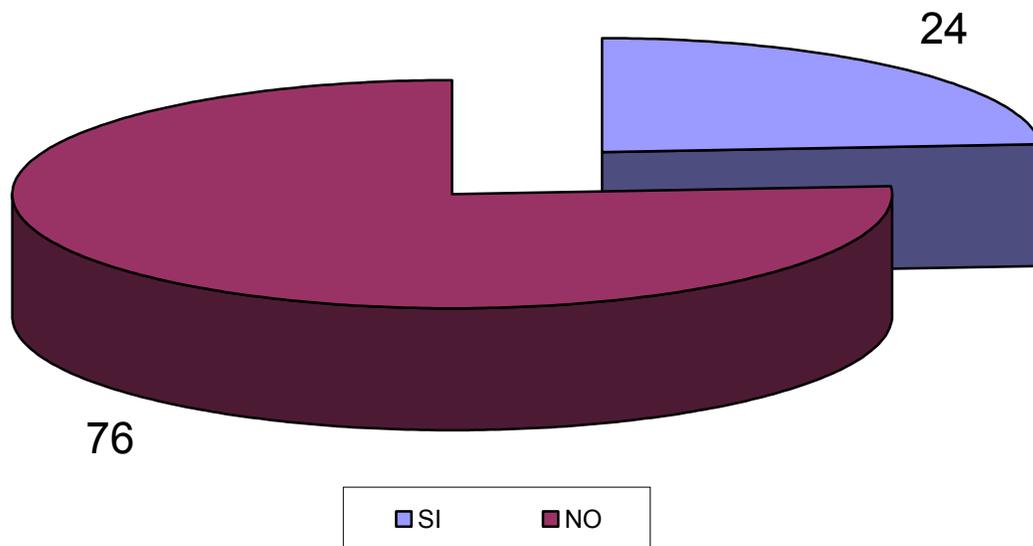


Figura 2. Presencia del añublo bacteriano *Erwinia herbícola* en plantaciones de palmito en Costa Rica.

Fuente: Daly 2004

Según el informe anual del INTA (2003), podemos observar que esta enfermedad se caracteriza por la presencia de un exudado mucilaginoso en las láminas foliares y el desarrollo de pústulas coalescentes que degeneran en necrosis. La enfermedad se inicia entre la segunda y tercera hoja verdadera y progresa hacia las hojas inferiores. También, se han observado síntomas en hojas de hijos de cosecha.

La enfermedad se presenta en las hojas del cultivo como líneas intervenales translúcidas de color amarillo, con un fuerte exudado aceitoso en el

envés, en épocas secas se tornan en pústulas de color rojizo rellenas de un líquido amarillento, que contienen las bacterias (CANAPPA 2004).

3.3.1 Historia y Actualidad de la Enfermedad

Delgado (2004) presenta una reseña histórica de la enfermedad la cual comienza con un reporte de los primeros brotes a finales de Octubre en el año de 1999 en una de las fincas de la empresa DEMASA (Derivados de Maíz S.A.) ubicadas en el cantón de Río Frío.

Para febrero del 2000 uno de los laboratorios de la Universidad Nacional (UNA) presenta un informe en cual brinda como resultado de agente causal a dos tipos de bacterias entre ellas unas saprofitas y otras *Xanthomonas*.

Inmediatamente al mes siguiente del mismo año, Marzo, miembros del Ministerio de Agricultura y Ganadería describen detalladamente la enfermedad y se reporta como agente causante del añublo bacteriano a las bacterias del género *Erwinia* y se descarta la posibilidad de que el agente causal sea *Pseudomonas*.

Para el 2003 el Instituto de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA) presenta un informe donde se reporta ya como causante de la enfermedad a *Erwinia herbícola*, este grupo actualmente ha sido reclasificado dentro del grupo *Pantoea* el cual incluye varias especies de características patogénicas.

Según Sánchez, *et al.* (2003), mediante un análisis ultra estructural de los tejidos lesionados reveló la presencia de dos morfotipos bacterianos similares a las bacterias aisladas del contenido de las pústulas. Las bacterias se localizaron principalmente en espacios intercelulares de la epidermis; también aparecieron en el interior de algunas de las células de estos tejidos y en el parénquima de los tejidos vasculares.

Entre más dañado estaba el tejido foliar mayor era la cantidad de bacterias e hifas observadas. Además Sánchez observó vacuolización del citoplasma, de los cloroplastos: alteraciones en los tilacoides, presencia de grandes gránulos de almidón y glóbulos osmiofílicos, igualmente en muestras foliares con daños muy severos se observó degradación de la lámina media, de las paredes, membranas celulares y organelos.

Sánchez concluyó que el proceso infeccioso podría ser debido a *Pantoea agglomerans*; en tanto, *Sphingomonas paucimobilis* (previamente *Pseudomonas paucimobilis*) podría ser bacteria endofítica, cuya concentración podría haberse incrementado debido al desequilibrio en el hospedero secundario a la infección; lo cual, también podría ser la explicación para el hallazgo de las hifas en algunas células de las zonas afectadas.

3.3.2 Diseminación de la Enfermedad

Esta enfermedad como toda infección bacteriana se ve fuertemente afectada por los factores climáticos brindados por el medio ambiente donde se pretenda desarrollar.

Por ejemplo muchas de las bacterias requieren de la presencia de humedad libre sobre su hospedante o de una humedad relativa alta en la atmósfera, a veces solo durante su infección o por todo su ciclo de vida.

Igualmente se conoce que el género *Erwinia* produce sus síntomas más severos cuando el suelo se encuentra húmedo por eso la importancia de factores diseminadores como la humedad relativa del ambiente y la cantidad de precipitación presente en la zona (Agrios 1995).

Estas bacterias se propagan con mayor rapidez y muestran una mayor actividad durante el tiempo húmedo probablemente debido a que las plantas al absorber una cantidad mayor de agua se vuelven más suculentas proporcionando altas concentraciones de agua que favorecen al progreso de la enfermedad.

Otro factor importante es el viento el cual influye en esta enfermedad infecciosa principalmente por la importancia en la diseminación, el viento es aún más importante cuando va aunado a la lluvia y a la temperatura, esta lluvia acarreada por el viento facilita la liberación de bacterias de tejido infectados y dependiendo de la humedad que regule la temperatura el ambiente se vera favorecido o afectado para el desarrollo normal de la bacteria.

Otro factor de mucha importancia son los insectos vectores que pueden transportar la enfermedad a grandes distancias y a la vez proteger al patógeno infeccioso el cual muchas veces el viento no lo puede hacer, un ejemplo claro es el picudo fundamentalmente *Metamasius* sp. el cual es posible diseminador del añublo bacteriano del palmito, esto ya que en las plantaciones enfermas su número es considerablemente más alto, pero la diferencia principal entre plantaciones sanas y enfermas es que en las primeras, éstos no son portadores de y en aquellas enfermas si lo son. En estas últimas plantaciones obligatoriamente hay que tratar de eliminarlos (Arroyo *et al.* 2004).

3.4 MANEJO ACTUAL DE LA ENFERMEDAD

La importancia del estudio de esta enfermedad es la problemática que nos brinda al ser aún desconocido un método de control efectivo, ya que desde su aparición se han estado utilizado muchos plaguicidas empíricamente por lo agricultores, esto sin resultados beneficiosos y básicamente no rentables, lo cual incluso ha conllevado al cierre de palmiteras por desconocimiento de un plan contra del añublo bacteriano.

La principal forma de combatir esta enfermedad es tomando medidas preventivas, igualmente de esta manera los productores se han dado cuenta que el mejor método de control hasta el momento es el adecuado manejo agronómico.

Según Delgado (2004) unas buenas y cortas estrategias a seguir son mejorar en general el manejo del cultivo: deshijas, deshojas, manejo de drenajes,

control de plagas y enfermedades. Aumentar la fertilización del cultivo: fertilizar en mayor proporción parcelas con excelente manejo para que no se vea afectada. Resiembras de un 30% a 40% del área total de la fincas. Y por último el control riguroso de insectos, taltuzas y picudos.

Dentro de las prácticas culturas que se observan con mayor frecuencia dentro de las plantaciones infectadas se encuentran la desinfección de camiones, desinfección de herramientas e instrumentos de corta como machetes, en este caso en cada corta o cada vez que se utilice, se evita el trasiego de cortadores de las áreas afectadas, eliminación de las plantas muy afectadas y desinfección de suelos y rastros en el área, y por último la disminución del uso de fertilizantes nitrogenados, en si el balanceo mejor de las formulas a utilizar, también se encuentran estrategias como la poda total y la quema controlada.

Se encuentra también el monitoreo y control del picudo, en este caso también los insecticidas son efectivos, pero producen desequilibrios biológicos y pueden resultar negativos para la salud humana, por ello se recomienda su control biológico que, además, resulta más económico aunque quizás no actúa tan rápido. La fabricación de trampas caseras no es muy difícil y brindan muy buenos resultados.

Una buena estrategia para el control del picudo es la utilización de hongos entomopatógenos, la cual es muy bien manipulada para el control de esta plaga, ya que los insectos capturados por las trampas se colocan en un frasco al cual se le agrega una suspensión de esporas del hongo *Beauveria* sp. Este baño asegura que todos los picudos quedan bien cubiertos de esporas y días después de inoculados mueran. Los picudos, así bañados se liberan vaciando el frasco en cuestión al pié de una cepa del palmito bien sombreada. Estos picudos infectados copularán repetidas veces con otros picudos, infectándolos a su vez y distribuirán así su nueva enfermedad (Wang 1991).

Dentro de la parte del control químico actualmente se está investigando con diferentes productos para el combate como bactericidas y fungidas, incluyendo productos biológicos. Básicamente a la fecha no existe control químico efectivo.

El INTA ha desarrollado experimentos en los que utiliza diferentes tipos de productos como bactericidas curativos como lo son el Agrimycin, Validacyn y Kasumin los cuales mostraron en su mayoría un control parcialmente eficaz pero de costos muy elevados, igualmente se evaluó un fungicida-bactericida llamado Kasuran el cual como única medida de control de la enfermedad no fue eficaz.

Investigaciones de la Universidad de Costa Rica (2004) ofrecen ciertos puntos importantes a tomar en cuenta para el manejo de la enfermedad como lo es la fertilización la cual es obligatoria, sin fertilización no se debe cultivar palmito y además, esta operación es esencial en el combate y prevención de esta plaga-enfermedad. Lo recomendado como tratamiento ideal es un análisis del suelo y fertilización de acuerdo con los resultados.

