

ZAMORANO

**Panamerican School Agriculture
Department of Plant Protection**

**EVALUATION OF BOTANICAL PRODUCTS AND THE FUNGUS
Paecilomyces lilacinus FOR THE CONTROL OF *Pratylenchus coffeae*
IN COFFEE NURSERIES**

Thesis presented to fulfill part of the requirements for the title of Ingeniero Agrónomo, an academic equivalent to Bachelor degree.

by

Francisco Salvador Ibarra Velásquez.

**ZAMORANO, HONDURAS
Diciembre, 1997**

El autor concede a la Escuela agrícola Panamericana permiso para distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Francisco Salvador Ibarra V.

Honduras, 6 de Diciembre 1997

Evaluación de productos botánicos y el hongo *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Pratylenchus coffeae* a nivel de vivero de café.

Por:

Francisco Salvador Ibarra V.

Aprobada

Mario Bustamante, M.Sc.
Asesor principal.

Michael Zeiss, Ph.D
Coordinador PIA.

Nelson Montoya, M.Sc.
Asesor.

Allan Hruska, Ph.D
Jefe de Depto.

Odilo Duarte, Ph.D
Asesor.

Antonio Flores, Ph.D
Decano Académico.

Nicole Viaene, Ph.D
Asesor

Keith Andrews, Ph.D
Director.

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por iluminarme, guiarme y ayudarme en todo momento de mi vida.

A mis padres Marta de Ibarra y Guillermo Ibarra por brindarme siempre su apoyo incondicional, confianza y ánimos.

A mis hermanos Marti, Graciela, Mariellos y Guillermo por apoyarme y ser muy especiales.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Salvadoreña Para Investigaciones del café (PROCAFE) por haber financiado mis estudios del Programa de Agrónomo como de Ingeniero Agrónomo. Mil gracias!

Al Ing. Mario Bustamante por el apoyo brindado, por sus consejos, por ser un amigo sincero y por ayudarme constantemente para la realización de la tesis. Gracias don Mario!

A la Dra. Nicole Viaene por brindarme su ayuda, compartir sus conocimientos y enseñarme detalladamente los pasos a seguir durante la presente investigación. Gracias Dra. Nicole!

Al Ing. Nelson Montoya, por brindarme su ayuda incondicional, su apoyo y consejos en la realización de la tesis.

Al Dr. Odilo Duarte por ayudarme, aconsejarme y brindarme sugerencias para mejorar esta investigación

Al Dr. Michael Zeiss por ayudarme y guiarme en los análisis estadísticos.

A la Sra. Nolvía Ramos por brindarme su ayuda y colaboración en todo momento.

A la Ing. Araceli Castro por ayudarme en la obtención de las instalaciones para el vivero.

A la Ing. Liana Càceres por brindarme su ayuda y apoyo en la fase inicial de esta investigación.

A los Agrs. Gustavo Larrea, Lex Sandoval, René Barrientos, Mardoqueo González, Fidel Mèndez, Francisca Palacios, Julia Prado y Marcelo Mosquera por su apoyo y amistad sincera.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Agradezco a la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE) por haberme financiado mis estudios tanto del programa de Agrónomo como de Ingeniero Agrónomo. Gracias de todo corazón!

Al Ing. Manuel Vega por guiarme, ayudarme y brindarme sus consejos antes de iniciar la presente investigación.

Agradezco al Ing. Rivera, nematólogo de PROCAFE, por compartir sus experiencias y consejos al iniciar mi proyecto de tesis.

RESUMEN

Los nemátodos son considerados como una de las principales plagas en el cultivo del café. *Pratylenchus coffeae* es el que ha causado mayores daños en El Salvador, reduciendo considerablemente los rendimientos de café. El manejo tradicional de estos organismos, se ha basado en aplicaciones al suelo de nematicidas sintéticos. Estos productos pueden llegar a contaminar las fuentes de agua. Existen otras alternativas de manejo de nemátodos, que permiten de una manera sostenible y eficiente, obtener beneficios sin contaminar el medio ambiente, como el uso de productos botánicos y biológicos. Por esta razón se realizó esta investigación evaluando el extracto de semilla de neem (*Azadirachta indica*) 40 y 80 g/l, Biostat (*Paecilomyces lilacinus*) 5 g/ha , pulpa de café 90 g/planta (pl), extracto de marigold (*Tagetes* sp) 40 g/l, torta de neem 4 g/pl y extracto de neem + marigold 4 g/pl y 40 g/l respectivamente. Este estudio se realizó en invernadero y laboratorio. En la fase de invernadero, se midieron las variables altura de planta, peso de follaje y raíces y nemátodos por gramo de suelo y raíz. El nemátodo aislado de banano, a pesar de ser considerado polífago no pudo adaptarse a su nuevo hospedero, por lo que los resultados en invernadero, no muestran diferencias entre sí (resultados similares se han observado en CIRAD, Francia). En la fase de laboratorio, el extracto de neem y extracto de neem + marigold, se comportaron como nematostáticos; *P. Lilacinus* y torta de neem, favorecieron la supervivencia del nemátodo. De los tratamientos aplicados en invernadero, el tratamiento testigo fue el de menor costo.

CONTENIDO

Derechos del autor.....	Pág.	i
Aprobación.....	ii	
Dedicatoria.....	iii	
Agradecimientos.....	iv	
Agradecimiento especial.....	v	
Resúmen.....	vi	
Contenido.....	vii	
Índice de cuadros.....	ix	
Índice de figuras.....	x	
Indice de anexos.....	xi	

I.

INTRODUCCIÓN.....	1
--------------------------	----------

1.1	Objetivos.....	2
1.1.1	Objetivo general.....	2
1.1.2	Objetivos específicos.....	2

II	REVISION DE LITERATURA.....	4
-----------	------------------------------------	----------

2.1	<i>Pratylenchus</i> sp.....	4
2.1.1	Historia.....	4
2.1.2	Distribución geográfica.....	5
2.1.3	Clasificación.....	5
2.1.4	Ciclo de vida.....	6
2.1.5	Morfología.....	6
2.1.6	Forma de penetración en las raíces.....	7
2.2	Neem.....	8
2.3	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	8
2.3.1	Características.....	9
2.3.2	Control biológico potencial.....	10
2.4	<i>Tagetes</i> sp.....	11
2.5	Pulpa de café.....	11

