

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN
AGROPECUARIA

**Control biológico de la pudrición radicular
por *Fusarium oxysporum* en semilleros de
café usando endomicorriza y *Trichoderma*
*harzianum***

Tesis presentada como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en el grado académico de Licenciatura.

Presentado por:

Julio Renato Mora Castillo

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2001

RESUMEN

Mora, Julio Renato. 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzjanum*. Programa Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 42 p.

Las plantas de café (*Coffea arabica*) en semilleros pueden presentar problemas con hongos patogénicos y *Fusarium oxysporum* uno de los principales. Este hongo puede reducir el sistema radicular de las plantas más del 90% y tradicionalmente su control se basa en el uso de fungicidas sintéticos. El objetivo del estudio fue evaluar los agentes de control biológico: Rootshield® y Mycobac® (*Trichoderma harzjanum*); y Mycoral® (endomicorrizas), para el control del hongo. Se aisló y aumentó una cepa del patógeno de raíces de café con síntomas de la pudrición radicular y se inoculó en el suelo en la mitad de los tratamientos siete días antes de la siembra. Los productos biológicos se aplicaron a la siembra del café en suelo infestado y no infestado por el patógeno, utilizando las dosis recomendadas por los fabricantes: Mycoral®, 5 g/semilla; Rootshield® y Mycobac®, 890 g/m³ y 100 g/100 L, respectivamente, Benlate® 50WP, 1 lb/380 L (testigo químico) y un testigo absoluto. A los 120 días de la siembra la incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* en las plantas inoculadas con el patógeno fue mayor que en las plantas sin el inóculo. Mycoral® y Rootshield® redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad, igual al Benlate®. La longitud y peso seco de la raíz fueron mayores en plantas tratadas con Mycoral® que en Rootshield® y Mycobac® expuestas o no al patógeno. Los resultados indicaron que Mycoral® y Rootshield® fueron los productos que mejor protegieron a las raíces contra *Fusarium oxysporum* en café, resultando en una alternativa orgánica al control químico de esta enfermedad.

Palabras claves: Alternativa orgánica, control tradicional, hongos patogénicos, incidencia, producto biológico, severidad.

LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS UNA ALTERNATIVA PARA REDUCIR EL USO DE FUNGICIDAS QUÍMICOS EN LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE CAFE

En Zamorano se desarrolló un experimento con el objetivo de buscar alternativas de control de enfermedades que atacan al cultivo de café y se estudió la eficacia del uso de productos biológicos en el control de producción radicular causada por patógenos del suelo en los semilleros de café. Esta enfermedad ha sido reportada en fincas cafetaleras causando daño irreversible a los semilleros con pérdidas de plantas hasta del 50%. Cuando los daños son severos los patógenos pueden destruir el sistema radical en más del 90%.

Las enfermedades del suelo son las más difíciles de controlar y tradicionalmente su control se basa en el uso de fungicidas químicos. Usualmente, los fungicidas químicos son más baratos y efectivos que los productos biológicos pero causan daño al trabajador y al medio ambiente.

Los productos biológicos pueden proveer a bajo costo un alto nivel de protección al cultivo, especialmente en sistemas de producción donde el uso inadecuado de químicos ha creado resistencia en las plagas, donde los pesticidas son regulados por el daño que causan al humano, en la producción orgánica de cultivos y donde la reducción del uso de químicos es necesaria para evitar efectos secundarios como la contaminación de aguas superficiales y alteración del hábitat de la flora y fauna existente en ambientes sensibles.

En el estudio se compararon los siguientes productos biológicos: Rootshield@ que contiene el hongo *Trichoderma harzianum* cepa T22 y Mycobac@ (*Trichoderma harzianum*) ambos micoparásitos controladores de hongos patogénicos; y Mycoral@ elaborado a base de hongos formadores de micorriza. La micorriza es una asociación simbiótica donde el carbón es aprovechado por el hongo y los nutrientes inorgánicos por las plantas.

La efectividad de estos productos biológicos fue comparada con aplicaciones del fungicida químico Benlate~ 50WP y con plántulas que no recibieron ningún tratamiento. El estudio determinó que aplicaciones de Mycoral@ y Rootshield@, ejercieron control contra patógenos del suelo igual al fungicida químico seguido por Mycobac@.

CONTENIDO

	Portadilla.	1
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos	v
	Resumen.....	VI
	Nota de prensa.	vn
	Contenido.....	IX
	Índice de cuadros.....	XI
	Índice de figuras.....	xn
	Índice de anexos.....	Xli
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	OBJETIVO	2
2. 2.1	REVISIÓN DE LITERATURA..	3
2.2	RIZÓSFERA.....	3
2.2.1	DESCRIPCIÓN DEL PATÓGENO.....	3
2.2.2	Síntomas y daño.....	4
2.3	Epidemiología.....	4
2.3.1	WCORRIZAS	5
2.3.2	Endomicorriza.....	5
2.3.3	Biología.....	5
2.3.3	Mycorall.....	5
2.4	Mecanismo de acción.....	6
2.4.1	<i>TRICHODERMA</i> SPP.....	7
2.4.2	Biología.....	7
2.4.3	<i>Mycobac<l></i>	7
2.4.4	<i>Rootshieldll></i>	8
2.5	Mecanismo de acción.....	8
	COMPATIBILIDAD A PESTICIDAS.....	8
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1	LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	9
3.2	MATERIAL HOSPEDERO	9
3.3	TRATAMIENTOS	9
3.3.1	Almacenamiento.....	10

3.4	COLECTA DE FITOP ATÓGENO.....	10
3.5	AISLAMIENTO Y POSTULADOS DE KOCH.....	10
3.6	IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO	10
3.7	PRODUCCIÓN DEL INÓCULO	11
3.7.1	Preparación de la solución de conidias	11
3.7.2	Inoculación en bandejas.....	11
3.8	CONDICIONES CULTURALES.....	11
3.9	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	12
3.10	VARIABLES EVALUADAS.....	12
3.10.1	Germinación	13
3.10.2	Incidencia y severidad de la enfermedad	13
3.10.3	Longitud de raíz principal	13
3.10.4	Peso seco Y fresco de plántulas.. ..	13
3.10.5	Porcentaje de colonización de micorriza arbuscular y conteo de esporas.....	13
3.10.6	Conteo de esporas de <i>Trichoderma harzianum</i>	14
4.1	RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	15
4.2	GERMINACIÓN	15
4.3	INCIDENCIA Y SEVERIDAD.....	15
4.4	LONGITUD DE RAÍZ PRINCIPAL.....	17
4.5	PESO SECO DE LA RAÍZ.....	17
4.6	PESO SECO FOLLAR.	18
	INFECCIÓN DE RAÍCES POR MICORRIZA y NÚMERO DE ESPORASIMI.....	19
4.7	CONTEO DE ESPORAS DE <i>TRICHODERMA HARZIANUM</i>	19
5.	CONCLUSIONES.....	20
6.	RECOMENDACIONES.....	21
7.	BIBLIGRAFÍA	22
8.	ANEXOS.....	26

1. INTRODUCCIÓN

El control biológico para patógenos del suelo y modificaciones en el hábitat de estos se presenta en este estudio como una alternativa de manejo de las enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo como *Fusarium oxysporum*. Se espera restringir su desarrollo con mínima interferencia con el medio ambiente evitando así el uso de fungicidas sintéticos que constituyen una amenaza para los organismos benéficos del suelo y el hombre. Además de incentivar el uso de agentes de control biológico *que* servirán para reducir la enfermedad y como biofertilizantes, mejorando la calidad de los suelos.

Fusarium es un hongo que se encuentra en el suelo alrededor del mundo y afecta muchas especies vegetales y animales y es difícil de controlar. Existe una gran diversidad de cepas de *Fusarium* spp., de las cuales algunas son patogénicas y su gran mayoría son saprófitas pueden ser utilizadas como controladores biológicos. Según Cook y Baker (1989) existen más de 76 cepas de *Fusarium oxysporum* reportadas que causan enfermedad. Los géneros de hongos *Ceratocystis* spp., *Verticillium* spp. y *Fusarium* spp. son los tres géneros que pueden afectar el sistema vascular de las plantas.