Se encuentra también las deshijas y limpiezas de cepas igualmente sin deshija no se debe cultivar palmito. A partir del primer año de cosecha debe regularse el número de brotes por cepa, su número ideal por hectárea está alrededor de los 20.000. Todos los brotes que surgen sobre la "araña" (área de cepa) deben eliminarse y sólo se dejan crecer aquellos "sentados" sobre el suelo, situados en la orilla de la "araña" y bien espaciados.

Se deben eliminar las hojas enfermas que muestran daño notorio. Si se ha fertilizado, en un plazo de 15 días o menos posterior a la deshoja habrá surgido un par de hojas nuevas que vestirán la planta. La apariencia de la plantación será mucho más sana. Si el combate de los picudos se ha desarrollado bien, la incidencia de la enfermedad descenderá notoriamente. Posiblemente requerirá una segunda deshoja algunos meses más tarde. Lógicamente los primeros palmitos de plantas deshojadas mostrarán menor rendimiento industrial que si

procedieran de plantas sanas (serán más fibrosos), pero no serán necesariamente inferiores a los procedentes de plantas enfermas, en realidad serán superiores a éstos.

3.5 UNA NUEVA VARIEDAD

La Universidad de Costa Rica (UCR) en conjunto con el Programa Nacional de Investigación y transferencia de Tecnología de Pejibaye (PITTA-Pejibaye), han elaborado una variedad denominada Diamantes-10, esta variedad además de ser excelente productora de palmito muestra resistencia parcial al ataque por los picudos y, con ello brinda una ayuda de mucho valor hacia el control de la enfermedad del añublo bacteriano.

Es una variedad que bien manejada agronómicamente se muestra altamente resistente. Para ello es conveniente sembrar alrededor, o cerca de ella, algunas hileras o pequeños sectores con la variedad Utilis (criolla). Los picudos muestran una alta preferencia por Utilis. Así, Utilis actúa como una atrayente trampa de los insectos. La razón de esto es que Utilis ofrece más fácil protección al insecto, el cual se refugia, copula y se alimenta escondido en el interior de las vainas que envuelven el tallo. En tanto que la variedad Diamantes-10 tiene vainas más largas y mejor abrazadas al tallo, dificultando la penetración por el picudo, que encuentra más fácil alojarse en las vainas de la variedad criolla.

La recomendación de introducción de la nueva variedad en una alternativa muy práctica y económica para el manejo del añublo bacteriano en fincas infectadas, pero es hecha fundamentalmente para ser usada en la siembra de nuevas plantaciones y resiembra de las plantaciones adultas.

3.6 POSIBILIDAD DE MANEJO DE LA ENFERMEDAD CON LA TECNOLOGÍA EM

Admitiendo que el centro de origen de la evolución de las plantas tuvo lugar en la simbiosis con microorganismos benéficos, por consiguiente estos microorganismos protegen a las plantas del ataque de patógenos por competición por nutrientes, antagonismo, y parasitismo, por otro lado la planta estimula el sistema de asociación interdependiente lixiviando azúcares, aminoácidos, y sales minerales necesarios al crecimiento de los microorganismos en simbiosis en detrimento o deterioro de los patógenos (Tokeshi 2001).

En los últimos 30 años se han realizado muchos estudios con microorganismos antagónicos para el combate de enfermedades en la planta, los microorganismos más utilizados como antagonistas son las bacterias, dentro de los productos más utilizados ha destacado la utilización del EM el cual es utilizado a nivel mundial.

El producto microbiano EM es una mezcla de microorganismos tales como bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas, levaduras, actinomicetes y hongos fermentativos, fue desarrollado por Teruo Higa en la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón. Sus objetivos de inicio eran los de incrementar la cantidad y calidad de los microorganismos benéficos en el suelo dando como resultados en crecimiento, calidad y en general productividad de los cultivos. De esta manera en la práctica el EM era aplicado a los campos como inoculante microbiano (Higa 1993).

EM permite la producción de hormonas de plantas, sustancias bioactivas beneficiosas y antioxidantes durante la solubilización de nutrientes. Los subproductos metabólicos de los microorganismos eficaces catalizan la energía presente dentro del ecosistema el cual crea un ambiente más sano para la planta (Wood *et al.* 1999).

Algunas de las sustancias secundarias producidas por los microorganismos del EM son el inositol, ubiquinone, saponinas, polisacáridos de bajo peso molecular, polifenoles y quelatos. Estas sustancias pueden inhibir patógenos y promover el crecimiento de especies benéficas (Higa *et al.* 1994).

El uso de microorganismos eficaces se fundamenta en utilizar microorganismos antagónicos que sean capaces de reproducirse y colonizar un ambiente dado y al cambiar las condiciones inhiba la población de otro organismo (Higa 1993).

Un ejemplo de la utilización de EM en el control de bacterias y hongos fitopatogénicos fue realizado por Castro, *et al* (1993), al utilizar experimentos de control de dichos patógenos *in vitro* mediante el antagonismo presentado por los microorganismos eficaces, en este experimento se evaluó el decrecimiento del potencial infeccioso de bacterias como *Xanthomonas* y *Pseudomonas*.

Experimentos realizados en la Universidad EARTH demuestran su positiva utilización al disminuir por ejemplo la tasa germinativa y crecimiento del micelio de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis del cacao (Nájar *et al.* 2001), igualmente los promedio ponderados de infección de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) se vieron disminuidos gracias a la aplicación de EM (Moya 2001).

4 METODOLOGÍA

4.1 EXPERIMENTO EN CAMPO

El estudio se llevo acabo en la finca Agro-comercial EARTH, con una latitud 10°12' N y longitud 83° 35' O, el objetivo del experimento fue analizar el comportamiento de la plantación con respecto a la severidad de la enfermedad, al aplicar el producto EM.

4.1.1 Ubicación

El área de trabajo se estableció en las plantaciones de pejibaye para palmito en el área de proyecto 4, estas plantaciones presentan la variedad comercial *Bactris gasipaes K.* y las cuales tiene una edad de 10 años, estas se encuentran pasando el Río Dos Novillos. Los lotes los cuales se utilizaron como materiales de evaluación fueron los lotes 3 y 4.

4.1.2 Diseño Experimental

El estudio constó de 3 tratamientos y 5 bloques repetitivos, dentro de los tratamientos se encuentran el tratamiento 1 (T1) o tratamiento testigo al cual no se le aplicó nada, el tratamiento 2 (T2) al cual se le brindó 25% EM Activado (EMA) por aplicación y el tratamiento 3 (T3) el cual se le brindará 50% EMA por aplicación .

Como se muestra en la Figura 3 cada bloque mide 100 m de largo por 7,20 m de ancho, lo que brinda un área experimental total aproximada de 0.36 ha, permite una cantidad de 4 hileras de cepa por cada bloque, se establecieron 3 tratamientos por bloque y se tomaron 16 cepas por tratamiento idóneas para la toma y recopilación de datos, permitiendo un diseño de bloques completamente al azar adecuado.

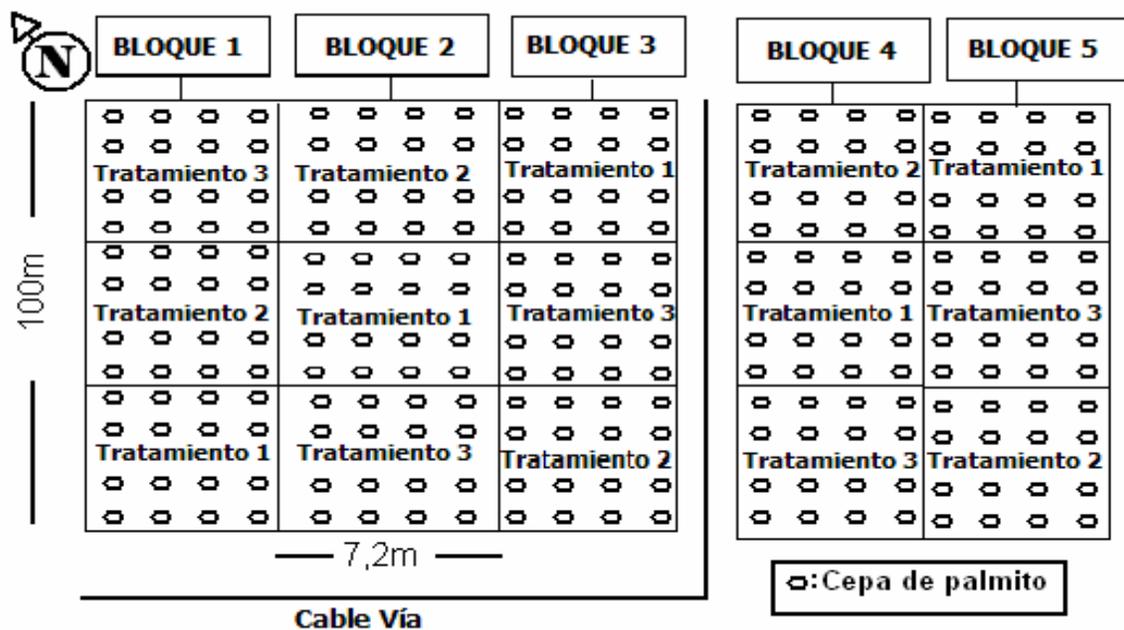


Figura 3. Distribución de los bloques y tratamientos 1, 2 y 3 (testigo, 25% y 50% EMA respectivamente), en el campo experimental. Universidad EARTH, 2004.

4.1.3 Aplicación de los tratamientos

El presente estudio se llevó a cabo durante los meses de julio a septiembre del 2004, las aplicaciones se realizaron semanalmente con una bomba de motor de espalda, la cual tenía una capacidad de 25 litros, se llevaron a cabo aplicaciones a la cepa completa, tanto hojas como el tallo, y a los rastrojos que se encontraban en los callejones producto de las cortas y deshierbas realizadas cada semana.

Las parcelas se distribuyeron al azar y los tratamientos aplicados fueron de 50% de EMA, 25% de EMA y un tratamiento testigo, en ambos tratamientos de EM se sumó tuna (*Opuntia ficus-índica*), un adherente natural por el tipo de cutícula que presenta las hojas del palmito, se cortó en trozos la tuna y se sumergió 5 hojas en 20 litros de agua para extraerle todo el adherente posible, para luego

mezclarlo con el EMA a una dosis de 25% de adherente por bomba. La bomba de motor permitió una aplicación muy completa, el EMA llegó a todas las partes de la cepa y los rastros quedaban muy bien rociados.