III. MATERIALES Y METODOS.....	13
3.1 Fase de vivero.....	13
3.1.1 Diseño estadístico.....	14
3.2 Extracción de nemátodos	14
3.2.1 Conteos.....	14
3.2.2 Inoculación de plántulas.....	15
3.3 Preparación de productos a aplicar.....	15
3.3.1 Extracto de neem (40 y 80 g/l).....	15
3.3.2 <i>Paecilomyces lilacinus</i>	15
3.3.3 Pulpa de café.....	15
3.3.4 Extracto de marigold.....	16
3.3.5 Torta de neem.....	16
3.3.6 Terbufós.....	16
3.3.7 Torta de neem + extracto de marigold.....	16
3.4 Variables a medir.....	16
3.4.1 Altura de planta.....	17
3.4.2 Peso de raíz.....	17
3.4.3 Peso de follaje.....	17
3.4.4 Número de nemátodos presentes en las raíces.....	17
3.4.5 Número de nemátodos en 250 g de suelo.....	17
3.5 Fitotoxicidad.....	18
3.6 Análisis económico.....	18
3.7 Fase de laboratorio.....	18
3.7.1 Fuente de nemátodos.....	19
3.7.2 Preparación de productos.....	19
3.7.3 Distribución de platos petri.....	19
3.8 Variable a medir.....	19
3.9 Dinámica del ensayo.....	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	21
4.1 En vivero.....	21
4.1.1 Nemátodos por g de raíz.....	21
4.1.2 Peso de raíz y follaje.....	23
4.1.3 nemátodos por gramo de suelo.....	23
4.1.4 Altura de planta.....	24
4.2 Análisis económico.....	25
4.3 Fitotoxicidad.....	26
4.4 Resultados de bioensayo.....	27

V. CONCLUSIONES.....	31
VI. RECOMENDACIONES.....	32
VII	
BIBLIOGRAFIA.....	33
VIII ANEXOS.....	34

INDICE DE CUADROS

Cuadro	pág.
1. Clasificación taxonómica de <i>Pratylenchus coffeae</i>	5
2. Separación de medias SNK para la variable nemátodos por gramo de raíz.	22
3. Separación de medias SNK para las variables peso de raíz y peso de follaje	23
4. Separación de medias para la variable nemátodos por g de suelo.....	24
5 Separación de medias para la variable altura de plantas.....	25
6 Costo(Lps)por tratamiento, Zamorano, 1997.....	26
7 Separación de medias SNk para determinar fitotoxicidad de los productos aplicados.....	27
8 Porcentaje de morbilidad en bioensayo.....	28

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Porcentaje de morbilidad de nemátodos por producto aplicado.....	29

INDICE DE ANEXOS**Anexo**

	Pág
0 Costo (Lps) por tratamiento. Zamorano, 1997.....	34

I. INTRODUCCION:

El café es uno de los cultivos más importantes en la economía de nuestros países, siendo exportable a países como Holanda, Japón, Alemania y Estados Unidos entre otros.

Los rendimientos anuales se ven reducidos por diferentes causas, siendo una de ellas el ataque de plagas. Una de las plagas importantes en la región centroamericana son los nemátodos fitopatógenos. Estos pequeños organismos habitan en el suelo y muchas veces el agricultor no se da cuenta de su presencia, causándole pérdidas económicas de manera significativa.

*En la región los géneros más importantes son *Meloidogyne sp* y *Pratylenchus sp* los cuales causan pérdidas económicas al disminuir los rendimientos durante la producción. El género *Pratylenchus* tiene la característica de ser más agresivo para causar mayor daño a las plantas, por lo que puede afectar rápidamente al cultivo haciendo difícil su control una vez presente en el campo.*

Para reducir este problema, antes de iniciar las actividades de producción de plántulas de café, se debe hacer un análisis de suelo para determinar la riqueza de nutrimentos que el suelo posee como para detectar la presencia de plagas de suelo, que puedan afectar al cultivo en el futuro.

Las prácticas de control para reducir el daño de los nemátodos o evitar su presencia comienzan desde la preparación del suelo para las eras el cual debe desinfectarse al igual que el suelo a utilizar en el llenado de bolsas. En el campo los nemátodos fitopatógenos son muy difíciles de controlar, tanto por su diseminación como por el costo de control.

Desde hace muchos años el combate de nemátodos fitopatógenos se ha basado únicamente en el control químico, sin importar al daño que estos productos causan al ambiente y sin tomar en cuenta otras alternativas de manejo que sean menos contaminantes.

En la naturaleza existen muchas plantas que contienen compuestos tóxicos para las plagas fitopatógenas, pero hay poco conocimiento de ellas y sobre todo de la efectividad que poseen para el control y de la factibilidad económica de utilizarlas como plaguicidas. También existen hongos que ayudan a disminuir las poblaciones de nemátodos existentes

en el suelo y aún no se ha reflexionado sobre la importancia que pueden tener estos contribuyendo el control biológico de los organismos mencionados anteriormente. Los hongos nematófagos pueden ser una alternativa importante para el control de nemátodos, que bajo un manejo adecuado pueden contribuir grandemente en el combate de esta plaga.

El control de nemátodos a base de productos botánicos o de hongos parasíticos puede ser una alternativa que nos brinde beneficios tanto económicos como ambientales. En esta investigación, se evaluaron principalmente productos a base de neem (Azadirachta indica), marigold (Tagetes sp), el hongo Paecilomyces lilacinus (comercialmente conocido como Biostat) y la pulpa de café. Este último como materia orgánica al suelo para reducir el daño de los nemátodos, favoreciendo su control, tal como varios investigadores han reportado.

El manejo de nemátodos debe de ser algo integral, que permita reducir la contaminación al ambiente sin afectar la producción, por esta razón se trata de buscar alternativas que contribuyan a controlar dicha plaga para tener una agricultura sostenible en el tiempo y obtener un producto, no netamente orgánico, pero si bajo el concepto de producto ecológico.

1.1 OBJETIVOS:

1.1.1 Objetivo general.

Evaluar el control de plaguicidas botánicos y biológicos sobre Pratylenchus coffeae en café.

1.1.2 Objetivos específicos.

- 1- Determinar la efectividad de neem, marigold, el hongo Paecilomyces lilacinus, y la pulpa de café sobre Pratylenchus coffeae.*
- 2- Evaluar los efectos de fitotoxicidad de neem, marigold, Paecilomyces lilacinus y pulpa de café.*
- 3-Determinar la factibilidad económica de la aplicación de los productos botánicos y biológicos sobre el control convencional.*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A continuación se presentan algunas características generales de Pratylenchus sp y de los botánicos y biológicos utilizados en esta investigación:

2.1 Pratylenchus sp

Estudios realizados en años anteriores han demostrado que las especies del género Pratylenchus están numeradas entre las más fuertemente dañinas dentro de los nemátodos parasíticos de plantas. Es ahora indiscutible que las especies de Pratylenchus son patogénicas para muchas plantas. (Decker, 1988).