De las especies más importantes económicamente tenemos a *Fusarium oxysporum* que ataca a un sin número de cultivos de clima templado y tropical incluyendo café. La Fusariosis o marchitez vascular es la principal enfermedad causada por este patógeno (Gonsalvez y Ferreira, 2001). La Fusariosis o Marchitez Vascular del cafeto "Root rot", produce una desintegración o pudrición de parte o todo el sistema radicular de la planta (Agrios, 1988). La Fusariosis ha sido reportada en semilleros y viveros de café causando daño irreversible que puede causar pérdidas de plantas hasta el 50% (Procafe, 1997). Cuando los daños son severos *Fusarium oxysporum* puede destruir el sistema radical en más de 90% (Tronconi *et al.*, 1997).

El control de *Fusarium* spp. es efectivo con el uso de fungicidas sistémicos como Benlate~50DF (Benomil). Sin embargo, el patógeno es capaz de desarrollar resistencia a algunos fungicidas como indican estudios realizados en China (Gonsalvez y Ferreira, 2001). En Honduras los caficultores aplican principalmente fungicidas preventivos como: Captan (Captan), Dazomet (Basamid), Daconil 2787PH (Clorotalonil), Pentaclor~600F (Quintozeno, PCNB), Ridomilil) MZ 72 (Metalaxil+Mancozeb). El uso de productos químicos es hasta ahora una eficiente forma de prevención de la enfermedad puede ocasionar problemas de contaminación ambiental, daños a la salud de los trabajadores y iitotoxicidad al mismo cultivo. También, por falta de conocimiento del mecanismo de acción de los fungicidas hacen un mal uso del producto resultando en el no-control del patógeno y costos de producción elevados.

El desarrollo de alternativas de menor riesgo para el hombre y el medio ambiente requieren ser estudiadas para controlar patógenos del suelo y el desarrollo sano de cultivos. Las enmiendas de cal y solarización (Toruño, 1999), Compost, Bokashi (Kai *et al.*, 1990), Endomicorrizas (Mariscal *et al.*, 1996) y *Trichoderma* spp. (Barman, 2000), son opciones para el manejo de enfermedades en semilleros y viveros y pueden ser aplicadas en el cultivo café.

Las micorrizas son asociaciones simbióticas que se forman entre las raíces de muchas especies de plantas y hongos (Sylvia, 1999). La micorriza se presentan como un mejorador de la nutrición de plantas y fertilidad del suelo que según (Mariscal *et al.*, 1996), puede mejorar la resistencia de la planta en casos de estrés ambiental y también tolerancia a parásitos radiculares.

En recientes investigaciones realizadas han indicado que una planta previamente inoculada con hongos formadores de micorriza, especialmente del tipo endomicorriza, incrementa resistencia a varias enfermedades radiculares y puede actuar como un agente efectivo de control biológico contra *Fusarium oxysporum* (Jaizme-Vega *et al.*, 1998; Datnoff *et al.*, 1995), *Phytophthora parasitica* (Dassi *et al.*, 1998), *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* (Abdalla *et al.*, 2000).

También, *Trichoderma harzianum* es un hongo micoparásito agresivo que compete con patógenos. Este desarrolla su micelio alrededor de hifas de hongos patógenos desintegrando las hifas del patógeno previniendo su penetración (Cook y Baker, 1989). En recientes investigaciones han demostrado que *Trichoderma* spp. es un agente efectivo de control biológico contra *Rhizoctonia solani* Kuhn (Rincón, *et al.*, 1992), *Scerotinia scerotiorum* y *Pythium ultimum* (Manandhar *et al.*, 1983), *Fusarium oxysporum* (Datnoff *et al.*, 1995).

En éste estudio se evaluaron formulaciones comerciales de Mycoral~ (Endomicorriza), Rootshield~ y Mycobac~ (*Trichoderma harzianum*) controladores biológicos de enfermedades como alternativa al control químico de *Fusarium oxysporum*.

1.1 OBJETIVO

Evaluar la eficacia de productos comerciales en base a endomicorriza y *Trichoderma harzianum* para el control de *Fusarium oxysporum* en semilleros de café.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 LA RIZÓSFERA

Es importante definir la rizósfera para entender el hábitat de los microorganismos en el suelo. La rizósfera es el suelo que se encuentra próximo a una raíz viva y es una zona de intensa actividad microbial alrededor de esta (Agrios, 1995). El número de organismos que habitan la rizósfera es mucho mayor que fuera de ella. Estos organismos compiten entre ellos por espacio, nutrientes y carbón. Se puede decir que la rizósfera es un campo de batalla entre microorganismos patógenos y no patógenos de la cual depende la supervivencia de las plantas.

El efecto de organismos fitopatógenos sobre las plantas resulta de las reacciones bioquímicas entre las sustancias producidas por fitopatógenos que se encuentran en el suelo y los exudados de raíces. Algunos hongos fitopatógenos producen sustancias como: enzimas, toxinas, reguladores de crecimiento y polisacáridos. Los polisacáridos principalmente son importantes en las enfermedades vasculares porque interfieren pasivamente con la translocación de agua en las plantas y pueden ser fungitóxicos (Agrios, 1995).

2.2 DESCRIPCIÓN DEL PATÓGENO

El género *Fusarium* no tiene estado sexual conocido y pertenece a la clase Deuteromycetes; Orden: Moniliales; Familia: Moniliaceae (Agrios, 1995; Doctor Fungus, 2000). Según Agrios (1988), *Fusarium oxysporum* produce tres tipos de esporas asexuales: microconidia, macroconidia y clamidosporas. Las microconidias son de una o dos células y es el tipo de spora más abundante. Las macroconidias son formadas por tres a cinco células, curvadas en forma de media luna. Estas son comunes sobre la superficie de plantas atacadas por *Fusarium* spp. Clamidosporas, son esporas redondas de una o dos células y de paredes gruesas producidas sobre el micelio viejo o en las macroconidias.

El hongo puede invadir una planta ya sea con el tubo germinativo o el micelio penetrando las raíces de las plantas. Una vez dentro de la planta, el micelio crece intercelularmente a través del tejido cortical. El micelio permanece en los conductos del xilema donde usualmente avanza la infección en dirección de la corona del tallo. Las cepas de *Fusarium oxysporum* entran al sistema vascular a través del xilema no diferenciado en la porción juvenil de las raíces cuando la endodermis todavía no está formada.

Especies de *Fusarium* y otros que invaden el sistema vascular podrían considerarse saprófitos que también son patógenos y son colonizadores exitosos de los tejidos corticales de las raíces y tallos bajo el suelo, actuando como epífitas y endófitas (Cook y Baker, 1995).

Las diferentes formas especiales de *Fusarium oxysporum* pueden tener apariencias variables en medio de cultivo sólido. En general, el micelio aparece de color blanco y luego puede tornarse, desde violeta hasta morado oscuro, de acuerdo a la cepa (Smith *et al.*, 1988).

2.2.1 SÍNTOMAS Y DAÑO

En las plantas atacadas las raíces principales de las plántulas jóvenes muestran una mancha café oscuro con fisuras longitudinales provocando que la epidermis de la raíz se desprenda fácilmente (Anexo 1). Algunas veces la lesión se extiende hacia arriba y las plantas infectadas se marchitan y mueren. Las raíces secundarias son destruidas. Algunas infecciones permanecen latentes, no producen síntomas al instante sino hasta cuando las condiciones del medio son más favorables o bien durante una etapa distinta en la madurez de la planta. El daño por *Fusarium oxysporum*, puede presentarse desde la etapa de semillero hasta cafetal adulto (Giron, 1990).

El crecimiento del hongo dentro del tejido vascular de la planta afecta el transporte de agua. La falta de agua induce el cerrado de los estomas de las hojas, las hojas se marchitan y la planta muere (Agrios, 1988).

2.2.2 EPIDEMIOLOGÍA

F. oxysporum puede sobrevivir como saprófito en el suelo, sobre tejidos de plantas, sobre materia orgánica muerta (Castaño, 1994). El hongo puede sobrevivir como micelio o en sus tres diferentes tipos de esporas (Agrios, 1988).

Las pudriciones de la raíz por *Fusarium* spp. aumentan su severidad cuando las plantas que están expuestas al patógeno sufren agobio fisiológico causado por bajas temperaturas, sequía intermitente o excesiva cantidad de agua en el suelo, herbicidas, y compactación del suelo (Agrios, 1995). Los factores ambientales que favorecen el desarrollo de la enfermedad son una alta humedad relativa de 80%, temperaturas de 24 a 26°C, deficiencias nutricionales y mucha sombra (Procafe, 1997).