4.1.4 Toma de datos y variables evaluadas

Antes de la aplicación de los tratamientos antes mencionados, se llevó a cabo una preevaluación utilizando el índice de severidad de la enfermedad observado en el Cuadro 2 y Figura 4. Esto para confirmar que todo el terreno se encuentre en las mismas condiciones, y no exista diferencia significativa en cuanto la infección de la enfermedad entre las parcelas de los tratamientos y entre los bloques.

Una vez comenzaron las aplicaciones se realizaron evaluaciones semanales del índice de severidad de la enfermedad, esto calculándola según su grado o avance de infección, de esta manera se observó los cambios que presentó la planta a las aplicaciones de microorganismos.

Cuadro 2. Grados de severidad evaluados en campo de acuerdo al avance del añublo bacteriano del palmito. Universidad EARTH, 2004.

GRADO O ÍNDICE DE SEVERIDAD	DESCRIPCIÓN
0	No hay ningún síntoma causado por la bacteria
1	Infección leve, pequeñas manchas amarillentas presentes tanto en el envés como el haz de la hoja, menos del 15% de la hoja infectada
2	Infección moderada, manchas cloróticas más avanzadas y presencia de exudados fácil de observar en el envés de la hoja, menos del 30% de la hoja infectada
3	Infección fuerte, mayor presencia de manchas amarillentas, aparición de manchas necróticas y mayor cantidad de exudado bacteriano, menos del 60% de la hoja infectada
4	Infección muy fuerte, mayor presencia de manchas necróticas, presencia de síntomas causados por otros microorganismos aprovechando lesiones causadas por el añublo bacteriano, más del 60% de la hoja infectada



Grado 0 de Severidad



Grado 1 de Severidad



Grado 2 de Severidad



Grado 3 de Severidad



Grado 4 de Severidad



Senescencia y Muerte de la Hoja

Figura 4. Diferentes índices de severidad, de acuerdo a su grado de infección. Universidad EARTH, 2004.

La toma de datos de los grados de infección en las cepas por tratamiento se realizaron en la segunda hoja del segundo hijo, contando a la candela o vela la cual es la que ya se encuentra pronta para corta como el primero, de esta manera nos permitía seguir con una evaluación constante durante todo el período del experimento (Figura 5).

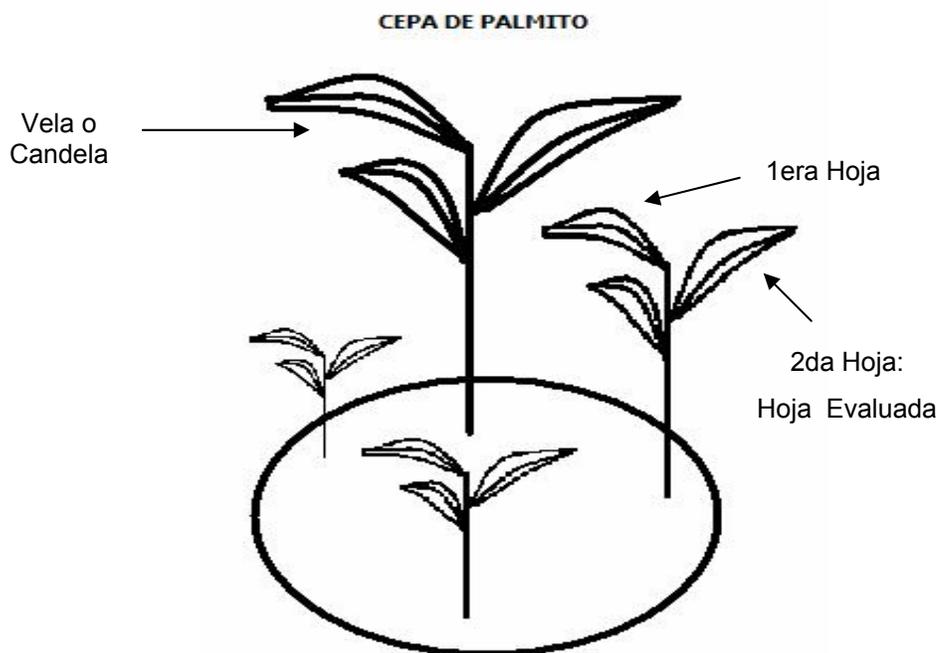


Figura 5. Cepa de Palmito, candela e hijos, segunda hoja del segundo hijo, hoja evaluada. Universidad EARTH, 2004.

4.1.5 Análisis estadístico

Se realizaron figuras de curva para poder observar el comportamiento de la enfermedad a través del tiempo, permitiendo de esta manera poder comparar entre si los tratamientos.

Se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad *(ABCPE) para cada cepa, dicha variable permite evaluar las diferencias entre los efectos de los tratamientos sobre el progreso de la enfermedad, y establecer el desarrollo de la enfermedad en función del tiempo, se calculó el ABCPE mediante la fórmula:

$$\text{ABCPE} = \sum [(X_{n+1} + X_n) / 2] (T_{n+1} - T_n)$$

Donde: X_n = Índice de severidad a la enésima observación.

T_n = Tiempo en la enésima observación.

* Shaner y Finney, 1977.

Se realizó un análisis de varianza y comparación entre los promedios de los tratamientos mediante la prueba Duncan esto en cuanto al ABCPE.

Se realizó una figura y un análisis de correlación donde se observó el comportamiento de la enfermedad a través del tiempo y se comparó con los datos climáticos obtenidos por la estación meteorológica.

4.2 EXPERIMENTO EN LABORATORIO

Este experimento fue realizado en el Laboratorio de Ciencias Naturales de la Universidad EARTH Mercedes de Guácimos, Costa Rica. En el experimento se evaluó la capacidad antagónica del producto EM hacia *Erwinia herbícola*, causante del añublo bacteriano del palmito, todo esto bajo condiciones de laboratorio (*in vitro*).

4.2.1 Aislamiento del Patógeno

El método de aislamiento fue realizado de acuerdo a Hernández (2003). Primero se procedió a realizar un muestreo en el área experimental para la recolección de las hojas infectadas, preferentemente de grado 2 de infección para

asegurar un aislamiento de solamente la bacteria que necesitábamos y no algún otro tipo de patógeno como hongos u otro tipo de bacterias.

Como muestra la Figura 6 se procedió a preparar 250 ml de agar nutriente (24 g/l) los cuales luego fueron utilizados luego para chorrear diez cajas petri con el agar nutriente ya listo y esperar que secan, todas estas actividades se realizaron en una cámara de flujo laminar para evitar la contaminación por algún otro patógeno.

Mientras se seca el agar se iban cortando los cuadraditos de hoja infectada y sumergiéndolos en hipoclorito de sodio al 3 % durante 1, 2 y 3 minutos con enjuagues de agua destilada estéril respectivamente, el hipoclorito permitió eliminar todo tipo de microorganismo existente sobre la superficie de los cuadraditos de 1 cm² de hoja infectada.

Después del último enjuague con agua destilada estéril se procedió a cortar cuadraditos más pequeños de 9 mm², de esta manera se pretendía que la bacteria que estaba causando la infección saliera por medio de la savia de la hoja infectada.

Los cuadraditos cortados fueron colocados en una cajita petri con agua destilada estéril y se espero 13 minutos para que el tejido vaya soltando la bacteria.

Al finalizar los 13 minutos se procedió a utilizar la suspensión de bacterias que se tenía para iniciar con la inoculación, se procedió a sembrar las bacterias que habían sido extraídas de la savia de la hoja infectada, se sembró sobre los platos petri con agar nutriente que ya había enfriado.

Luego se colocan las cajas petri en la incubadora por un lapso de 72 horas a una temperatura de 25°C, y se espero a que se formen las colonias amarillas intensas que caracterizan a *Erwinia herbícola*, para luego poder reproducir el cultivo puro de la bacteria y utilizarla en el experimento posterior.

Las características de la bacteria aislada fueron de colonias muy amarillas sobre el medio de cultivo, las cuales tenían un crecimiento circular al inicio y luego se aglomeraban lo que indica según Vargas *et al.* (2003) que pertenecen al grupo de *E. herbícola*. Sólo se encontró este organismo presente en el medio de cultivo inoculado.

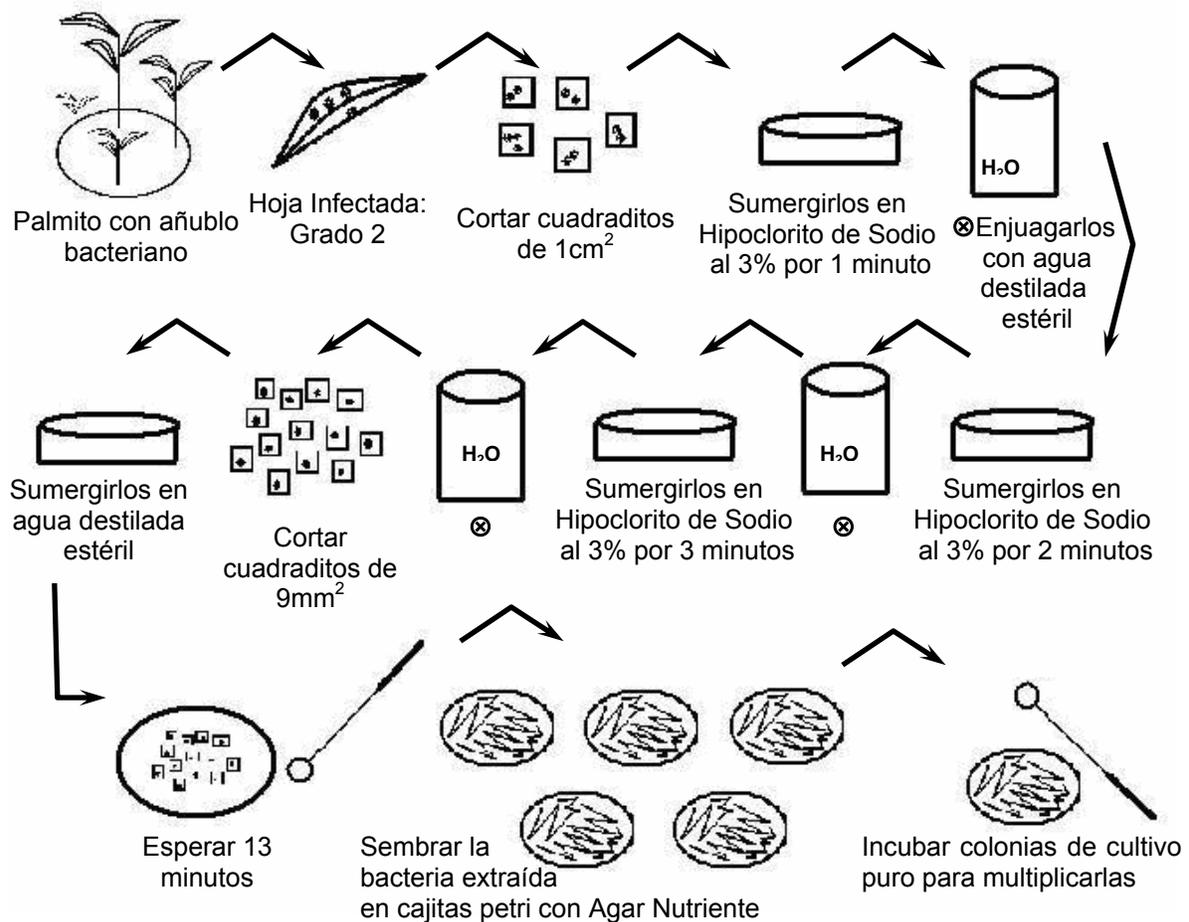


Figura 6. Metodología de aislamiento de la bacteria. Laboratorio de Ciencias Naturales. Universidad EARTH, 2004.