Las pérdidas de las cosechas son realmente altas, en adición a la pérdida de plantas jóvenes que son severamente infestadas. (Decker, 1988).

2.1.1 Historia

La primera descripción de un representante del genero Pratylenchus fue atribuida a Dutch, quien en 1880 encontró Tylenchus pratensis (sin. de Pratylenchus pratensis) en una pradera. En 1898 Zimmerman describió otras especies, Tylenchus coffeae (sin. de Pratylenchus coffeae) encontrada en las raíces de una planta de café en Java. Las diferencias entre estas especies son muy pequeñas, por lo que Steiner considero a ellas sinónimo de Tylenchus pratensis. En 1934 Filipjev dió a estas especies el nombre genérico de Pratylenchus.(Decker, H. 1989).

Las primeras referencias sobre problemas nematológicos en el cultivo del cafeto en Centro América se reportaron en El Salvador, por Abrego y Holdeman, en un informe de progresos publicados por el ISIC en marzo de 1961 en el que se daban a conocer generalidades sobre los nemátodos como organismos patógenos, los daños que causan y la importancia económica de las pérdidas que estos organismos causan al agricultor (Abrego 1976).

2.1.2 Distribución geográfica

Pratylenchus tienen una amplia distribución geográfica, alcanzando desde las zonas templadas hasta zonas tropicales. Una gran diversidad de plantas son hospederas de este género. Existen cinco especies del nemátodo lesionador Pratylenchus sp asociados al cultivo del café en todo el mundo. Estas son: P. coffeae , P. brachyuris, P .goodeyi, P. pratensis y P. loosi, sin embargo, solo se ha confirmado la patogenicidad de P.coffeae y P. Brachyuris (Marbàn, 1996).

En Centro América se ha determinado la presencia de P. coffeae en Guatemala (Shieber y Sosa, 1960), Costa Rica (Salas y Echandi, 1961) y El Salvador (Whitehead, 1968). Marbàn (1996) ha confirmado la presencia de esta especie en Nicaragua (Carazo) , 1993 y Panamá (Boquete) en 1992. En Honduras no se han realizado muestreos.

2.1.3 Clasificación

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de Pratylenchus coffeae.

<i>Orden:</i>	<i>Tylenchida</i>
<i>Sub-orden:</i>	<i>Tylenchina</i>
<i>Super-familia:</i>	<i>Tylenchoidea</i>
<i>Familia:</i>	<i>Pratylenchidae</i>
<i>Sub-familia:</i>	<i>Pratylenchinae</i>

Los nemátodos pertenecen al phylum nematoda. Más de 10,000 especies han sido descritas, pero estas representan solo una pequeña porción del número total de especies de nemátodos. Dos ordenes contienen a los nemátodos parasíticos de plantas: el orden Tylenchida y el Dorylaimida. El orden Tylenchida incluye la gran mayoría de parásitos de plantas, así como también algunos parásitos de insectos y algunas especies que se alimentan de hongos (Dropkin, 1988).

El orden Dorylaimida está formado por numerosas especies de las cuales sus hábitos de vida no son conocidos. El orden Tylenchida se divide en dos sub-ordenes: el sub-orden Tylenchina y el Aphelenchina los miembros del sub-orden Tylenchina tienen un estilete con protuberancias visibles y el conducto de las glándulas esofágicas dorsal unidas al lumen faringeal que cierra la base del estilete. Los nemátodos del suborden Aphelenchina tienen un estilete con pequeñas protuberancias o sin ellas. (Dropkin, 1988).

Diez familias del sub-orden Tylenchina, contienen muchas especies de plagas importantes, pero sólo una del Aphelenchina contiene unas pocas especies de fitonemátodos (Dropkin, 1988).

2.1.4 Ciclo de vida

Las hembras ponen huevos en tejido de raíces infestadas y probablemente en el suelo. El primer estadio juvenil muda en los huevos y eclosiona en el segundo estadio larval, luego muda al tercer y cuarto estadio y luego pasa a adulto. La reproducción bisexual ocurre en especies con abundantes machos, como P. penetrans. Otras especies se reproducen partenogénicamente (Townshend,1987).

El número de generaciones por año depende de la especie, el hospedero y la temperatura. P. brachyurus completa su ciclo de vida en 28 días en maíz a 30 °C, mientras que P. pratensis completa su ciclo de vida en 54 a 65 días en otras condiciones (Townshend,1987).

Según la nematóloga Nicole Viaene, (nematóloga de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola FHIA) (comunicación personal), el ciclo de vida de P. coffeae dura aproximadamente 60 a 70 días en cultivos de zanahoria.

2.1.5 Morfología

Los nemátodos adultos del género Pratylenchus tienen una longitud de 450 a 700 μm y un ancho de 20 a 30 μm . Los extremos son redondos, lo que hace que parezca corto. La cutícula es medianamente anillada. La región labial de la cabeza es lisa, con anillos severos, cuyo número es importante en la identificación de especies (Townshend,1987). El estilete móvil es relativamente corto (16 a 19 μm) pero tiene una prominencia basal bien desarrollada. El esófago tiene un bulbo central redondo con válvulas bien diferenciadas. Las glándulas basales del esófago cubren el comienzo del intestino en forma de un lóbulo lateroventral. Las hembras tienen bien desarrollado un ovario impar; si presenta, el segundo ovario es rudimentario. La vulva está marcadamente desplazada a la parte posterior (Townshend,1987).

El intestino está abierto al ano, el cual está situado a una distancia de dos o tres veces el ancho del cuerpo desde la punta de la cola. En muchas especies los machos están ausentes o son muy raros. Si están presentes, ellos están provistos con un órgano copulatorio esclerotizado (espículo) y la bursa cubre la punta de la cola. Es excepcionalmente difícil y siempre imposible hacer identificación de especies de larvas jóvenes, ya que son considerablemente más pequeñas que los adultos. Los huevos son redondeados de los extremos con un tamaño promedio de 60 a 70 μm x 20 a 25 μm (Townshend,1987).

2.1.6 Forma de penetración en las raíces

Las especies de Pratylenchus son endoparásitas migratorias. Son atraídos por las raíces de sus hospederos y se agrupan en ellas. El nemátodo puede penetrar en cualquier parte de las raíces, pero prefiere penetrar en las zonas densas cubierta de vellos absorbentes. Todos los juveniles y adultos activos son capaces de penetrar las raíces, las hembras más efectivamente que otros estadios (Townshend, 1987).