La marchitez por *Fusarium oxysporum* en plantas incrementa su incidencia y severidad cuando las plantas están también infectadas por nematodos (Agrios, 1995). En café nematodos del género *Meloidogyne* spp. provocan enfermedades como: Corchosis del cafeto, "CDC" (Marban, 1995), mal de viñas, corchosis radical (Bertsch *et al.*, 1997), "coffee decline" (Serracin, 2000), Fusariosis o Marchitez Vascular del Cafeto (Tronco ni *et al.*, 1997).

2.3 MICORRIZAS

La mayoría de plantas superiores forman en sus raíces una asociación simbiótica con hongos Ficomycetos y Basidiomicetos (Linderman y Pteger, 2000). Esta simbiosis está caracterizada por movimiento bidireccional de nutrientes donde el carbón es aprovechado por el hongo y los nutrientes inorgánicos por las plantas (Sylvia, 1999). Hay varias categorías de micorrizas de las cuales el grupo más grande son las micorrizas vesículo-arbusculares (MV A) también conocidas como endomicorrizas.

2.3.1 Endomicorrizas

Las endomicorrizas son parásitos obligados que se encuentran en un 70% de las especies vegetales en regiones tropicales, muchos de los cuales incluyendo café responden altamente a la infección (Anderson e Ingram, 1993). MV A pertenecen al orden glomales. Estas se caracterizan por formar estructuras ramificadas dentro de las células de la raíz denominadas arbusculos en los cuales ocurre el mayor intercambio simbiótico con la planta.

2.3.2 Biología

La característica principal de las micorrizas arbusculares es el desarrollo de arbusculos dentro de las células corticales de las raíces. El hongo inicialmente se desarrolla entre las células corticales y luego penetra la pared celular del hospedero y crece dentro de ella. A medida que el hongo crece, la membrana de la célula del hospedero envuelve al hongo creando un nuevo compartimento donde materiales de alta complejidad química son depositados. Este espacio apoplástico previene el contacto directo entre el citoplasma de la planta y el hongo y permite una eficiente transferencia de nutrientes entre los simbiosistas. Los arbusculos tienen una duración relativamente corta menor a 15 días (Sylvia, 1999), haciendo su observación en muestras de raíces recolectadas del campo.

Según Brundrett *et al.* (1999) existen otras estructuras que son producidas por algunas endomicorrizas. Las Vesículas son estructuras de pared delgada llenas de lípidos usualmente forman espacios entre las células. Su función principal es de almacenamiento. Estas pueden servir como propágulos reproductivos para el hongo. Las Células auxiliares son formadas en el suelo y pueden ser espiralado o redondeado. La función de estas estructuras es desconocida. Las Esporas reproductivas son asexuales, pueden ser formadas en la raíz y comúnmente en el suelo. Las esporas varían de color claro a oscuro y su textura superficial de suave a espinoso según la especie.

2.3.3 Mycoral@

Las micorrizas-vesículo arbusculares (MV A) en su presentación como Mycoral@ que es un biofertilizante presentado como suelo de textura franca, su concentración aproximada

es de 400 clamidosporas por gramo de inóculo. Mycoral@ es comercializado para uso a la siembra y trasplante de vegetales, ornamentales y frutales. El ingrediente activo está conformado por tres especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares pertenecientes a la clase Zigomicetes (*Glomus* spp., *Acaulospora* spp., *Entrophosphora colombiana*). Estas están en forma de esporas hifas y raicillas. Se caracterizan porque producen a lo largo de su ciclo de vida producen arbusculos (en todos los casos) y Vesículas (en la mayoría de ellos). Fue proveído por C.c.P.A. sección Agronomía, p.O.Box 93. El Zamorano, Honduras.

2.3.4 Mecanismo de Acción

Las asociaciones de micorriza y enfermedades radiculares tienen una clara semejanza en términos de infección al hospedero. La penetración ocurre en la raíz por medio de una hifa o apresorio que es el extremo hinchado de la hifa. Este facilita la penetración del hongo en el hospedero. Los mecanismos que pueden estar envueltos en la supresión a patógenos del suelo son los siguientes:

Competencia por nutrientes y sitio de infección: Raddatz 1(2000) menciona que la micorriza al infectar la raíz ningún otro hongo podrá infectar en el mismo sitio de infección. Linderman y Ptleger (2000) indican que la competencia por carbohidratos exudados por la planta y sitios de infección puede influenciar a suprimir los patógenos. Según Brundrett (1999), la micorriza protege a las plantas contra hongos parásitos, la cual coloniza las raíces del hospedero e influye en poblaciones de microbios del suelo y exudaciones de sustancias antagonistas en la rizósfera.

Nutrición de la planta: Sylvia (1999) menciona que las micorrizas fortalecen el crecimiento de la planta a través de la absorción de nutrientes principalmente fósforo y el incremento en la absorción de agua produce cambios morfológicos en tejidos de las raíces y reducción del estrés producido por factores abióticos.

Cambios químicos en el tejido de plantas: Jalali *et al.* (1991); Dassi *et al.* (1998) la endomicorriza adelanta reacciones de defensa en plantas relacionado con la producción de enzimas, Cordier (1998), señaló que la resistencia esta asociada con acumulación de fenoles y respuesta de defensa de las células de las plantas. Por otra parte, Fravel y Larkin (1997) mencionan que las plantas pueden defenderse por sí mismas movilizando compuestos naturales llamados fitoalexinas y otras sustancias antimicrobiales que bloquean la entrada de patógenos hacia los tejidos. Así mismo Van Der Plank (1975), estableció que fitoalexinas son producidas ampliamente en angiospermas y estas se producen en las plantas en respuesta a cambios físicos, químicos y al ataque del patógeno en los tejidos vegetales.

El grado de protección varía con el patógeno involucrado y puede ser modificado por el suelo y otros factores ambientales (Azcón-Aguilar *et al.*, 1996). Fungistasis se denomina a la incapacidad de germinación de esporas de hongos que viven en el suelo (Agrios,

1 Raddatz, E. 2000. Competencia en la rizósfera (Comunicación Personal).

1995). Los hongos del suelo coexisten con varios microorganismos antagonistas que causan un ambiente de inanición y de metabolitos tóxicos. En algunos casos fungistasis es una forma de inhibición dentro del propágulo en respuesta al estímulo químico que proviene de la raíz, estímulos físicos relacionados con el gradiente de concentración de nutrientes que existe en las heridas o en los exudados de las raíces (Cook y Baker, 1989).

La colonización radicular por la endomicorriza podría disminuir, incrementar o ejercer ningún efecto significativo en el desarrollo de patógenos de la raíz Y consecuentemente la severidad de la enfermedad. El impacto resultante podría ser debido a la interacción entre patógenos y micorrizas (Jalali *et al.*, 1991).

2.4 TRICHODERMA SPP

Trichoderma spp. es un hongo que está presente en casi todos los suelos agrícolas y otros hábitats como madera en descomposición. Pertenece a la clase forma Deuteromycetos; Orden: Moniliales en la clasificación asexual y la mayoría de las cepas de *Trichoderma* no tienen etapas sexuales y producen solo esporas asexuales. Sin embargo, para unas pocas cepas el estado sexual es conocido y cuando es encontrado esta dentro de la forma Ascomicetos, Hypocreales y en éste ciclo de vida carece o no se conocen cepas útiles para el control biológico.

Miembros del genero *Trichoderma*, incluyendo *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamalum* y otras especies son parte de un suelo saludable y pueden ser aislados comúnmente. Unas pocas cepas de *Trichoderma harzianum* han demostrado suprimir el desarrollo de fitopatógenos. Sin embargo, las cepas se limitan a un cierto rango de plantas que protegen y patógenos que controlan (Barman, 2000).

2.4.1 Biología

Trichoderma harzianum crece y se ramifica como una hifa de hongo típica, 5-10 !Jm en diámetro. El organismo tiene esporulación asexual forma esporas de una celda, usualmente verdes, conidia (típicamente 3-5 !Jm en diámetro) que son liberadas en grandes cantidades. Las clamidosporas de una celda también son formadas aunque dos o más de estas pueden unirse. *Trichoderma harzianum* se desarrolla en una variedad de suelos ricos en materia orgánica con pH entre 4-8 y temperaturas entre 8°C y 35°C.

2.4.2 Mycobact

Trichoderma harzianum en su presentación como Mycobact(l) es un fungicida biológico presentado como pasta blanquecina soluble en agua, su concentración mínima es de 20 millones de conidias viables por gramo de producto formulado. Su etiqueta indica que puede ser usado en aspersiones foliares y como riego pesado "drench" a razón de

100g/100L de agua. Mycobac~ fue adquirido de Laverlam S.A., Carrera 5 No. 47-165. Cali-Colombia.