4.2.2 Prueba de Antagonismo

Se utilizó la metodología de antagonismo *in vitro* por medio de la búsqueda de oposición de microorganismos en medios de cultivo.

El cultivo puro de la bacteria incubada en la fase anterior, mostradas en la Figura 7, se les dio un periodo de espera en una cámara incubadora por 72 horas a 25°C, lo cual permitió un crecimiento óptimo de la bacteria en todo el medio de cultivo agar nutriente.

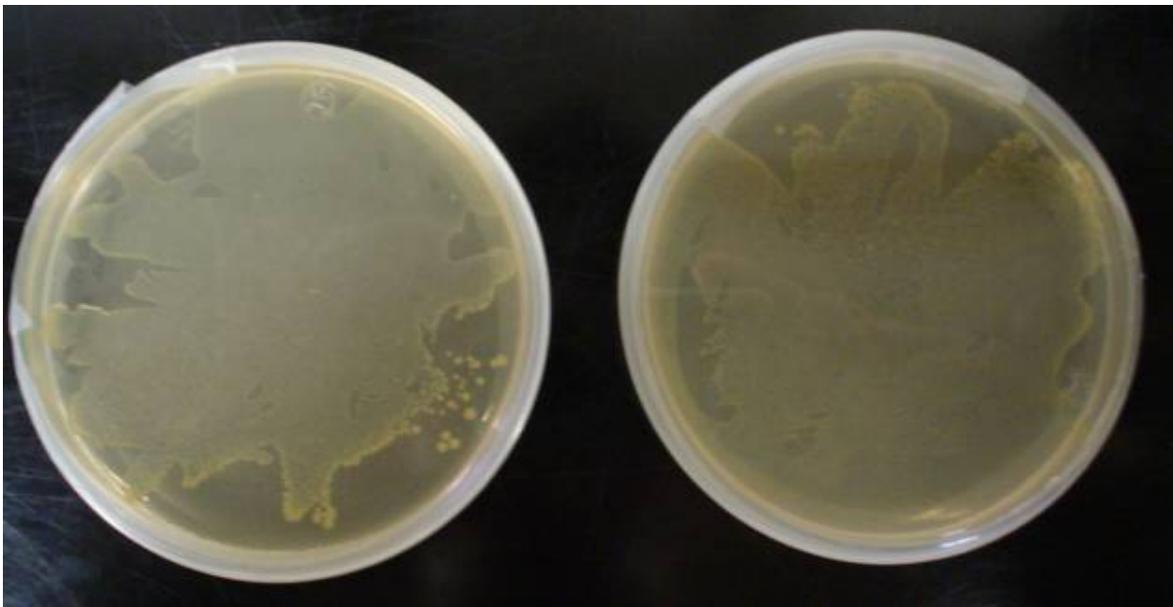


Figura 7. Aislamiento de *Erwinia herbícola* (añublo bacteriano del palmito) en medio de cultivo de agar nutriente, Laboratorio de Ciencias Naturales, Universidad EARTH, 2004.

Tal como lo muestra la Figura 8 se vertieron 5 ml de agua destilada estéril sobre la bacteria aislada en la caja petri, con la ayuda de un raspador se desprende la bacteria del medio de cultivo (AN), se procura desprender la mayor cantidad de bacteria posible evitando romper el agar nutriente, el líquido obtenido

después del raspado que lo denominaremos cóctel de bacterias se almacena en un recipiente, se realiza esta cantidad hasta tener una cantidad necesaria para la prueba, en este caso recolectamos más de 20 ml de cóctel lo cual fue más que suficiente para los 10 repeticiones de la prueba de antagonismo.

Posteriormente se vierten en una caja petri 9 ml de agar nutriente presentes en el tubo de ensayo y con la ayuda de una pipeta se vierte 1 ml del cóctel de bacterias obtenidos del cultivo aislado, se mueve lentamente la caja petri para buscar una homogeneidad en el medio preparado y se deja enfriar.

Se esteriliza un sacabocados de 3 mm de diámetro, y se realizan 6 marcas, cada marca determina los 6 tratamientos a utilizar, esto se realiza en las 10 petri repetitivas. Seguidamente se ensambla una máquina de bombeo para poder retirar los hoyos ya marcados por el sacabocados en el medio de cultivo con bacteria.

La máquina de bombeo consta de una motobomba pequeña en la cual se acoplan 2 mangueras una de succión y otra de expulsión, a la de succión se le conecta a la salida una punta de micropipeta estéril la cual utilizaremos para aspirar el medio presente en el hoyo realizado por el sacabocado, y en la salida de la manguera de expulsión se coloca un recipiente el cual recibe todo el material aspirado.

Se colocaron 6 μ l (microlitros) en cada orificio, los 6 tratamientos aplicados se muestran en el Cuadro 3, esto se repitió 10 veces para poder obtener resultados significativos, se dejaron en la cámara incubadora por 72 horas a una temperatura de 25°C.

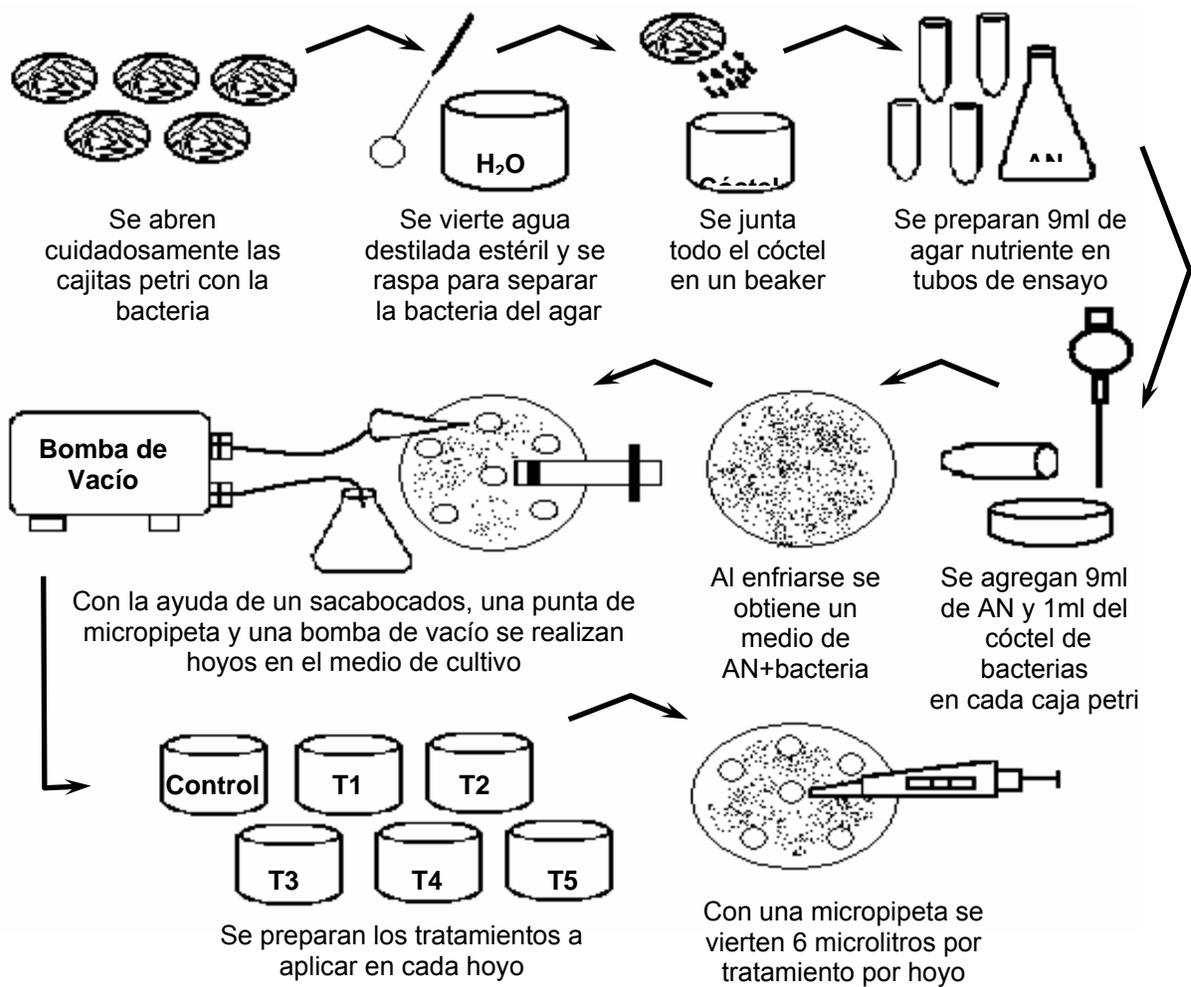


Figura 8. Metodología de prueba de antagonismo. Laboratorio de Ciencias Naturales. Universidad EARTH, 2004.

**Cuadro 3. Tratamientos aplicados a los orificios, prueba de antagonismo.
Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.**

Tratamientos	Descripción
1	100% EMA
2	50% EMA + 50% agua destilada estéril
3	25% EMA + 75% agua destilada estéril
4	50% EMA + 50% tuna (<i>Opuntia ficus-índica</i>)
5	100% tuna
Control	Cloranfenicol (1mg/ml): antibiótico de amplio espectro

4.2.3 Toma de datos y análisis de experimentos

Una vez cumplido el tiempo se dispuso a medir el diámetro del halo formado por cada tratamiento, es decir la zona de transparencia, esto formado por el efecto inhibitor del tratamiento aplicado.