El nemátodo penetra los tejidos de las raíces de la siguiente manera: los nemátodos sondean, pinchan y parcialmente digieren la pared de las células en la epidermis, luego se dirigen hacia el contenido de la célula. El mismo patrón de ataque es repetido cuando los nemátodos migran de un lado a otro y se alimentan de la corteza de la raíz (Townshend, 1987).

El citoplasma en las células de la corteza en donde el nemátodo penetra es agotado, ya que le sirve como alimento. La actividad del nemátodo es restringida en la corteza. Externamente el tejido de la corteza de las raíces aparece empapado con agua, sobre la penetración inicial del nemátodo (Townshend, 1987).

Las células adyacentes a las de alimentación del nemátodo están descoloridas, usualmente amarillas y con un tono oscuro. Las lesiones creadas por el nemátodos son en forma elíptica y con el eje paralelo a las raíces. Con una infestación severa, las lesiones se unen y las raíces se muestran severamente descoloridas (Townshend, 1987).

El nemátodo Pratylenchus coffeae parasita el café en todos sus estados de desarrollo aunque su presencia y efecto destructor es más notorio en las almacigueras en donde ocurren severas pérdidas de plántulas que al ser parasitadas, sufren una progresiva necrosis de las raicillas absorbentes, llegando a perder también la raíz principal (Abrego y Cardona, 1976).

En condiciones de campo, las plantas afectadas por nemátodos presentan una distribución radicular irregular y en grupos separados, cuyo tamaño depende de la severidad de la infestación. El follaje se torna clorótico, las plantas se defolian y los frutos caen, las plantas se muestran débiles y bajo condiciones adversas de sequía mueren. (Marbán y Mendoza, 1996).

En las raíces los síntomas varían dependiendo de la especie de nemátodo y del hospedero. En muchos casos las raíces de Coffea arabica afectadas por Pratylenchus coffeae son de color pardo negruzco como consecuencia de la destrucción del tejido cortical de las raíces laterales y la invasión subsecuente de organismos secundarios principalmente hongos, que agravan la pudrición radical. Las infestaciones severas pueden eliminar totalmente el sistema radical y en consecuencia provocar la muerte de la planta. (Marbán y Mendoza, 1996).

2.2 NEEM

Desde hace muchos años pruebas de campo con extracto de semilla de neem han demostrado efectos excelentes contra un gran número de plagas . Sin duda los insecticidas a base de neem son una alternativa viable y ecológica para sustituir plaguicidas sintéticos. La no toxicidad para el hombre y los pocos efectos negativos contra insectos benéficos clasifican al neem como un insecticida ecológicamente ideal que puede combinarse con medidas de control biológico y tiene la ventaja que se puede producir a nivel local por el mismo agricultor.(Dreyer,1994).

2.3 Paecilomyces lilacinus

El descubrimiento del hongo nematófago Paecilomyces lilacinus, en 1979 por Jatala et al en el centro Internacional de papa, en Lima, Perú, ha estimulado el estudio para control biológico de nemátodos parasíticos de plantas en Filipinas (David, 1987).

Paecilomyces lilacinus, principalmente infecta y asimila huevos de nemátodos noduladores de la raíz como Meloidogyne sp y nemátodos que forman quistes como Globodera sp y Heterodera sp. El hongo ha sido el objeto de considerables investigaciones para control biológico desde 1979. Paecilomyces lilacinus ha sido considerado que tiene un gran potencial para aplicarlo como un agente de control biológico en suelos de agricultura tropical y subtropical.(Esser y El-Gholl, 1993).

El descubrimiento del nemátodo de quiste de la papa, (Globodera rostochiensis Woll.), por Sikora (1981), en grandes áreas cultivadas de papa en la provincia de Benguet, Filipinas, promovió en forma inmediata tratar de hacer algo con Paecilomyces lilacinus antes que el nemátodo de quistes de la papa fuera un problema para la industria.(David y Zorilla, 1986).

Una serie de experimentos conducidos en campos infectados con el nemátodo demostraron que el hongo puede efectiva y consistentemente, controlar el nemátodo de quiste de la papa, siendo comparable con los nematicidas isafoz, fenamifós y carbofurán (David y Zorilla, 1986).

En áreas no infectadas con el nemátodo del quiste de la papa, pero sí con altas poblaciones de Pratylenchus sp, los resultados de algunas investigaciones realizadas utilizando el hongo Paecilomyces lilacinus, demostraron que los agricultores lograron tener un mejor control de nemátodos e incrementar sus rendimientos. (David y Zorilla, 1986).

Gapasín en 1988, encontró que en el cultivo de maíz P. lilacinus puede reducir la población de Pratylenchus sp, en las raíces de 5-48 % y en el suelo por 14 a 58%

P.lilacinus ha sido encontrado en todo el mundo, siendo más frecuente en países de clima caliente.(Esser y El-Gholl, 1993).

2.3.1 Características

P. lilacinus es un hifomiceto que se encuentran en el suelo y es de color púrpura lila, produciendo suaves a ásperas conidias endógenamente desde pequeños grupos de fialidos naciendo separados sobre los conidióforos. Las hifas vegetativas son ramificadas y septadas. (Esser y El-Gholl, 1993).

P. lilacinus está naturalmente en el suelo, en huevos unidos contenidos en la masa gelatinosa de nemátodos formadores de nódulos o agallas en la raíz y en quistes de *Globodera sp* y *Heterodera sp.* (Esser y El-Gholl, 1993).

Las hifas vegetativas entran en la matriz gelatinosa de los nemátodos noduladores de la raíz, o crecen en la vulva o en quistes abiertos en el cuello del nemátodo formador de quistes. Una vez dentro , las hifas forman ramas y crecen hacia el otro lado de la cubierta o superficie de los huevos. Las hifas incrementan en tamaño, forman un aprisionamiento en la superficie de los huevos. Una penetración de las espigas hacia abajo las aprisiona y crecen sobre la superficie o cáscara del huevo.(Esser y El-Gholl, 1993).

Penetrado el huevo, estas incrementan en tamaño y se encorvan. Como la penetración continúa, la capa vitelina de los huevos se revienta en tres bandas, numerosas vacuolas aparecen y la capa de lípidos desaparece. Las hifas llenan el huevo, entonces emergen de la superficie de los huevos produciendo el primer crecimiento vegetativo y las conidias y conidióforos. Después de 5 días la mayoría de los huevos en la masa, están infestados (Esser y El-Gholl, 1993).

Los juveniles en los huevos podrían venir infectados cuando tales huevos son invadidos por el hongo. Las hembras adultas son infectadas cuando las hifas entran en el ano o la vulva (Esser y El-Gholl, 1993).