2.4.3 Rootshield@

Trichoderma harzianum cepa T -22, es un morido patentado, ingrediente activo de Rootshield@ que es un fungicida biológico presentado como polvo mojable de coloración plomiza que contiene esporas de hongos benéficos, contiene como mínimo 1×10^9 UFC/g en peso seco. Su panfleto indica no tener efectos adversos contra humanos, animales o plantas. Esta listado por el Instituto encargado de revisar materiales orgánicos (OMRI) para el uso en producción orgánica de cultivos. El intervalo de reingreso al área tratada es 0 horas y puede ser aplicado como inoculante al suelo o a la mezcla del medio de crecimiento. Rootshield~ fue proveído por Bioworks, Inc., 122 N., Genesee St., Geneva, NY 14456. Rootshield~ provee protección contra hongos patógenos del suelo como *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., y *Fusarium* spp en un sin número de cultivos incluyendo plantas herbáceas, anuales y perennes.

2.4.4. Mecanismos de acción

Trichoderma harzianum tiene habilidad para colonizar el sistema radicular, llamada competencia en la rizósfera. Harman (2000), indica que *Trichoderma harzianum* coloniza las raíces y se establece en la rizósfera, el hongo crece y se desarrolla mejor cuando hay abundancia de raíces saludables, atacando, parasitando y obteniendo nutrientes de otros hongos y favoreciendo el desarrollo de la planta y raíz.

Trichoderma harzianum produce mas endoquitinasa y enzimas que le permite consumir hongos patógenos en un proceso llamado micoparasitismo. Según Harman (2000), el mico parásito crece sobre el contenido de las hifas del patógeno produciendo B-(1-3)glucanasa y quitinasa que causa exolisis. La exolisis es la disolución de la pared y membrana celular seguido por derrame del contenido celular de la hifa del patógeno que provoca la muerte (Cook y Baker, 1989).

Trichoderma harzianum produce sustancias de tipo antibiótico tales como tricodermin y harzianopiricona que causan un efecto antagónico sobre el fitopatógeno. También, produce enzimas de tipo lítico que son capaces de destruir los esclerocios o estructuras de resistencias del fitopatógeno.

2.5 COMPATIBILIDAD A PESTICIDAS. Los ingredientes activos, *Trichoderma harzianum*, strain T -22, Y Mycoral son compatibles con fertilizantes, insecticidas, alguicidas y fungicidas mas comúnmente usados. Puede ser aplicados solos o mezclados en el medio de crecimiento con otros fungicidas sintéticos compatibles (Anexo 2). Con fungicidas incompatibles, aplicar el fungicida biológico 10 días después a la aplicación del fungicida químico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

Este estudio se realizó en la casa malla No. 3, y en el Laboratorio del Centro de Inventario Agro Ecológico y Diagnóstico de la Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria (C.C.P.A.) de la Escuela Agrícola Panamericana "El Zamorano", Honduras. Zamorano esta localizado a 14 ° latitud norte y 87° longitud oeste, a 800-.. msnm, con precipitación media anual de 1051 mm, distribuidos la mayor parte de junio y noviembre, con una temperatura media anual de 22°C.

3.2 MATERIAL HOSPEDERO

Semillas de café variedad Lempira (*Coffea arabica*), adquiridas del Instituto hondureño del café (IHCAFE), y plántulas de 90 días de edad fueron utilizadas.

3.3 TRATAMIENTOS

Los agentes de control biológico fueron evaluados en el experimento para comparados con Benlate<l> 50WP como testigo químico y un testigo absoluto. La dosis utilizada se indica en el siguiente cuadro:

Cuadro I. Tratamientos y dosis de agentes de control químico y biológico usados en suelo infestado y no infestado (*Fusarium oxysporum*).

No.	Tratamiento	Concentración	Dosis	Aplicación
1.	Rootshield	1 x 1 09 @	1 gIL	Inundación a la siembra
2.	Mycobac<l>	2x106 @	1 gIL	Inundación a la siembra
3.	Mycoral<l>	>400 11>	5 g/semilla	Al momento de la siembra
4.	Benlate<l>	50WP q	1 g/0.83L	Al momento de la siembra
5.	Testigo absoluto	O	Ninguno	Ninguno

@= Unidades Fonnadoras de Colonias (UFC)/g de producto formulado

<l>= Clamidosporaslg de producto comercial

q= 50% de i.a. en la formulación polvo mojable

3.3.1 Almacenamiento

Los productos biológicos fueron conservados según recomienda su etiqueta. Mycobacill> se mantuvo bajo refrigeración entre 2-9°C; Rootshieldill> y Mycoral~ se conservaron en lugar fresco y seco a temperatura ambiente entre 15 y 25°C. Los productos bajo estas condiciones mantienen sus características mínimo durante seis meses, periodo en el cual fueron utilizados.

3.4 COLECTA DE FITOPATÓGENO

El patógeno *Fusarium oxysporum* fue colectado de plántulas infectadas de café variedad Lempira cultivadas en medio de crecimiento de textura franco arenosa. Las muestras de plántulas fueron traídas de la Finca del Dr. Mencías localizada en el municipio de San Francisco de la Paz, Olancho.

3.5 AISLAMIENTO Y POSTULADOS DE KOCH

Después de lavar y desinfectar las raíces y bases de tallos que contenían corchosis y pudrición radicular, sintomatología causada por *Fusarium oxysporum*, se realizaron siembras de tejido sacados asépticamente al centro de varios platos petri de 12 cm de diámetro utilizando como medio de cultivo PDA (papa Dextrosa Agar). Los platos se almacenaron a medio ambiente, alrededor de 20°C, con luz diurna. Se realizaron observaciones diarias y después de 5 días se observó el desarrollo de un hongo y una bacteria de gram negativo.

Se transplantó el hongo a otros platos utilizando una ansa. Al hongo se lo incubó por 8 días para realizar su identificación y prueba de patogenicidad. Se observó el plato, por un lado micelio que cubría cerca del 90% del área y por otro lado a través del fondo una coloración púrpura característica de *Fusarium oxysporum* (Anexo 3). Se abrieron los platos y se extrajo una porción de estructuras formadas por el hongo y se las observó en microscopio 40x, identificando conidias y conidióforos iguales a las que produce el género *Fusarium* spp. La prueba de patogenicidad se realizó siguiendo los postulados establecidos por Koch en 1876 (Anexo 4). Castaño (1994).

3.6 IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO

La identificación y confirmación del organismo patógeno se realizó inicialmente en el centro de Inventario Agroecológico y diagnóstico (CIAD) de Zamorano. Se identificó que el hongo patógeno pertenece al género *Fusarium* spp. Para determinar la especie y su forma especial se enviaron muestras a Diagnostic and Advisory Laboratory, CABI Bioscience, Bakeham Lane, Egham, Surrey TW209TY, United Kingdom (Anexo 5). El reporte final del análisis indica que *Fusarium oxysporum* Schltdl. fue identificado. La identificación del hongo reporta morfología inusual.

3.1 PRODUCCIÓN DEL INÓCULO

Una vez comprobada la presencia de *Fusarium oxysporum* proveniente de plántulas infectadas de café se procedió a sembrar en PDA (papa Dextrosa Agar) 60 platos petri haciendo uso de una cámara de flujo laminar en el Laboratorio del Centro de Inventario Agro ecológico y Diagnóstico de la Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Se utilizaron materiales esterilizados de laboratorio y una cámara de incubación con una temperatura promedio de 24° C.

3.7.1 Preparación de la solución de conidias

Se utilizaron 52 platos petri con colonias puras del aislamiento de *Fusarium oxysporum*. Posteriormente se licuaron las colonias con 4000 cc de agua destilada estéril durante 8 segundos en 8 ocasiones Rodríguez 2(2000). Cada vez que se licuó se utilizaron colonias procedentes de alrededor cinco platos petri para homogeneizar la solución de conidias.

Mediante una pipeta pasteur se extrajo una alícuota de la solución previamente agitada. Se hizo un conteo del número de conidias utilizando un hematocímetro y un microscopio de luz con magnificación de 40X. El conteo según recomienda (French y Hebert, 1980) en el manual de Métodos de Investigación Fitopatológica. Se realizaron dos lecturas para establecer un promedio de UFC y resultó de $18,05 \times 10^6$ Ice.