Se realizaron gráficas de barras para comparar los 6 tratamientos aplicados en las pruebas de antagonismo, analizando los promedios de las 10 repeticiones.

Se aplicó análisis de varianza, y luego se utilizó el modelo estadístico tipo Duncan para hallar las diferencias significativas entre los tratamientos aplicados.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 EXPERIMENTO EN EL CAMPO

5.1.1 Índice de Severidad

Antes de iniciar con la aplicación de los tratamientos, se realizó una preevaluación de severidad de la enfermedad para observar el índice del añublo bacteriano en el área experimental y determinar las diferencias existentes entre las parcelas y los bloques en los que se realizaron las aplicaciones.

El Cuadro 4 nos muestra el análisis de varianza realizado a los datos de preevaluación, de acuerdo a este análisis se observó diferencias no significativas entre los bloques y entre las parcelas donde iban a ser aplicados los tratamientos, esto asegurado por los valores de probabilidad mayores a 0.05, lo cual nos permite afirmar un inicio de infección lo más homogéneo posible.

**Cuadro 4. Análisis de varianza del índice de severidad en la preevaluación.
Universidad EARTH, 2004.**

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F-Fisher	(p)
Parcelas	0.09	2	0.05	0.73	0.511
Bloques	0.23	4	0.06	0.90	0.507
Error	0.52	8	0.06		
TOTAL	0.84	14			

Una semana después de realizar las aplicaciones de los tratamientos se evaluó el índice de severidad del añublo, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 09, el tratamiento 50% EMA mostró una mayor eficacia en la reducción de la infección de la enfermedad logrando llevar un máximo de índice de severidad de 1,34 a un mínimo al final de las evaluaciones de 0,5, brindando un promedio de 0,8 lo cual es menos preocupante para un manejo adecuado de la enfermedad de una plantación ya infectada (Anexo 1).

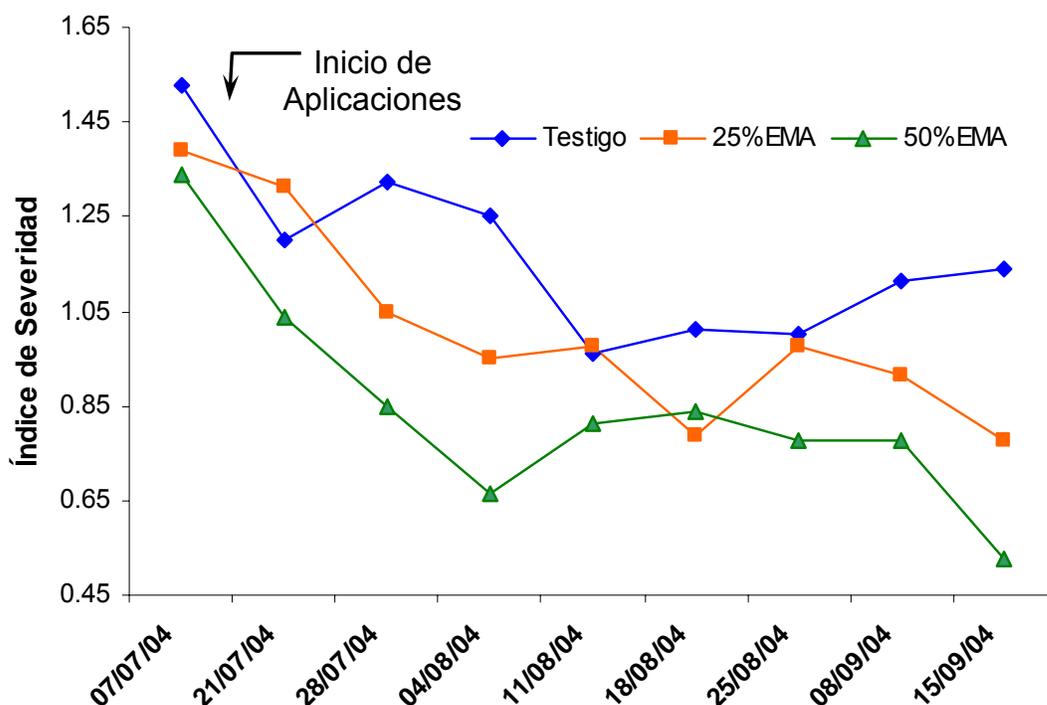


Figura 09. Efecto de los tratamientos 25%, 50% EMA y testigo, sobre el índice de severidad del añublo bacteriano del palmito, durante el período de evaluación. Universidad EARTH, 2004.

Los tratamientos 25% y 50% EM muestran una tendencia al final de la curva a seguir disminuyendo su índice de severidad, lo que nos sugiere posibles grados menores al pasar el tiempo de las aplicaciones. Caso contrario sucede con el tratamiento testigo el cual denota al final de la curva una tendencia a mantenerse latente, con un incremento a partir de la sexta semana de evaluación.

Según lo observado en campo días previo a algunas de las evaluaciones de severidad de la enfermedad se realizaron actividades agronómicas normales del cultivo como podas, deshijas y cortas lo que incidió en la disminución de la severidad de la infección.

Para facilitar la comparación estadística entre los tratamientos se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), basado en los datos de índice de severidad (Figura 10).

Luego se realizó un análisis de varianza en cuanto al ABCPE. De acuerdo al análisis de varianza la probabilidad resulto ser menor a 0,01, lo cual quiere decir que se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Anexo 2).

Según la prueba de Duncan los tratamientos con EM mostraron diferencias en el efecto sobre la reducción de la enfermedad. Entre ellos el tratamiento 50% EM fue el de mejores resultados. Comparado con el testigo absoluto, el tratamiento 25% EM redujo un 13% de total del ABCPE, y el tratamiento 50% EM redujo un 28% de la misma (Figura 11).

Todos estos resultados basados en la ayuda que generan los microorganismos del producto EM, como las bacterias fotosintéticas las cuales ayudan a la generación de amino ácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares que promueven el desarrollo celular; bacterias ácido lácticas las cuales inhiben la acción de microorganismos dañinos; y las levaduras las cuales sintetizan sustancias antimicrobiales, todo estos componentes benéficos ayudaron a la planta en el control del añublo bacteriano (Sangakkara 1999).

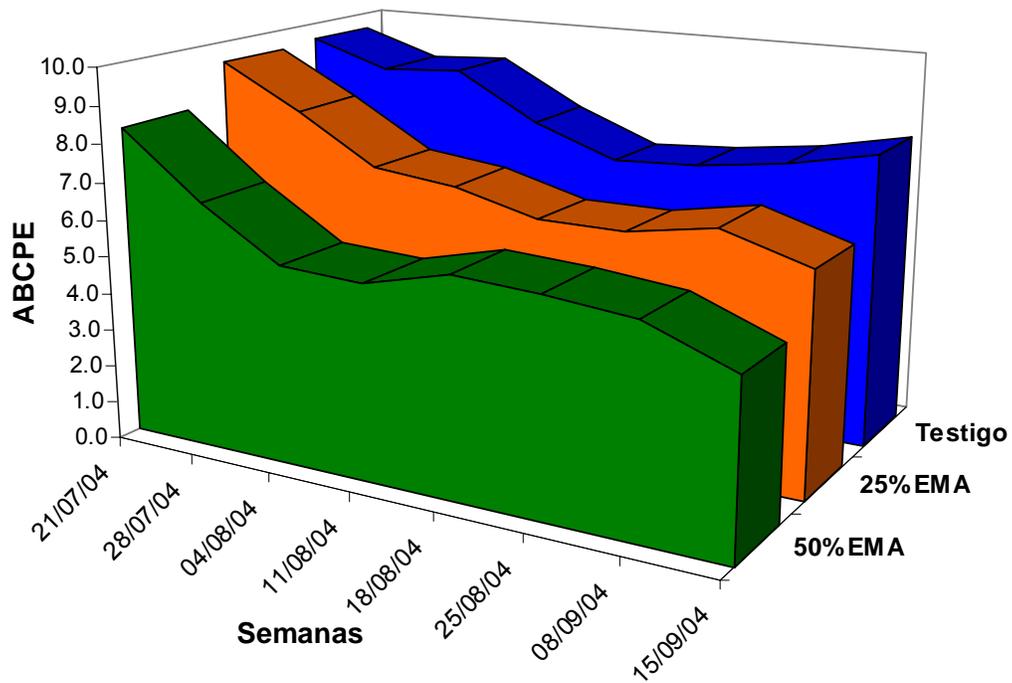


Figura 10. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad del añublo bacteriano en el cultivo del palmito. Universidad EARTH, 2004.

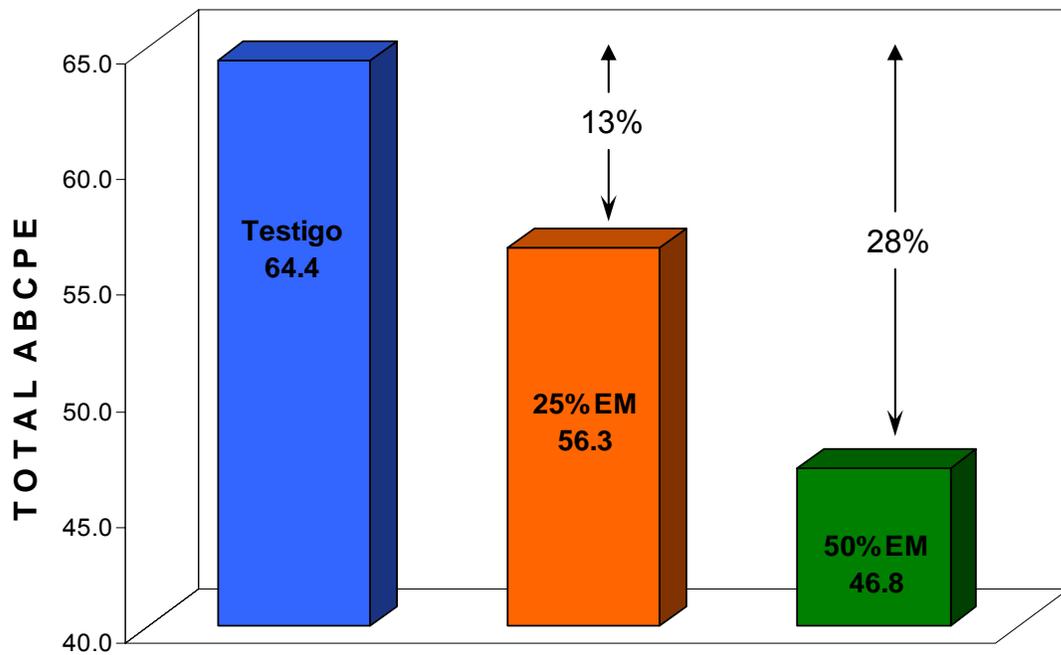


Figura 11. Diferencias entre las ABCPE del testigo absoluto y los tratamientos 50% EM y 25% EM. Universidad EARTH, 2004.