2.3.2 Control biológico potencial:

P. lilacinus ha sido caracterizado como un agente de control biológico potencial, sin embargo, los resultados de algunas investigaciones utilizando este hongo, han sido contradictorios y erráticos. En un experimento el hongo causó un 71% de reducción en formación de agallas en las raíces y un 90 % de reducción en las masas de huevos en maíz infectado de nemátodos noduladores. En otros experimentos, el hongo falló en el control de nemátodos noduladores de la raíz (Esser y El-Gholl, 1993).

Stirling (1991), declaró que muchos grupos de agricultores afirmaron tener un mejor control de nemátodos noduladores de la raíz y nemátodos formadores de quistes por haber introducido *P. lilacinus* a sus campos, pero en muchas ocasiones los datos publicados son insuficientes para evaluar totalmente el experimento.

Rodríguez-Kabana et al, citado por Stirling, (1991) declararon que la forma de aislar P. lilacinus puede ser un factor que afecte la habilidad del hongo para establecerse en el suelo y su capacidad para controlar M. Arenaria y que a diferencia de los hongos nematófagos predadores, los cuales poseen algún mecanismo de atrapamiento (por ej. Hifas en forma de bastón, esporas , emitir trampas apretadoras, o zoosporas que flotan en el agua, atacan e infectan la presa) P. lilacinus carece de un mecanismo agresivo para atrapar o atacar a los nemátodos.

Por la movilidad de los nemátodos el éxito de P. lilacinus como un agente de control biológico es muy limitado. La infección de la presa puede ser indirecta por el contacto con las conidias del hongo y el nemátodo, cuando éste permanezca inmóvil por un tiempo. Los mecanismos no agresivos de infección que tiene P. lilacinus explican por qué la actividad parasítica de este hongo es restringida a huevos de nemátodos y a estadios sedentarios de nemátodos fitoparásitos. La mayoría de los nemátodos plaga para las plantas son móviles y probablemente escapan a la infección de este hongo (Esser y El-Gholl, 1993).

2.4 Tagetes sp

El término alelopatía fue considerado en 1937 para designar interacciones bioquímicas entre plantas y entre plantas con microorganismos. El creciente interés en alelopatía en los últimos años, ha resultado en parte de una necesidad de desarrollar estrategias seguras y ecológicas para el control de las plagas(Halbrendt, 1996).

Dos beneficios potenciales pueden ser obtenidos de realizar investigaciones en alelopatía. Una posibilidad es el descubrimiento de compuestos de plantas que podrían ayudar a nuevos plaguicidas sintéticos a tener una gran eficacia, especificidad y/o completar la descomposición en el suelo; una segunda posibilidad es la identificación de rotaciones eficaces o aplicación de abonos verdes a los cultivos, lo cual podría ser utilizado para el control de nemátodos usando prácticas convencionales o prácticas agrícolas modificadas, para reducir la necesidad de aplicar nematicidas.(Halbrendt, 1996).

Los compuestos obtenidos de algunas plantas dan como resultado una atracción o repulsión de las raíces a los nemátodos, por lo que investigaciones en alelopatía pueden ser consideradas como un componente fundamental en la investigación nematológica.

El ejemplo más comprensible de alelopatía en nematología es el de marigold (Tagetes sp.). Marigold ha sido una importante planta medicinal que ha mostrado tener efectos alelopáticos. Numerosos experimentos han demostrado que varias especies y cultivares de marigold pueden efectivamente repeler nemátodos cuando crecen en rotación, intercalados con el cultivo o usado como una enmienda de suelo. También varios compuestos nematicidas (como el alfatertienyl) han sido aislados del marigold, (Halbrendt, 1996).

2.5 PULPA DE CAFE

La materia orgánica es de extrema importancia en relación al crecimiento de los cultivos por la cantidad de efectos benéficos que produce en el suelo, muchos de estos efectos son puramente físicos, ya sea aumentando la capacidad de retención de agua en el suelo, disminuyendo la escorrentía, mejorando la aireación especialmente en suelos de textura fina y produciendo una mejor estructura, es decir haciendo un suelo fácil de cultivar. Como producto secundario en el cultivo del café se obtiene un material comúnmente llamado pulpa de café, que es el pericarpio del fruto y representa entre el 45-60 % del peso del fruto maduro. (Abrego y Andreu, 1976)

*En un estudio realizado por Abrego y Andreu en 1976, los resultados demostraron que el número de nemátodos *Pratylenchus sp* disminuyó grandemente en los tratamientos con pulpa de café y hubo un aumento en los niveles foliares de nitrógeno y potasio en los cafetos.*

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana (Zamorano) en el Departamento de Francisco Morazán.

Se realizó en dos fases las cuales se explican a continuación:

3.1 FASE DE VIVERO

Se usó la semilla de café cultivar Pacas que fue obtenida de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE). La siembra se realizó en una era con arena previamente desinfectada, con 50% de sombra. La arena utilizada se desinfectó con vapor, de esa manera se evitó la presencia de otro tipo de nemátodos u otra plaga de suelo. La semilla fue sembrada a un centímetro de distancia una de la otra para tener plantas vigorosas y evitar competencia entre ellas. Durante la etapa de semillero no hubo presencia de plagas, por lo que no fue necesario ningún control.

El transplante se realizó a bolsas plásticas de polietileno de un volumen de 1.5 kg con una mezcla en proporción de 3:1 (tierra:arena), la cual fue también desinfectada con vapor. La mezcla utilizada permite tener una mejor textura de suelo facilitando las actividades realizadas durante la toma de datos. Las plántulas se transplantaron a los 90 días cuando presentaron las primeras hojas cotiledonales.

Los tratamientos que se evaluaron fueron :

- 1- Extracto de semilla de neem : dosis de 40 g/l*
- 2- Extracto de semilla de neem : dosis de 80 g/l*
- 3- Paecilomyces lilacinus (Biostat): dosis de 5 millones de conidias.*
- 4- Pulpa de café incorporada al suelo: dosis de 90 g/planta.*
- 5- Extracto de marigold: dosis de 40 g/l*
- 6- Torta de semilla de neem incorporada al suelo: dosis de 4 g/pl.*
- 7- Terbufós: 3 g/pl.*
- 8- Testigo.*
- 9- Torta de neem + extracto de marigold: 4 g/pl y 40 g/l respectivamente.*

3.1.1 Diseño estadístico:

Para realizar el estudio se utilizó un diseño estadístico de bloques completos al azar, distribuyendo los tratamientos dentro de cada bloque con la ayuda de una tabla de números aleatorios. Cada bloque contó con 9 tratamientos de 10 plantas cada uno y 5 repeticiones haciendo un total de 50 plantas por tratamiento en todo el experimento y 90 plantas por bloque. Los resultados del ensayo se analizaron mediante el paquete estadístico "Statistical Analysis System" (SAS). Se hizo análisis de varianza y se hizo una separación de medias de los resultados obtenidos a un nivel de significancia de $P=0.05$

3.2 EXTRACCION DE NEMATODOS

Los nemátodos aislados del cultivo de banano, fueron proporcionados por la Fundación Hondureña de Investigación agrícola (FHIA). La extracción se hizo de la siguiente manera:

Los nemátodos fueron cultivados en laboratorio, en discos de zanahoria y se esperó a que las poblaciones fueran suficientes para facilitar la extracción en vista que tienden a emigrar de los discos de zanahoria a las paredes del recipiente que los contiene, trabajando así sólo con los nemátodos adheridos a la pared del recipiente y no siendo necesaria la extracción de los discos.