3.7.2 Inoculación en bandejas

Se utilizó un balde y una copa plástica de 15 cc. La solución de las conidias de *Fusarium oxysporum* fue vertida en cada una de las celdas a razón de 15 cc por celda, una semana previa a la siembra. Dos días antes de la inoculación se inició el riego para tener una humedad adecuada en el suelo. Los productos fueron aplicados al momento de la siembra. Una vez sembradas las semillas a 1.5 cm de profundidad, se procedió a verter 15 cc de las soluciones de Mycobact>, Rootshield@ y Benlate@ 50WP. En el caso de Mycoral@, se aplicó a la siembra depositando 5 gramos en cada celda, se asentó la semilla y después se cubrió con capa de medio estéril.

3.8 CONDICIONES CULTURALES

Todo el experimento se mantuvo dentro de la casa malla cubierta por un sarán de 60% y plástico transparente. Se utilizaron bandejas plásticas de 31 celdas y 148 cc.

El medio de crecimiento (Anexo 6), consistió de una mezcla 1: 1, suelo (12 ppm P), arena de río lavada, pasteurizada por tres horas a 85°C.

En cada celda de 148 cc se depositaron dos semillas hidratadas por 24 horas.

Posteriormente la semilla fue cubierta con el medio de crecimiento estéril utilizado en el

experimento. La humedad del suelo permaneció constante en todos los tratamientos mediante la utilización de riego por capilaridad. Las bases de las mesas fueron cubiertas con grasa para evitar la presencia de zompopos sobre ellas. Se podó las cercas vivas para tener una uniformidad en el ingreso de la luz y se colocó una barrera plástica entre casas mallas para evitar salpique de agua.

3.9 DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento fue establecido en un factorial 5x2 distribuidos al azar en Parcelas Divididas. La parcela principal fue el inóculo porque el interés del estudio es evaluar los productos y no la respuesta del inóculo. Según Gomez (1984) el mayor grado de precisión para el factor de interés se obtiene asignando éste como la subparcela. La naturaleza, el interés y el grado de precisión del estudio fueron considerados para la distribución de los tratamientos que se indican en el Cuadro 2.

Cada tratamiento tenía 4 repeticiones pero estas se mantuvieron bloqueadas por tratamientos para evitar contaminación entre estos. No se utilizó un sistema aleatorio dentro de las subparcelas debido al poco espacio disponible en la casa malla. Entre los tratamientos las bandejas fueron separadas a 60 cm y una cobertura plástica se colocó en la parcela principal entre con y sin inóculo para evitar contaminación.

Cuadro 2. Distribución de agentes de control químico y biológicos con y sin inóculo de *Fusarium oxysporum*.

Tratamiento	Inóculo (<i>F. oxysporum</i>).							
	Con				Sin			
Testigo absoluto	T1	T1	T1	T1	T6	T6	T6	T6
Benlate@	T2	T2	T2	T2	T7	T7	T7	T7
Mycoral@	T3	T3	T3	T3	T8	T8	T8	T8
Rootshield	T4	T4	T4	T4	T9	T9	T9	T9
Mycobac	T5	T5	T5	T5	T10	T10	T10	T10

3.10 VARIABLES EVALUADAS

A los 120 días de la siembra, 5 plantas por réplica fueron seleccionadas de entre cada uno de los tratamientos para evaluar las siguientes variables: días a emergencia, % de germinación, % de incidencia, severidad, longitud de raíz principal, longitud del tallo, peso fresco y peso seco foliar y de raíz, número de hojas, % de colonización por micorriza y número de esporas de micorriza/rnl. Las plántulas extraídas fueron seleccionadas de acuerdo a la fecha de emergencia según los datos recolectados de la variable, días a emergencia, para disminuir el error experimental del crecimiento en biomasa debido a la lenta germinación de la semilla de café.

3.10.1 Germinación

Desde la primera emergencia, a los 45 días de la siembra, en todos los tratamientos, semanalmente se evaluó el número de semillas que habían germinado y emergido. Se incluyó semillas que ya han emergido y en etapa de fosforito. Con esto se observó el efecto de los tratamientos sobre el tiempo de emergencia ya que los organismos podrían tener alguna influencia en la descomposición del pergamino y desarrollo de *Fusarium oxysporum*. Así mismo para tener referencia de la edad de las plántulas al momento de la extracción y disminuir el error experimental.

3.10.2 Incidencia y severidad de la enfermedad

A los 120 días de la siembra se realizó la extracción de plántulas de café al azar y se determinó visualmente el número de plántulas infectadas por *Fusarium oxysporum*. Para evaluar el grado de infección por *Fusarium oxysporum* causante de la pudrición radicular en semilleros de café se utilizó una escala de severidad de 0-4 (Anexo 7) donde:

Grado de severidad/Sintomatología:

0. Planta sin raíces infectadas, sana

1. Raíces secundarias infectadas menor a cinco, leve

2. Raíz principal y más de cinco raíces secundarias infectadas, infectada 3.

Marchitez foliar, raíz principal y raíces secundarias infectadas, marchitez 4.

Muerte

3.10.3 Longitud de raíz principal

Este parámetro se lo evaluó el día 120 de la extracción de plántulas. Las raíces frescas sin medio de crecimiento, lavadas con agua, se estiraron sobre una regla en milímetros para determinar su longitud desde el cuello entre el tallo e inicio del sistema radicular.

3.10.4 Peso seco y fresco de plántulas

Se determinó el peso fresco y seco de raíz y área foliar (tallo y follaje) por separado. Se utilizaron bolsas de papel para el secado de área foliar y radicular de las plántulas individuales en un horno de secado a temperaturas 65- 70°C durante 24 horas. Una balanza electrónica para registrar el peso como indicador del desarrollo del tejido vegetal en los diferentes tratamientos fue utilizada.

3.10.5 Porcentaje de colonización de micorriza arbuscular y conteo de esporas

Se extrajeron 5 raíces secundarias de los sistemas radiculares de los tratamientos Mycoral y testigo. Una muestra de 100 g del suelo de cada uno de los tratamientos y se

determinaron el número de esporas. Se utilizó el método de tinción con azul de tripano al 0.05% para clarificar y teñir muestras de raíces. Protocolo adaptado de Jarstfer (1963), utilizado en el laboratorio de biotecnología de Zamorano (Anexo 8).

3.10.6 Conteo de esporas de *Trichoderma harzianum*

Se extrajeron plántulas de los tratamientos Rootshield@ y Mycobac@ para realizar la prueba de unidades formadoras de colonia con PDA-Ig (potato Dextrosa Agar con Igepal). Según el protocolo utilizado en Bioworks Inc. (Anexo 9).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 GERMINACIÓN

En promedio el porcentaje de germinación en todos los tratamientos con y sin *F oxysporum* fue de 18% con excepción del testigo sin, que tuvo el mayor porcentaje de plántulas germinadas a los demás tratamientos (Cuadro 4). La baja germinación posiblemente se debió al efecto de *F. oxysporum*, que es capaz de atacar a las plántulas de café pre y post emergente (Agrios, 1995), a la calidad de la semilla utilizada y a la profundidad de siembra que fue irregular y excesiva.

4.2 INCIDENCIA Y SEVERIDAD

Los datos de severidad e incidencia en el ensayo muestran que la inoculación con *F oxysporum* incrementó estas dos variables (Cuadro 3) indicándonos que la cepa usada sí fue patogénica y un buen ~ño del experimento. En los tratamientos de Mycobacil> con y testigo con se presentó mayor incidencia que los demás tratamientos (Gráfico 1).