Los resultados obtenidos reflejan a simple vista los cambios que generaron las aplicaciones de los microorganismos eficaces EM, los síntomas observados fueron el amarillamiento en las hojas el cual para el inicio del estudio era notorio en casi un 50% de la población evaluada se encontraba por encima de grado 2 de severidad (Figura 12), y durante la época de evaluación y hasta su final se notó una mejora y un distanciamiento más grande entre las lesiones por hoja.

Igualmente las manchas necróticas las cuales generalmente eran causadas por la planta como un proceso de defensa o una infección avanzada atacada por otros microorganismos como hongos u otras bacterias fueron disminuyendo notoriamente, lo que permitía a la planta una mayor disposición para la regeneración de su tejido celular.

El distanciamiento entre focos infecciosos dentro del área evaluada aumento esto basado en la disminución de los mismos lo que permitió una menor cantidad de lesiones infecciosas localizadas y una mayor recuperación de área foliar óptimas para las labores fotosintéticas normales de las plantas lo que supone un cambio positivo en la producción.

Los exudados o hilos bacterianos (ver pag. 20: Grados 3 y 4) disminuyeron notablemente, estos eran muy fáciles de observar en el envés de la hoja y al finalizar el período de aplicación era mínimo las plantas con exudado presente, esto permitió la reducción del mal olor causado por dichas secreciones bacteriales.

Se observó de manera visual las infecciones presentes en los rastrojos ubicados entre las calles del palmito los cuales también fueron afectados por las aplicaciones de EM, estos rastrojos mostraron una mejora en la reducción de su infección lo cual influye en su potencial de diseminación.

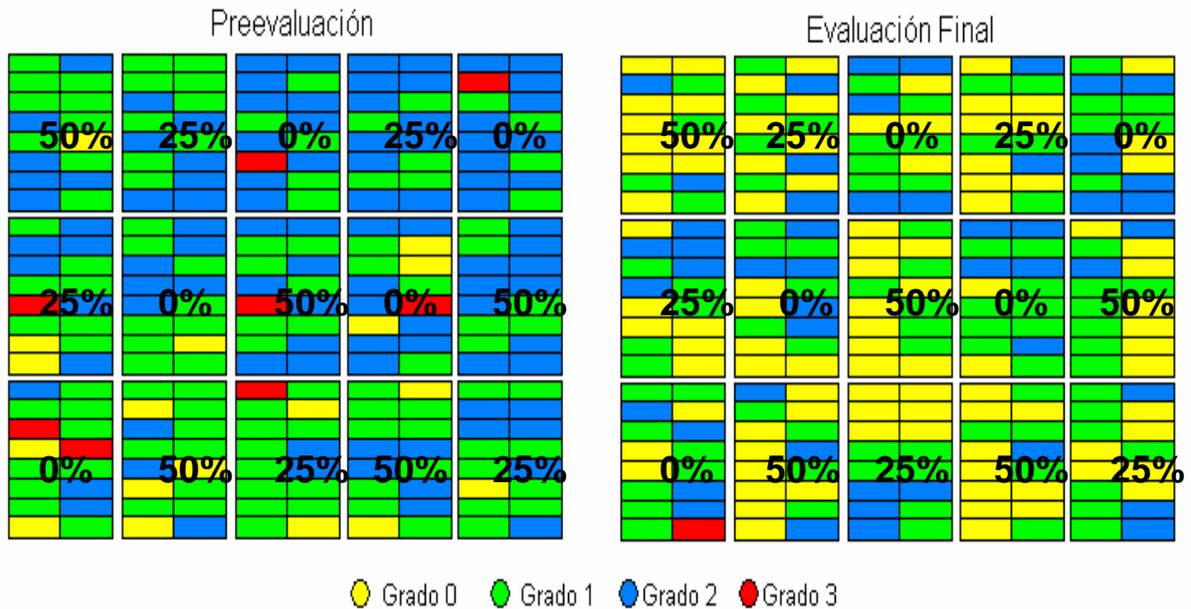


Figura 12. Índice de severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos de acuerdo a su grado de infección o avance, antes de empezar las aplicaciones y al finalizar las mismas. Universidad EARTH, 2004.

5.1.2 Condiciones climáticas durante el período de evaluación

De todos los factores que predisponen a la infección bacteriana, las condiciones ambientales son tal vez las más importantes (De Bauer, 1991), según nos muestran los datos obtenidos de la estación meteorológica, podemos observar la precipitación, temperatura y humedad relativa que presentó el área experimental durante la época de evaluación, la cual presentó condiciones favorables para el desarrollo del añublo bacteriano del palmito (Anexo 3).

En estas condiciones de campo el efecto individual o combinados de estos factores ambientales pueden aumentar la diseminación de la enfermedad, *Erwinia herbícola*, como toda bacteria se ve afectada positivamente en su progreso e inducen de cierta forma a que la enfermedad tenga mucha mayor facilidad para su supervivencia, su crecimiento y su reproducción, básicamente dichas variables climatológicas afectan la relación hospedero-patógeno la cual influye en el desarrollo de la enfermedad.

Las condiciones del clima son de suma importancia para *Erwinia herbícola* ya que al reducir la velocidad de transpiración de la planta tiende a desecarla y por lo tanto afectar su propio ciclo de vida, por eso es que es importante la humedad presente en el ambiente para la sobrevivencia del patógeno, solo infecta cuando existe una película de agua, ya que tiene la capacidad de nadar en el y en la savia que salen de las heridas, es su principal forma de diseminación (Agrios 1995).

Con el objetivo de analizar variables ambientales con mayor correlación o aquellas que permitan establecer al hospedero una mayor predisposición para su infección se determinó la comparación entre las variables antes mencionadas y el grado de severidad evaluado en campo (Figura 13).

Los resultados obtenidos indican que la enfermedad presentó fluctuaciones entre los grados de severidad entre los 1.525 y 0.963, se tomaron en cuenta los datos obtenidos del tratamiento testigo, ya que las cepas aplicadas con EM tendrían dicha variable la cual afectaría el desarrollo de la enfermedad.

Los datos de temperatura y humedad relativa son el promedio de 7 días antes de la evaluación de infección de la plantación, y los datos de precipitación son la suma de los 7 días antes de la evaluación.

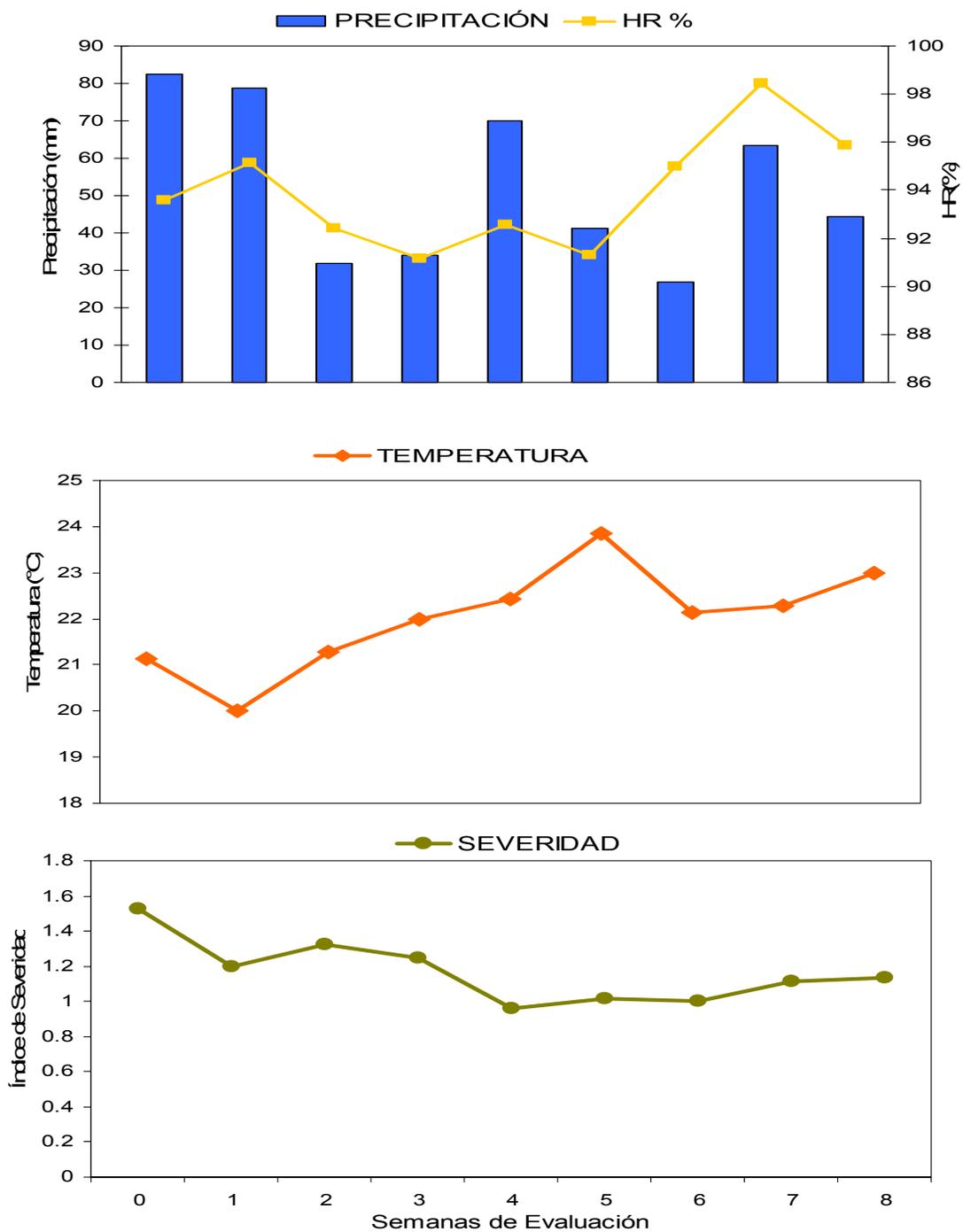


Figura 13. Relación de la precipitación, humedad relativa y la temperatura con el índice de severidad de la enfermedad. Datos climatológicos promedios o totales de 7 días previos a la evaluación. Universidad EARTH, 2004.