3.2.1 Conteos:

Para realizar los conteos se pusieron los nemátodos en un volumen de 100 ml de agua destilada, se tomaron 5 muestras de 1 ml cada una y se contó a través del estereoscopio el número de nemátodos que estaban presentes, luego se sacó un promedio de los nemátodos contados para determinar cuantos nemátodos existían en 1 ml de agua. Se llevó el inoculo a 150 nemátodos por ml de agua para inocular 300 nemátodos por planta.

3.2.2 Inoculación de plántulas:

La inoculación se realizó 15 días después del trasplante usando una pipeta de 5 ml y depositando la población de nemátodos en agujeros alrededor de la planta. Se siguió un esquema triangular para tener una mejor distribución de estos en la raíz. Posteriormente se procedió a regar para tapar los agujeros y brindar un ambiente más favorable a los nemátodos.

3.3 PREPARACION DE TRATAMIENTOS

Para realizar las aplicaciones de los tratamientos, estos se prepararon de la siguiente manera:

3.3.1 Extracto de Neem (40 y 80 g/l) :

El extracto se obtuvo de la semilla, esta se molió y se dejó reposar en agua destilada por un periodo de 18 hrs. Después de transcurrido este tiempo, el extracto se aplicó a la base de las plantas.

3.3.2 Paecilomyces lilacinus:

Se calculó la cantidad a utilizar por litro de agua según la dosis recomendada por la compañía fabricante. Se usó 0.25 g de producto comercial por litro de agua conteniendo 1 millón de conidias por gramo. Se hizo la mezcla con el diluyente y se procedió a aplicar dirigida a la base de la planta.

3.3.3 Pulpa de café:

La pulpa se incorporó a la mezcla de crecimiento al momento del llenado de las bolsas. Se mezcló 90 gramos por bolsa.

3.3.4 Extracto de marigold (40 g/l):

Se utilizaron las raíces de la planta, se lavaron y se procedió a molerlas; luego se dejaron reposar en agua destilada por 18 horas para luego proceder a realizar las aplicaciones.

3.3.5 Torta de neem (4 g/planta):

Esta se obtuvo de la molienda de la semilla y se aplicó incorporada al suelo.

3.3.6 Terbufós:

Es el nematostático que se utilizó para este ensayo; su formulación es granulada y se aplicó 0.03 gramos de terbufós por planta.

3.3.7 Torta de neem + extracto marigold:

La preparación fue similar al de los extractos anteriormente mencionados, se utilizó la misma dosis para cada producto, la torta de neem fue incorporada al suelo y el extracto se aplicó a la base de las plantas de café.

La aplicación de todos los extractos y P. lilacinus se hizo con bomba de mochila y se aplicaron dirigidos a la base de la planta; se utilizó una barrera plástica entre cada tratamiento para evitar el efecto de deriva.

3.4 VARIABLES A MEDIR:

La toma de los datos para cada una de las variables se realizó cada tres semanas, por un período de tres meses, haciendo 5 evaluaciones de la siguiente manera:

3.4.1 Altura de planta:

Para medir la altura de las plantas se utilizó una cinta métrica, midiendo la altura desde la base de las plantas hasta la última yema apical en formación.

3.4.2 *Peso de raíz:*

Previo a la extracción de nemátodos se procedió a pesar las raíces de las plantas muestreadas en una balanza electrónica de precisión para poder determinar diferencias en peso por severidad de daño en cada uno de los tratamientos.

3.4.3 *Peso de follaje:*

También se utilizó una balanza electrónica de precisión. Se cuantificó el desarrollo y el peso del área foliar de la planta, para determinar el daño provocado por los nemátodos en el desarrollo de las plantas en cada uno de los tratamientos.

3.4.4 *Número de nemátodos presentes en las raíces:*

Para determinar el número de nemátodos presentes en las raíces se cortaron estas en pedazos pequeños y se colocaron en agua destilada durante 24 hrs; posteriormente se sacaron y se pasaron por un tamiz 400 para proceder a realizar el conteo.

3.4.5 *Número de nemátodos presentes en 250 g de suelo:*

Se tomaron las muestras al azar en cada uno de los bloques. El método para la extracción de nemátodos que se utilizó fue el de centrifugación y flotación en azúcar. La muestra se colocó bajo la llave con agua a presión, se dejó reposar por 1.5 min. y luego se pasó por un tamiz 400. Posteriormente se colocó en tubos de ensayo y se centrifugó por 2 min. a 2200 r.p.m., luego se decantó el agua y se colocó agua con azúcar el tubo de ensayo para centrifugar nuevamente por 2 min. Luego se pasó la muestra de nuevo por un tamiz 400 y se lavó los nemátodos con agua destilada para quitar el exceso de agua con azúcar. Posteriormente se pasó la muestras a un tubo de ensayo para ser leída.

Posteriormente se procedió a realizar el conteo de nemátodos, extrayendo con una pipeta el exceso de agua, ya que los nemátodos se concentran en el fondo del tubo. Se pasaron a un plato Petri para realizar el conteo a través del estereoscopio.

3.5 FITOTOXICIDAD

*Se utilizó un diseño de bloques al azar con 5 repeticiones y 5 plantas por cada tratamiento. Los productos fueron aplicados de la misma manera que en el ensayo para determinar su efectividad en el control de *Pratylenchus coffeae*. Para medir el efecto de los productos sobre las plantas se tomó como variable la altura de las plantas tomada desde la base hasta la última yema en formación.*

Para cada tratamiento se determinó el costo total de aplicación. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de separación de medias SNK, los resultados fueron analizados en el programa estadístico SAS.