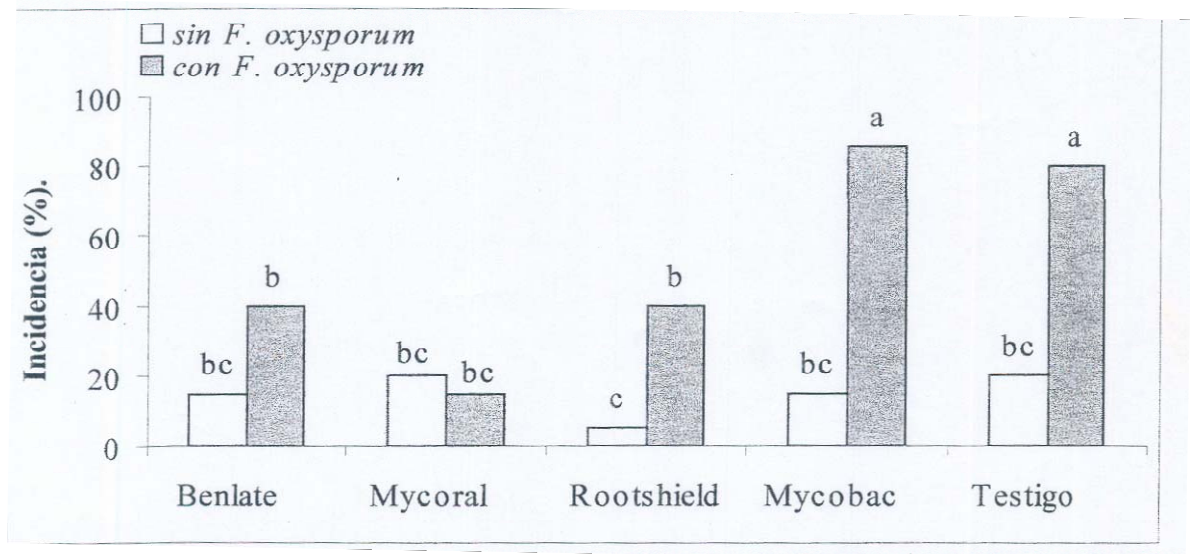


Gráfico 1. Efecto de agentes biológicos y químico en la Incidencia de la pudrición radicular causada por *Fusarium oxysporum* en plántulas de café a los 120 días de la siembra.. Valores con letras comunes no difieren significativamente según la prueba LSMEAN (P=0.05).

Al comparar Mycobac@, Rootshield@ y el testigo absoluto (Gráfico 1) se puede observar que estos no ejercieron un control satisfactorio contra *F oxysporum* en lo que se respecta a la incidencia de la enfermedad. Por su parte Benlate@ y Mycoral@ obtuvieron la misma incidencia al tener o no *F oxysporum* pudiéndose decir que ejercen un control de la enfermedad.

La severidad de *F oxysporum* observada en el experimento fue leve con un promedio de 1.6 (Cuadro 3), bajo la escala utilizada de 0-4. Se pudo observar mayor severidad en los tratamientos con *F oxysporum*. Los tratamientos con mayor severidad fueron el testigo con y MycobacQD con, éste último siendo igual al Benlate~ con (Gráfico 2). En los tratamientos con MycoralQD y RootshieldQD se observó el mismo nivel de severidad expuestos o no a *F oxysporum*. Lo que podría indicar que efectivamente la micorriza y *Trichoderma harzianum* cepa T22 proveen un grado de protección a patógenos del suelo como lo mencionan Raddatz 2(2000) y Wallace y Hayes (2001).

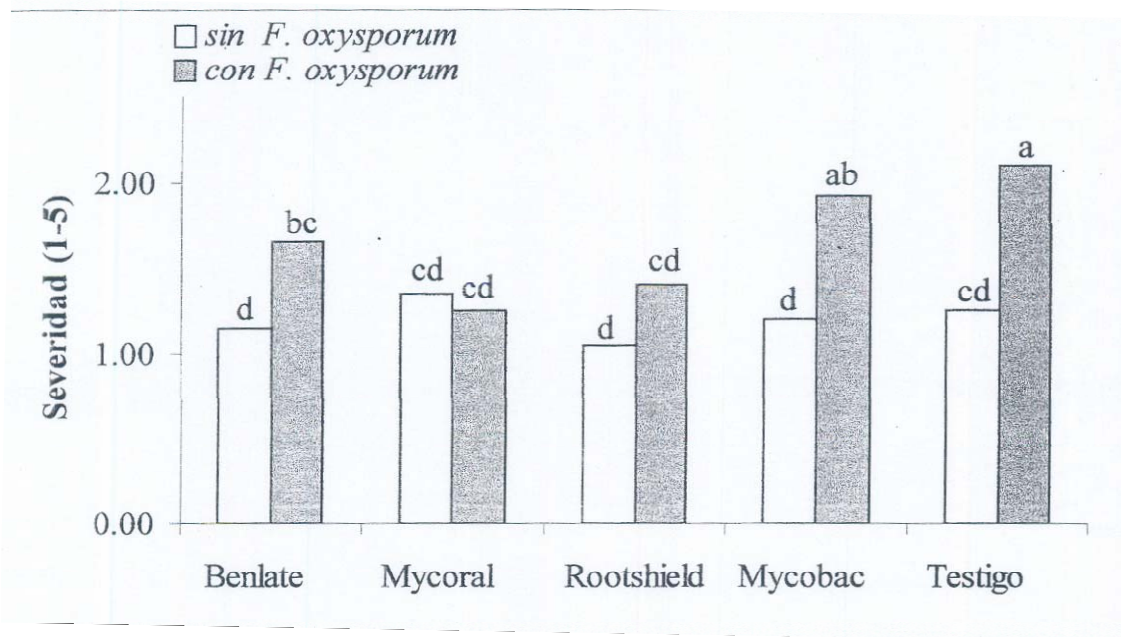


Gráfico 2. Efecto de agentes biológicos y químico sobre severidad de la pudrición radicular causada por *Fusarium oxysporum* a los 120 días de la siembra en plántulas de café. Valores con letras comunes no difieren significativamente según la prueba LSMEAN (P=0.05).

También podemos observar que en los tratamientos sin *Foxysporum* presentaron la enfermedad. Esto se puede explicar por una contaminación de *F oxysporum* en el experimento o una mala esterilización de la mezcla usada.

4.3 LONGITUD DE LA RAÍZ

La longitud de la raíz en promedio fue mayor en los tratamientos sin *F. oxysporum* (Cuadro 3). Pudiéndose decir que la inoculación de *F. oxysporum* afectó el crecimiento de la raíz iniciándose la infección en la raíz principal como lo indica Agrios (1995).

En promedio todos los tratamientos tuvieron la misma longitud de raíz expuestos o no a *F. oxysporum* (Gráfico 3). Al comparar Mycorarl), Benlate~ y testigo con y sin *F. oxysporum* se pudo observar una mayor longitud de raíz en los tratamientos sin *F. oxysporum*. Efectivamente lo que pudo deberse a la acción de la micorriza como lo menciona Linderman y Pflieger (2000) que mediante la simbiosis la micorriza mejora la absorción de nutrientes y provee protección contra patógenos del suelo a las raíces. Por su parte Mycobact> y Rootshieldt> con y sin *F. oxysporum* presentaron la misma longitud de raíz pudiéndose decir que en estos tratamientos *F. oxysporum* afectó el crecimiento de la raíz.

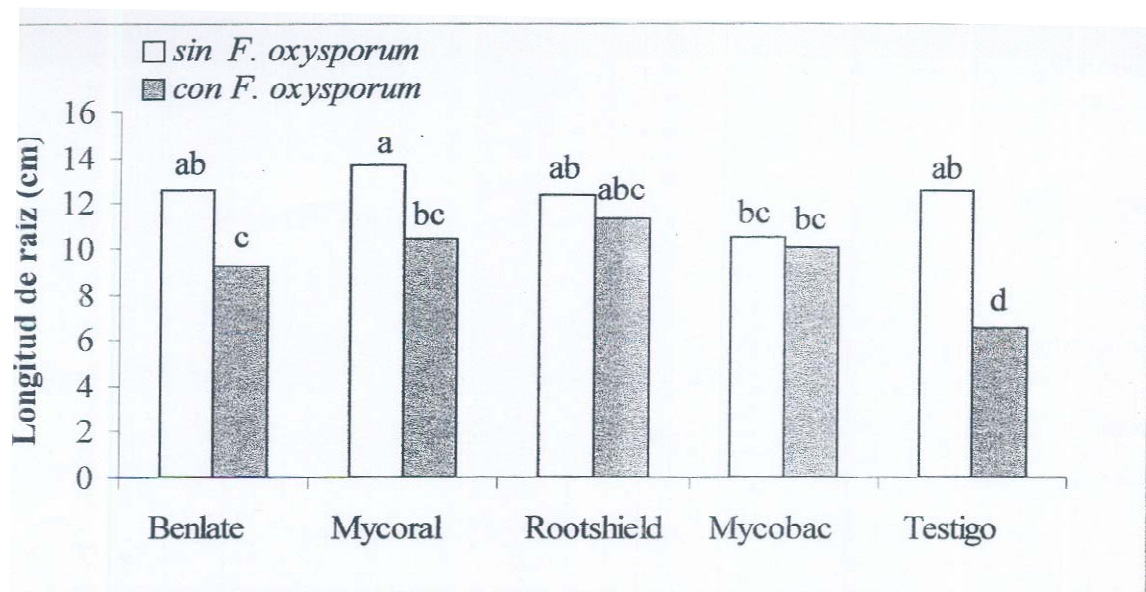


Gráfico 3. Efecto de agentes biológicos y químicos en el desarrollo radicular en medio de crecimiento con y sin *Fusarium oxysporum* en semilleros de café a los 120 días de la siembra. Valores con letras comunes no difieren significativamente según la prueba LSMEAN ($p=0.05$).