Los patógenos requieren de ciertas temperaturas mínimas para poder desarrollarse y efectuar sus actividades, se conoce que ciertas plantas a temperaturas altas se ven predispuestas al ataque de patógenos (Arauz, 1998). En este caso la temperatura presentó un factor de correlación de -0.55 lo cual indica una correlación no significativa, pero aun así hay que tomar en cuenta que el efecto de la temperatura en el desarrollo de una enfermedad después de haberse producido la infección, depende de la relación que entre el patógeno y su hospedante.

En la mayoría de las enfermedades de origen bacteriano es necesaria la presencia de humedad libre para el desarrollo de la infección, a simple vista se puede observar el cambio en la infección de la semana 7 se ve acompañada por un levante en la humedad relativa lo cual indica cierta dependencia, estadísticamente no presenta una correlación significativa.

La precipitación no solo determina la severidad de la enfermedad, sino también que dicha enfermedad se mantenga constante, las bacterias son diseminadas por las gotas de lluvia las cuales pasan de tejidos infectados a sanos (Agrios, 1995), en este caso la precipitación fue la variable climática con mayor correlación, presentando una relación directa con un factor de 0.3 (Anexo 4).

5.2 EXPERIMENTO EN LABORATORIO

Como se observa en la Figura 14, el antagonismo que presentaron los tratamientos es muy fácil de notar a simple vista, produciendo mayor transparencia en el medio de cultivo debido a la inhibición del crecimiento de la bacteria patogénica, el mayor control lo logro el tratamiento 1 (100% EMA), este presentó como en los demás tratamientos con EMA dos zonas de transparencia una de mayor inhibición que es la más cercana al centro y una de menor inhibición que es la más lejana, lo cual infiere que a más alejado de donde aplicó se encuentre el producto la inhibición resultara menos fuerte.

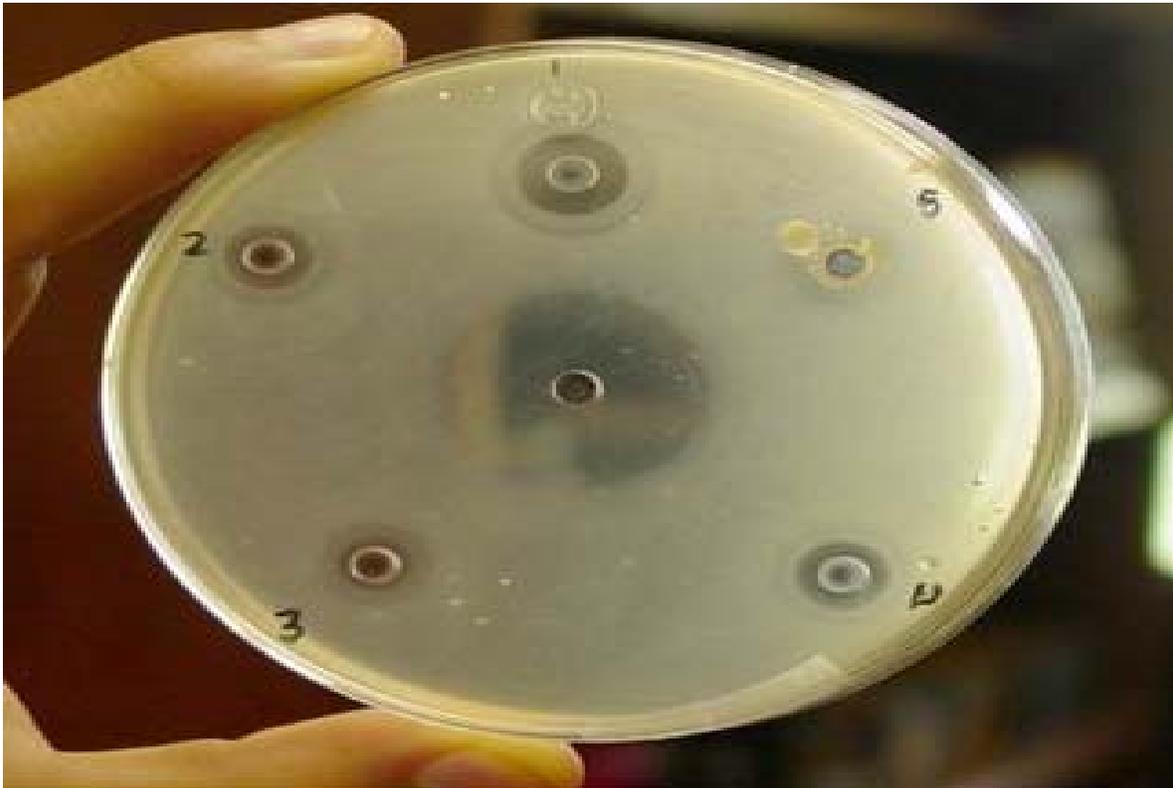


Figura 14. Resultados visuales de los halos de transparencia, de los tratamientos 1, 2, 3, 4,5 y 6 (100%EMA, 50%EMA+Agua, 25%EMA, 50%EMA+tuna y 100% tuna sola respectivamente) Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.

El tratamientos 2 (50% EMA + 50% Agua) y el tratamiento 4 (50% EMA + 50% Tuna) presentaron resultados casi iguales lo cual permite afirmar que la tuna (*Opuntia ficus-índica*) no presentó ningún tipo de ayuda o problema a la acción del EMA. Según el análisis Duncan estos tratamientos no mostraron diferencias significativas.

El tratamiento 3 (25% EM + 75% Agua) presentó una zona de transparencia menor a los otros tratamiento, exceptuando al tratamiento 5 (100% tuna) es cual no reflejo antagonismo en lo absoluto hacia la bacteria e inclusive en algunas repeticiones permitió la formación de colonias de la misma.

La Figura 15 muestra la efectividad del tratamiento 1 en la inhibición de la bacteria superando a los demás tratamientos en el diámetro del halo formado. Igualmente se midió el área de inhibición mostrando resultados similares a los obtenidos de la medición de diámetro (Anexo 5).

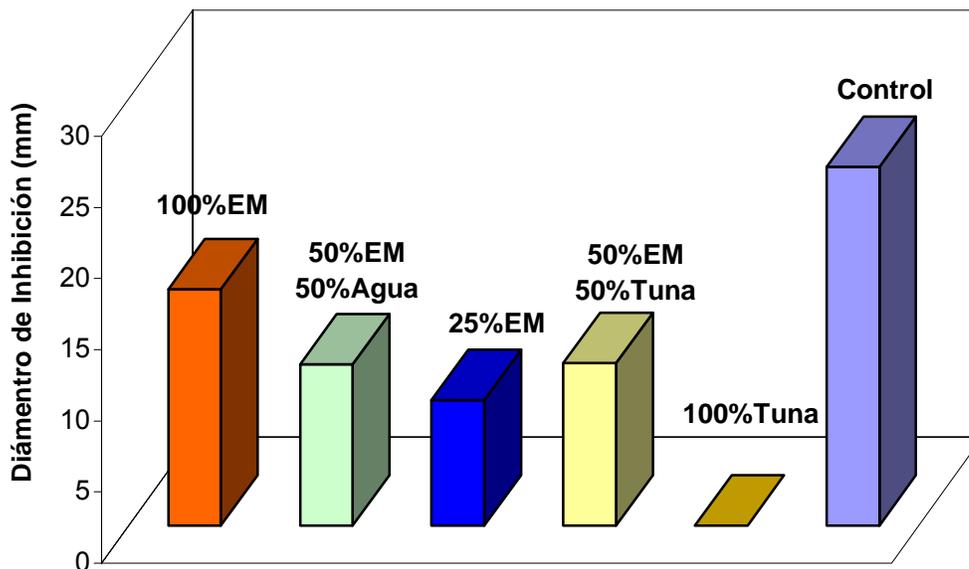


Figura 15. Diámetro promedio en milímetros alcanzado por cada tratamiento. Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.

6 CONCLUSIONES

Las aplicaciones del producto EM brindaron resultados eficaces en el control del añublo bacteriano del palmito causado por *Erwinia herbícola*, lo que permitió una reducción en el índice de severidad de la enfermedad.

- a) Las aplicaciones de EM con un adherente natural (tuna) redujeron significativamente el grado de infección del añublo bacteriano lo que involucró menos síntomas causados por la enfermedad, esta reducción fue notable a simple vista.
- b) El tratamiento 50% EMA logró reducir en 28 puntos el porcentaje de infección en cuanto al ABCPE durante 3 meses de aplicación. Por su lado el tratamiento 25% EMA redujo un 13%, ambos comparados con el testigo.
- c) Las hojas del palmito no presentaron fitotoxicidad con respecto a las aplicaciones semanales del producto EMA, a concentraciones de 25% y 50%.
- d) Las pruebas *in vitro* demostraron que los tratamientos con EMA manifestaron efecto antagónico a *Erwinia herbícola* causante del añublo bacteriano del palmito, debido a la presencia de una zona de inhibición o transparencia.
- e) Dentro de las pruebas *in vitro*, el tratamientos con EMA que logro mayor antagonismos fue el de 100%, superando por 32% y 47% a los tratamientos 50% y 25% EMA respectivamente.
- f) La tuna (*Opuntia ficus-Índica*) no demostró efecto antagónico, ya que no logró formar la zona de inhibición en las pruebas *in vitro*.

7 RECOMENDACIONES

La aplicación de EM fue muy eficiente en la reducción de la enfermedad en el campo, pero hay que tener en cuenta que para la utilización de cualquier tipo de control biológico es óptimo que se acompañe con las buenas prácticas agrícolas que se lleven a cabo, como manejo de cepa, deshierbas, podas y control de poblaciones.

- a) Se recomienda realizar estudios posteriores más prolongados, en donde se pueda analizar dosis más exactas con las que el producto EM se pueda utilizar y su relación costo-beneficio, para el manejo de la enfermedad del añublo bacteriano del palmito.
- b) Se recomienda realizar estudios posteriores donde evalúen tratamientos solamente de tuna como pegante natural, donde se observe el impacto causado por la misma sobre la enfermedad del añublo bacteriano en campo.
- c) La utilización de productos microbianos como el EM es muy recomendable para pequeños y grandes productores, ya que disminuyen en gran escala los costos por plaguicidas y en cierta forma su labor de ayuda a la planta genera una asistencia nutricional que influye igual en los costos.