3.6 ANALIS ECONOMICO

Se realizó un análisis económico con el fin de determinar los costos de los tratamientos alternativos. Los costos se obtuvieron de acuerdo a los insumos utilizados y por las diferentes actividades realizadas en cada uno de ellos. No se hizo un presupuesto parcial ni se calculó la tasa de retorno marginal por que los tratamientos se comportaron de igual manera, no pudiéndose encontrar diferencias significativas entre cada uno de ellos.

3.7 FASE DE LABORATORIO:

Se realizó un bioensayo en el cual se midió la efectividad de los productos aplicados realizando las siguientes fases:

3.7.1 Fuente de nemátodos:

Los nemátodos se obtuvieron nuevamente de frascos con discos de zanahoria, se lavó las paredes del recipiente que los contenía y se obtuvieron suficientes para poder realizar las evaluaciones.

3.7.2 Preparación de productos:

La preparación de los productos se realizó tal como se describió anteriormente para realizar las pruebas en vivero.

3.7.3 Distribución de los platos Petri:

La distribución se hizo en bloques al azar, cada tratamiento con dos repeticiones y cada replica formada de 5 platos Petri.

3.8 VARIABLE A MEDIR

Se tomó un conteo de los nemátodos móviles e inmóviles para obtener el porcentaje de morbilidad. No se realizó una prueba de recuperación de nemátodos después de ser expuestos directamente a los productos.

3.9 DINAMICA DEL ENSAYO:

Se colocaron en promedio 20 nemátodos en 4 ml de producto. Los nemátodos fueron colocados en los platos Petri en contacto directo con los productos aplicados. Se anotaron datos de morbilidad a intervalos de 2, 4, 8, 12 y 24 horas respectivamente, contando el número de nemátodos móviles e inmóviles.

Para realizar las lecturas se pasaron los nemátodos de cada plato Petri de cada uno de los tratamientos por un tamiz 400 y se quitó los sedimentos de los productos para poder realizar los conteos. Posteriormente se pasaron a tubos de ensayo, se quitó el exceso de agua y luego se procedió a realizar los conteos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en cada una de las fases en que se realizó la investigación:

4.1 EN VIVERO:

Aquí se presentan las variables que son representativas en la fase de vivero para medir el efecto de los tratamientos aplicados sobre las poblaciones de nemátodos

4.1.1 Nemátodos por gramo de raíz:

Para obtener resultados con una mayor precisión y cumplir con los requisitos de tener una distribución normal y medias independientes en los datos observados, se transformaron a $\log(x+1)$.

Los datos obtenidos muestran que no hubo diferencias significativas entre la mayoría de tratamientos al ser comparados con el testigo (cuadro 2). Esto podría deberse a que las poblaciones de nemátodos existentes, fueron disminuyendo en el transcurso del tiempo en la misma cantidad que el testigo absoluto, no lográndose detectar el efecto de los productos aplicados sobre estos organismos.

*Como se conoce, *Pratylenchus coffeae* es un nemátodo polífago, es decir que puede adaptarse en varios tipos de sus hospederos, por lo que se obtuvo nemátodos aislados de plantas de banano para realizar el ensayo, sin embargo, aparentemente no logró adaptarse al nuevo hospedero afectándose su reproducción y sobrevivencia posteriormente.*

A pesar que pudo encontrarse nemátodos infestando las raíces, esto no fue suficiente para lograr medir el efecto de los productos aplicados, ya que las poblaciones encontradas fueron muy similares en todos los tratamientos y el daño que ocasionaron fue muy leve,

por lo que no se detectó diferencias significativas en los tratamientos al compararlos con el testigo, sin embargo los tratamientos en los que se aplicó pulpa de café y terbufós fueron significativamente menores al tratamiento en el que se aplicó torta de neem 4 g/pl (cuadro 2).

Cuadro 2. Separación de medias SNK para las variable nemátodos por g de raíz

Tratamiento	Media	Ajuste
Neem (40 g/l)	1.05 ab	0.25 ab
Neem (80 g/l)	0.92 ab	0.23 ab
Biostat (<i>Paecilomyces lilacinus</i>)	1.36 ab	0.27 ab
Pulpa de café	0.33 b	0.08 b
Extracto de marigold 40 g/l)	1.56 ab	0.28 ab
Torta de neem (4 g/pl)	1.65 ab	0.38 a
Terbufós	0.55 ab	0.14 b
Testigo	1.20 ab	0.29 ab
Torta de neem + extracto de marigold	0.79 ab	0.19 ab

Nota: datos ajustados a $\text{Log}(x+1)$
 $P=0.05$

Según algunas investigaciones realizadas por el Dr. Sarah del CIRAD (comunicación personal), las poblaciones de *Pratylenchus coffeae* aisladas de café no parasitan banano, y viceversa, por lo que posiblemente hay un problema de taxonomía.

En los resultados obtenidos se observa que pulpa de café tuvo un menor número de nemátodos por g de raíz comparada con el tratamiento en que se aplicó torta de neem (4 g/planta), podría deberse a la cantidad de microorganismos de suelo que son favorecidos por dicha aplicación. La pulpa de café puede favorecer el desarrollo de muchos microorganismos competidores, incluyendo hongos nematófagos, que pueden afectar el desarrollo normal de los nemátodos en diferentes estadios de su ciclo de vida. Van der Laan, citado por Decker en 1988, sugiere que la materia orgánica brinda un pequeño grado de resistencia a las plantas; además favorece el desarrollo rápido de enemigos naturales de nemátodos en el suelo o intensifica la acción de hongos predadores.

Según Sing y Sitaramaiah (1971), citado por Stirling en 1991, la mayoría de enmiendas orgánicas que son incorporadas al suelo, producen una cantidad variable de amonio al descomponerse lo cual ha sido confirmado por Uebner et al (1983), Rodríguez-Kabana y King (1980) y Miller (1973).

Sin embargo el contenido de nitrógeno no es el único factor que puede ser considerado como un único material que reacciona con efectos nematicidas. El contenido de carbón también es importante por que ayuda a los microorganismos de suelo a metabolizar el nitrógeno y convertirlo en proteínas y otros compuestos nitrogenados.

A pesar de que los resultados muestran la tendencia a un menor número de nemátodos dentro de las raíces, en el tratamiento que se aplicó pulpa de café como materia orgánica, la comparación con el testigo no fue significativamente diferente. Los otros tratamientos en general no se comportaron de manera diferente en reducir el número de nemátodos por g de raíz.