4.4 PESO SECO DE LA RAÍZ

El peso seco de raíz en promedio fue igual en todos los tratamientos con y sin *F. oxysporum* (Cuadro 3). Al comparar Mycoral~ y testigo con y sin fueron los únicos en donde se encontraron diferencias significativas (Cuadro 4). En todos los demás tratamientos el peso seco de raíces fue igual con excepción de Mycobac~ que presentó el peso radicular más bajo. Esto se podría atribuir a que las micorrizas incrementan

Cuadro 3. Efecto de *Fusarium oxysporum* en semilleros de café sobre la longitud de raíz, incidencia, severidad, peso seco foliar y de raíz en suelo infestado y no a los 120 días de la siembra.

<i>Fusarium oxysporum</i>	Longitud Raíz (cm).	%		Peso seco (g).	
		Incidencia	Severidad	Raíz	Foliar
Sin	12.34a	15.0b	1.2b	0.073 ^a	0.245a
Con	9.57b	50.53	1.63	0.059 ^a	0.213b

Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente según la prueba SNK (P=0.05).

la biomasa radicular. Estos datos concuerdan con el estudio realizado por Rodríguez (2001), donde plántulas previamente inoculadas sólo con MycoralGP obtuvieron el peso seco mayor con respecto al testigo y estos ensayos refuerzan lo mencionado por Raddatz 3(2000), que las micorrizas incrementan el desarrollo del sistema radicular a través de la simbiosis planta-hongo.

4.5 PESO SECO FOLIAR

El peso seco foliar en promedio fue igual en los tratamientos con y sin *F. oxysporum* (Cuadro 3). Solamente MycoralGP y el testigo sin presentaron peso mayor al testigo con. En todos los demás tratamientos el peso foliar fue igual. Esto se explica por el mayor porcentaje de germinación temprana en el Testigo sin *F. oxysporum* dato que concuerda con la mayor longitud del tallo obtenido en el mismo tratamiento (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de agentes biológicos y químico sobre la germinación, peso seco foliar y de raíz en semilleros de café con y sin *Fusarium oxysporum*.

<i>F. oxysporum</i>	Fungicida	%	Longitud (cm).		Peso seco (g).	
		Germinación	Raíz	13110	Raíz	Foliar
Sin	Benlate	19.2bc	12.5800	6.86d	0.069abc	0.230bcd
	Mycobac	9.0C	10.57bc	7.28bbcad	0.044d	0.193d
	Mycoral	12.5bc	13.67b	7.94ab	0.092a	0.268ab
	Rootshield	19.7b	12.38ab	7.69ab	0.071abc	0.244abc
	Testigo	36.73	12.5500	7.60abc	0.08800	0.289a
Con	Benlate	16.0bc	9.23c	6.90cd	0.066bcd	0.193d
	Mycobac	16.6bc	10.01bc	6.56d	0.043d	0.196cd
	Mycoral	14.0bc	10.43bc	6.94cd	0.06cd	0.237bcd
	Rootshield	18.2bc	11.42abc	8.19a	0.064cd	0.224bcd
	Testigo	19.5b	6.55d	6.66d	0.059cd	0.210cd

Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente según la prueba LSMEAN (P=0.05).

3 Raddatz, E. 2000. Efecto de Mycoral en la raíz de la planta (Comunicación Personal).

por su garte Rootshield⁴ y Mycoral⁴ sin presentaron igual peso seco foliar seguido por Benlate sin con excepción de Mycobac que presentó el peso menor, pudiéndose decir que la micorriza y *Trichoderma harzianum* mejoran el desarrollo y vigor de la planta como lo indica Raddatz⁴(2000) y Wallace y Rayes (2001).

Sin embargo V osatka *et al.* (2000), inoculó medios de crecimiento con micorrizas arbusculares y *Trichoderma harzianum* y ambos, en plantas ornamentales, encontrando una diferencia marcada de coloración de hoja, incremento del peso seco y altura de plantas con inóculos de micorriza y en combinación con *Trichoderma* spp. Sin embargo, *Trichoderma* spp. solo no tuvo ningún efecto en parámetros de crecimiento ni coloración de hojas.

4.6 INFECCIÓN DE RAÍCES POR MICORRIZAS y NÚMERO DE ESPORAS/ML

Los niveles de infección de raíces oscilaron entre medio y bajo (Cuadro 5) los cuales se presentaron en Mycoral[@] con y sin y el testigo con *F oxysporum*. En Mycoral^{<1>} y testigo.

Gon y sin *F. oxysporum* se observaron esporas de hongos formadores de micorriza. Pudiéndose decir que la infección por micorriza no es afectada por *Fusarium oxysporum* (Anexo 10). Estos datos concuerdan con estudios realizados por Zambolim y Schenck (1983). Ellos encontraron que el porcentaje de colonización de raíces de soya por *Glomus* spp., no fue afectado por la presencia del hongo patógeno y la colonización compensó el efecto del patógeno sin cambiar la incidencia de la enfermedad. Por otra parte, Caron *et al.* (1985) encontró que la colonización de raíces por *Glomus* no fue afectada por la presencia de *Fusarium oxysporum*.

Cuadro 5. Infección por micorriza en raíces de plántulas de café a los 120 días de la siembra y número de esporas en suelo con y sin *Fusarium oxysporum*.

Fusarium oxysporum Tratamiento No. de esporas/ml Infección de raíces (%).

Con Testigo	12B	..?B
Mycoral	15B	20M
Sin Testigo	7B	OB
Mycoral	25M	5B

B= bajo (20 esporas/ml y 20% infección) M= medio (0-39 esporas/ml y 20-39% infección)

4.7 CONTEO DE ESPORAS DE *TRICHODERMA HARZIANUM*

En las diluciones del producto puro cultivado hubo desarrollo de esporas de *Trichoderma harzianum* de color verde. En las diluciones de suelo cultivadas con los tratamientos Mycobactl[>] y Rootshield[@] no hubo desarrollo de esporas. Esto seguramente se debió a la baja concentración de esporas en las diluciones cultivadas.

⁴ Raddatz, E. 2000. Efecto de Mycoral en la raíz de la planta (Comunicación Personal).

5. CONCLUSIONES

1. Hubo baja incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* en el ensayo.
2. La cepa de *Fusarium oxysporum* causó daño leve y sí afectó la germinación y el peso seco final de la raíz.
3. Los tratamientos con y sin *Fusarium oxysporum* tuvieron diferencias en las variables incidencia, severidad y longitud de raíz.
4. Mycoral(!) y Rootshield@ redujeron la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* igual a Benlate@.
5. Mycoral(!) y Rootshield@ fueron los mejores igual a Benlate@ comparado con el testigo en las variables incidencia, severidad y longitud de la raíz.
6. El aplicar o no Mycobac@ protegió igual que el testigo bajo condiciones del ensayo.
7. Las diluciones utilizadas para el conteo de esporas de *Trichoderma harzianum* fueron elevadas.

6. RECOMENDACIONES

1. Hacer ensayos con Mycoral@ y Rootshield@ juntos y por separado para estudiar el efecto antagonista sobre patógenos.
2. Realizar pruebas de campo.
3. Usar semilla con buena germinación.
4. Realizar no más de dos reaislamientos para el aumento del patógeno
5. Utilizar menor grado de dilución para el conteo de esporas de *Trichoderma harzianum*.

7. BIBLIOGRAFÍA

ABDALLA, M.E.; ABDEL-FATTAH, G.M., 2000. Influence of the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. Mycorrhiza-Abstract. 10(1):29-35 Accesad030 de Octubre 2000. Disponible en <http://www.mycorrhizacitations.htm>

AGRIOS, G. Ñ. "W95._.Fitopatología.. Trad.P.oI.ManueIGuzmán Ortiz. 2ed. México, México, Noriega Editores. 838 p.