8 LITERATURA CITADA

- Alpizar, D; Boniche, J; Alvarado, A; Smith, FJ. 2002. Factores socioeconómicos relacionados con la producción de palmito en Costa Rica. Implicaciones para el manejo integral de nutrimentos. *Agronomía Costarricense* 26(2): 75-85 p.
- Agrios, GN. 1995. Efecto del ambiente en la producción de las enfermedades infecciosas. In: *Fitopatología*. 2 ed. LIMUSA S.A: México DF, MX. 836 p.
- Arauz, LF. 1998. *Fitopatología: un enfoque agroecológico*. UCR. San José, CR. 467 p.
- Arroyo, C; Bogantes, A; Cartagena, LV; Mexzón, R; Mora Urpí, J; Sánchez, E; Solórzano, A; Wang, A. 2004. Vectores (Portadores). In: *Combate de la bacteriosis del palmito de pejibaye (en línea)*. Consultado el 11 de noviembre del 2004. Disponible en: <http://cariari.ucr.ac.cr/>
- Castro, CM; Motta, SD; Akiba, F; Ribeiro, RL. 1993. Potencial Use of EM for Control of Phytopathogenic Fungi and Bacteria. In: *Third International Conference of Kyusei Nature Farming*. Santa Barbara California, USA. 236 – 238 p.
- Congreso de Microorganismos benéficos en la agricultura moderna: estrategias para sistemas más sostenibles (2001, Universidad EARTH, CR). La función de los microorganismos en un sistema agropecuario. Tokeshi, H. Guácimo, CR. 8 p.
- CANAPPA (Cámara Nacional de Productores de Palmito). 2004. Bacteriosis en Palmito In: *Boletín Informativo*. CANAPPA. San José, CR. 2 p.
- Baracaldo, R. 1980 *El chontaduro o Cachipay: un cultivo promisorio de América Intertropical*. INCORA, Co. Bogota , CO. 45 p
- De Bauer, M. 1991. *Fitopatología*. LIMUSA S:A. México DF, MX. 384 p.
- Daly, C. 2004. *Seminario Comisión de Plagas*. CANAPPA. San José, CR. Disco compacto.
- Delgado, J. 2004. Estrategias a seguir In: *Reseña histórica de la enfermedad conocida como bacteriosis en el palmito*. Comisión Nacional Combate de Plagas y Enfermedades del Palmito. San José, CR. 2 p.
- Hernández, C, 2003. Estudio del añublo bacteriano en el cultivo del palmito (*Bactris gasipaes*). Trabajo de Graduación Universidad EARTH. Guácimo, CR. 40 p.

- Higa, T. 1993. An Earth Saving Revolution. A means to resolve our world's problems through effective microorganisms. Trad. Anja Kajal, Sunmark Publishing Inc. Tokio, JP. 336 p.
- Higa, T.; Parr, J. 1994. Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agricultural and Environment. INFRC (International Nature Farming Research Center). Atami, JP. 63 p.
- INTA (Instituto de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria), 2003. Informe Final. Proyecto generación de tecnología para el manejo de la enfermedad conocida como bacteriosis del palmito (*Bactris gasipaes*) en Costa Rica 64 p.
- León, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. IICA, San José, CR. 43-66 p.
- Molina, E. 2000. Manual de suelos y nutrición de pejibaye para palmito. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica y Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 42 p.
- Montero, E. 1999. El mercado internacional de palmito. In: Palmito de pejibaye (*Bactris gasipaes* Kunth): su cultivo e industrialización. Ed. por Mora-Urpí, J y Gainza, J. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, CR. 216-219 p.
- Mora Urpí, J. 1983. El pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.): origen, biología floral y manejo agronómico. In: Palmeras poco utilizadas de América Tropical. FAO/CATIE, Turrialba, CR. 118-160 p.
- Mora Urpí J; Gainza, J. 1999. Palmito de Pejibaye (*Bactris gasipaes* Kunth): su cultivo e industrilización. Universidad de Costa Rica. San José, CR. 260 p.
- Mora Urpí J. 1999. Consideraciones sobre el futuro del mercado internacional. In: Palmito de pejibaye (*Bactris gasipaes* Kunth): su cultivo e industrialización. UCR. San José, CR. 212-215 p.
- Morales, A; Saenz, N. 2000. Evaluación de cinco compuestos botánicos y microorganismos eficientes para el control de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) en el cultivo del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) Trabajo de Graduación Universidad EARTH. Guácimo, CR. 63 p.
- Moya, F. 2001. Evaluación de la aplicación de microorganismos eficaces (EM) y derivados de este en el manejo de Sigatoka negra (*Mychosphaerella fijiensis*) en el cultivo del banano bajo un sistema agroforestal. Trabajo de Graduación Universidad EARTH. Guácimo, CR. 39 p.
- Najar, T; Thomas, S. 2001. El efecto de los microorganismos eficaces en el hongo *Moniliophthora roreri* bajo condición de laboratorio y campo con inoculación artificial. Trabajo de Graduación Universidad EARTH. Guácimo, CR. 49 p.

- PROCOMER (Promotora de Comercio Exterior de Costa Rica). 2003. Exportaciones del Palmito en Costa Rica. In: Inteligencia de Mercados. (en línea). Consultado el 7 de Julio del 2004. Disponible en: <http://cariari.ucr.ac.cr/>
- Sanchez, E. *et al.* 2003. Análisis ultraestructural de la bacteriosis en palmito de pejibaye (*Bactris gasipaes* K) In: Proyecto generación de tecnología para el manejo de la enfermedad conocida como bacteriosis del palmito en Costa Rica. Subproyecto 1. INTA. Pococí, CR. 3 -24 p.
- Sangakkara, UR. 1999. Guidelines for practical use In: Kyusei Nature Farming and the technology of effective microorganisms Manual. APNAN. Bangkok, TH. 44 p.
- Shanner, G; Finey, RE. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. In: Phytopathology 67:1051-1056p.
- Vargas, A. 2000. La palmera de pejibaye (*Bactris gasipaes*), y su cultivo en Costa Rica para la obtención de palmito. CORBANA. Pococí CR. 66 p.
- Vargas, L; Solorzano, J; Bravo, O. 2003. Identificación del agente causal de la enfermedad en medios de cultivo específicos In: Proyecto generación de tecnología para el manejo de la enfermedad conocida como bacteriosis del palmito (*Bactris gasipaes*) en Costa Rica. Subproyecto 2. INTA. Pococí, CR. 25-49 p.
- Wang, A; Mora, D; Durán, A. 1991. Manual para la enseñanza In: Técnicas de Fitopatología. Universidad de Costa Rica. San José, CR. 96 p.
- Wood, MT; Miles, R ; Tabora, P. 1999. Plant extracts and EM5 for controlling pickleworm *Diapharina nitidalis* In: Proceedings of the International Conference on Kysuei Nature Farming Conference. Bangkok, TH. 207 – 215 p.

9 ANEXOS

Anexo 1. Severidad del añublo bacteriano según testigo y tratamientos 25% y 50% EM, a través del período de evaluación. Universidad EARTH, 2004.

Tratamientos/Semanas	Preevaluación	1	2	3	4	5	6	7	8
Testigo	1.53	1.20	1.33	1.25	0.96	1.01	1.00	1.11	1.14
25% EM	1.39	1.31	1.05	0.95	0.98	0.79	0.98	0.91	0.78
50% EM	1.34	1.04	0.85	0.66	0.81	0.84	0.78	0.78	0.53

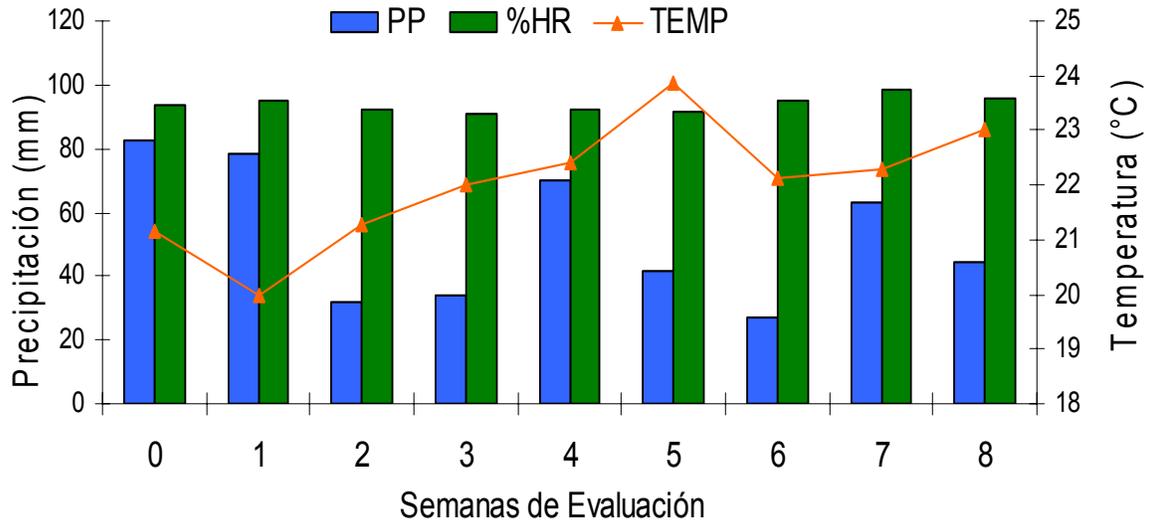
Anexo 2. Análisis de varianza de los datos de área bajo la curva de progreso de la enfermedad. Universidad EARTH, 2004.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F-fisher	(p)
Tratamientos	12.11	2	6.06	25.77	** 0.0003
Bloques	5.37	4	1.34	5.71	* 0.0179
Error	1.88	8	0.23		
TOTAL	19.36	14			

* Diferencias significativas.

** Diferencias altamente significativas.

Anexo 3. Temperatura (TEMP), precipitación (PP) y humedad relativa (% HR) en el área de estudio durante el período de evaluación. Estación meteorológica, Universidad EARTH, 2004.



Anexo 4. Datos obtenidos del análisis de correlación Pearson entre severidad y variables climáticas. Universidad EARTH, 2004.

Severidad	Precipitación	Humedad Relativa	Temperatura
Factor de Correlación "r"	0.30	-0.10	-0.58
Probabilidad "p"	0.44	0.79	-0.10
Significativo	N.S.	N.S.	N.S.

Anexo 5. Área de transparencia o inhibición promedio en mm² alcanzado por cada tratamiento. Prueba de antagonismo. Laboratorio de ciencias naturales. Universidad EARTH, 2004.