AGRIOS, G. N. 1988. Plant pathology, 3rd. Ed. Academic Press, Inc.: New York. 803 p.

ANDERSON, I.M.; INGRAM, I.S.!. @1993. Tropical soil biology and fertility; a hand book methods. 2ed. United ofKingdom. C.A.B. International. p121-128.

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soilborne pathogens-an overview ofthe mechanisms involved. [http://Springer LINK: Mycorrhiza-Abstract Volume 6 Issue 6 \(1997\) p 457-464](http://Springer LINK: Mycorrhiza-Abstract Volume 6 Issue 6 (1997) p 457-464).

BERTRAND, B.; NUNEZ, C.; SARAH, J.L. 2000. Disease Complex in coffee involving *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*. British Society for plant Plant Pathology. Plant Pathology 49 (3), p 383-388.

BERTSCH, F.; HENRIQUEZ, C.; RAMIREZ, F.; V ARGAS, E.; ORTIZ, O.; RIVERA, O.; PICADO, R 1997. Factores Nutricionales asociados a la expresión de la corchosis radical en café. In: Simposio Latinoamericano de Caficultura, 18. San José, Costa Rica. ICAFEIICA-PROMECAFE. P 191-203.

BRUNDRETT; M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. 1999. Arbuscular mycorrhizas. In: Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Camberra, Australia, 1996. p 20-41. Dispomble en <http://www.fii>.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html>

CARON, M.; RICHARD, C.; FORTIN, J. 1986. Effect ofpreinfestation ofthe soil by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, on *Fusarium oxysporum* crown and root rot oftomatoes. Phytprotection, 67:15-19.

CASTAÑO-ZAPATA, J. 1994. Principios Básicos de Fitopatología. 2ed. Zamorano, Honduras. Zamorano Academic Press. 518 p.

COO~ J. R.; BAKER, K. F. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. 539 p.

CORDIER, O.; POZO, M.; GIANINAZZI, S.; PEARSON, V. 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. Available at: <http://www.mycorriza.ag.utk.edu/mlate.htm> (verified 04 May. 2000).

DAS SI, B.; GAUDOT, E.; GIANINAZZI, S. 1998. Do pathogenesis-related (PR) proteins play a role in bioprotection of mycorrhizal tomato roots towards *Phytophthora parasitica*. Accessed 15 de Noviembre 2000. Disponible en <http://www.MycorrhizalCitations.htm>

DAINOFF, L.E.; NEMEC, S.; PERNEZNY, K. 1995. Biological Control of *Fusarium* crown and root-rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. Florida Agricultural Experiment Station. Journal series No. R-04120 Biological Control 5: 427-431

DOCTOR FUNGUS. ©2000. Synonym and classification data for *Fusarium* spp. Accessed 22 de julio 2001. Disponible en <http://www.doctorfungus.org/imageban/synonyms/fusarium.htm>

FRAVEL, D.; LARKIN, R. 1997. Fungal Rivalry protects tomatoes. Available at: Agricultural Research. (verified 04 May 2000).

FRENCH, E.R.; HEBERT, T.T. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. San José, Costa Rica. IICA Revisión. Matilda Piza K. 289 p.

GIRON, J.J.; 1990. Diagnostico de la Clorosis Típica en café *In*: Primer encuentro Regional de consulta sobre factores condicionantes de la marchitez lenta del café. Mestepeque, Nicaragua. Memoria. IICA-PROMECAFE. p 38.

GOMEZ, K.; GOMEZ, A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. 2ed. A International Rice Institute. Singapore. Kin Keong Co. p 84-130.

GONSALVEZ, A.; FERREIRA, S. 2001. *Fusarium* Primer; General Information Summary. Department of Plant Pathology, College of Tropical and Agriculture and Human Resources. University of Hawaii at Manoa. Accessed 22 de Julio 2001. Disponible en <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/fusDrim.htm>

HARMAN, G.E. 2000. *Trichoderma* for Biocontrol of plant pathogens: From basic research to commercialized products. Departments of horticultural science and of plant pathology, Cornell University. Accessed 3 de Noviembre 2000. Disponible en <http://harman.html>

JAIMEZ-VEGA, M.C.; SOSA, B.; HERNÁNDEZ, J.M.; 1998. Interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and the soil pathogen *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Cubense* on the first

stages of micropropagated grande naime banana. España. Departamento de protección vegetal. Instituto Canario de investigación agraria. p 285-298.

JALALI, RL.; JALALI, I.; 1991. Micorriza in Plant disease control. *In* Hand book of applied mycology. New York, E.E.U.U. Marcel Dekker. p 131-154. 5v

JARSTFER, A.G.; 1963. University of Florida, Soil Science Department, 2171 McCarty Hall, Gainesville, FL 32611-0151 USA. Plant Dis. Rep. 48:692.

KAI, H.; UEDA, T.; SAKAGUCHI, M. 1990. Antimicrobial activity of bark-compost extracts. *Soil Biology*. Vol. 22(7):983-986.

LINDERMAN, R; PFLEGER, F. 2000. Mycorrhizae and plant health. Ed. By The American Phytopathological society, Sto Paul, Minnesota, U.S.A. p 1-83.

MANANDHAR, J.B.; THAPLIY AL, P.N.; SINCLAIR, J.R 1983. Potential Biocontrol Fungi for selected soybean fungal pathogens. *In* Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases. The American Phytopathological Society. 1 :36

MARBAN M., N. 1995. Avances en el estudio de la corchosis del cafeto. *In* Simposio sobre Caficultura Latinoamericana, 15. Xalapa, Veracruz, Mexico. nCA-PROMECAFE.

MARISCAL, E. 1996. Evaluación del efecto de las micorrizas (hongos) en almácigos de café. *In* Investigaciones y descubrimientos sobre el cultivo de café. ANACAFE. p 93-98.

PROCAFE, 1998. Boletín Técnico. Manejo integrado de enfermedades en viveros de café. 2ed. El Salvador. Fundación Salvadoreña para investigaciones del café. 3:8

RINCON G., A. A.; LEGUIZAMON C., J.E.; ARBELAEZ T., G. 1992. Control Biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. En semilleros de café. *Cenicafé* (Colombia) 43(3):73-83.

RODRIGUEZ MORERA, J.L. 2001. Efecto del biofertilizante Mycoral (micorriza arbuscular) en el desarrollo del café (*Coffea arabica* L.) en vivero. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras. Departamento de Horticultura. 44 p.

SERRACIN, M.; SCHMITT, D.; NELSON, S. 1999. Coffee decline caused by the Kona coffee root-knot nematode. Ed. por (CTAHR), College of Tropical Agriculture & Human Resources University of Hawaii at Manoa. p 1-2.

SMITH, I.M., J. DUNEZ, D.H. PHILLIPS, R.A. LELLIOTT, AND S.A ARCHER, E. 1988. European Handbook of plant diseases. Blackwell Scientific Publications: Oxford. 583 p.

SYL VIA, D. 1999. Mycorrhizal simbioses. Accesado 9 de Junio 2000. Disponible en <http://www.ifas.ufl.edu>

TRONCONI, N.; PINEDA, C.; ORDOÑEZ, M. 1997. Memoria 6to Seminario Nacional de Investigación y transferencia en Caficultura. Evaluación de productos químicos para el control de *Fusarium* spp. en semilleros. Tegucigalpa, Honduras. p 298-305.

TORUÑO SAMPSON, G. 1999. Control de *Fusarium oxysporum* en semilleros de repollo en la localidad de Miratlor, Estelí, Nicaragua, mediante el uso de solarización y enclamiento como tratamientos alternativos al uso de químicos. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras. Departamento de Protección Vegetal. 32 p.

VAN DER PLANI<. 1975. Principles of Plant infection. United of Kingdom. Academic Press, Inc. p 187-190.

VOSATKA, M.; SRAMEK, F.; DURBSKY, M. 2000. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* on three species of balcony plants. Accesado 11 de Noviembre 2000. Disponible en <http://www.Mycorrhizal citations.htm>

W ALLACE, R.; HA YES, C. 2001. Improving crop health with *Trichoderma harzianum* strain T -22. Accesado 8 de Agosto 2001. Disponible en <http://www.t-22.com/article1.htm>

ZAMBOLIN;L.; SCHENCK, N. 1983. Reduction of the effects of pathogenic, root-infecting fungi on soybean by the mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*. *Phytopathology*, 73: 1402-1405.