4.1.2 Peso de raíz y follaje:

*En la variable peso de raíz, los resultados que se obtuvieron demostraron que en general, no hubo diferencias significativas de los tratamientos al ser comparados con el testigo, sin embargo el tratamiento en el que se aplicó *P. lilacinus* (Biostat), presentó un peso radicular mayor que el tratamiento en que se aplicó torta de neem y torta de neem + extracto de marigold. En cuanto al peso de follaje, todos los tratamientos se comportaron de igual manera entre sí y al ser comparados con el testigo (Cuadro 3).*

Cuadro 3. Separación de medias SNK para las variables peso de raíz y peso de follaje

<i>Tratamiento</i>	<i>Peso de raíz</i>	<i>Peso de follaje</i>
<i>Neem (40 g/l)</i>	<i>3.18 ab</i>	<i>12.44 a</i>
<i>Neem (80 g/l)</i>	<i>3.00 ab</i>	<i>11.55 a</i>
<i>Biostat (Paecilomyces lilacinus)</i>	<i>3.78 a</i>	<i>14.28 a</i>
<i>Pulpa de café</i>	<i>2.68 b</i>	<i>11.18 a</i>
<i>Extracto de marigold (40 g/l)</i>	<i>2.42 b</i>	<i>10.33 a</i>
<i>Torta de neem (4g/pl)</i>	<i>2.51 b</i>	<i>11.97 a</i>
<i>Terbufós</i>	<i>3.21 ab</i>	<i>11.83 a</i>
<i>Testigo</i>	<i>2.95 ab</i>	<i>12.01 a</i>
<i>Torta de neem + extracto de marigold</i>	<i>2.33 ab</i>	<i>11.63 a</i>

P= 0.05

4.1.3 Nemátodos por gramo de suelo:

Los resultados fueron transformados a log (x+1) al igual que en el caso anterior y demuestran que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, existiendo en cada evaluación un número bajo de nemátodos por g de suelo (Cuadro

La reducción del número de nemátodos en el suelo, se observó en los tratamientos y en el testigo al cual no se aplicó ningún producto. La reducción en las poblaciones probablemente se debió a la no adaptación del nemátodo aislado de cultivo de

banano, a su nuevo hospedero en plantas de café y a la incapacidad de poder reproducirse.

La tendencia de las poblaciones hasta la sexta semana después de la inoculación, es de incrementarse levemente , pero no fue suficiente para determinar si existe algún efecto de los productos que contribuye a inhibir o reducir el número de nemátodos presentes en el suelo. En la última evaluación realizada, no se encontraron nemátodos en la mayoría de tratamientos, no siendo diferentes entre sí (Cuadro 4).

Cuadro 4. Separación de medias SNK para la variable nemátodos por gramo de suelo

<i>Tratamiento</i>	<i>Semana 3</i>	<i>Semana 6</i>	<i>Semana 9</i>	<i>Semana 12</i>	<i>Semana 15</i>
<i>Neem (40 g/l)</i>	<i>0.14 a</i>	<i>0.38 a</i>	<i>0.12 a</i>	<i>0.06 a</i>	<i>0.06 a</i>
<i>Neem (80 g/l)</i>	<i>0.25 a</i>	<i>0.21 a</i>	<i>0.44 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.00 a</i>
<i>Biostat (Paecilomyces lilacinus)</i>	<i>0.18 a</i>	<i>0.29 a</i>	<i>0.33 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.00 a</i>
<i>Pulpa de café</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.49 a</i>	<i>0.09 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.00 a</i>
<i>Extracto de marigold (40g/l)</i>	<i>0.44 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.27 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.00 a</i>
<i>Torta de neem (4g/planta)</i>	<i>0.09 a</i>	<i>0.14 a</i>	<i>0.12 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.06 a</i>
<i>Terbufós</i>	<i>0.02 a</i>	<i>0.06 a</i>	<i>0.12 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.00 a</i>
<i>Testigo</i>	<i>0.18 a</i>	<i>0.26 a</i>	<i>0.55 a</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.06 a</i>
<i>Torta de neem + extracto de marigold</i>	<i>0.00 a</i>	<i>0.06 a</i>	<i>0.15 a</i>	<i>0.06 a</i>	<i>0.00 a</i>

Nota: datos ajustados a log (x + 1)

P=0.05

4.1.4 Altura de planta:

En términos generales, tampoco se encontró diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, sin embargo, vale la pena mencionar que durante la primera evaluación se pudo determinar que en los tratamientos pulpa de café y torta de neem las plantas mostraron un menor desarrollo que en los otros tratamientos.

Posiblemente en las primeras etapas del cultivo, estos productos pueden causar un efecto negativo en el desarrollo de ellas. Adicionalmente la pulpa de café que se utilizó no estaba en su mayor grado de descomposición, lo que pudo causar una disminución en el crecimiento inicial de las plantas. Lo que sería recomendable es aplicar la pulpa en estado inicial de descomposición en la mezcla de suelo a utilizar, para que se realicen todos los cambios físico-químicos en el suelo y favorezca el desarrollo de enemigos naturales existentes antes de realizar el trasplante, para que no afecte el desarrollo inicial de las plantas.

Durante la tercera evaluación realizada a las seis semanas, se pudo observar que no hubo diferencias en el desarrollo de las plantas, sin embargo durante las semanas posteriores, los tratamientos en los que se aplicó neem (40 g/l) y torta de neem+extracto de marigold, mostraron plantas con mayor altura que los otros tratamientos y el tratamiento en que se aplicó pulpa de café la menor (aunque no es diferente al testigo), por lo que puede decirse que no afecta significativamente el desarrollo de las plantas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Separación de medias para la variable altura de las plantas

<i>Tratamiento</i>	<i>Semana 3</i>	<i>Semana 6</i>	<i>Semana 9</i>	<i>Semana 12</i>	<i>Semana 15</i>
<i>Neem (40 g/l)</i>	7.84 a	11.30 a	14.701 a	18.93 ab	20.64 a
<i>Neem (80 g/l)</i>	7.21abc	10.49 a	13.49 a	18.27 b	20.43 bc
<i>Biostat (Paecilomyces lilacinus)</i>	7.30 ab	10.63 a	13.99 a	19.09 ab	20.93 bc
<i>Pulpa de café</i>	6.36 d	8.46 a	11.99 b	17.41 b	20.47 bc
<i>Extracto de marigold (40g/l)</i>	6.90 bcd	12.17 a	12.91 ab	16.87 b	18.38 c
<i>Torta de neem (4g/planta)</i>	6.54 cd	9.79 a	13.90 ab	20.02 ab	22.94 ab
<i>Terbufós</i>	7.22 abc	10.52 a	13.65 ab	18.13 b	20.52 bc
<i>Testigo</i>	7.20 abc	10.47 a	13.54 ab	18.78 ab	20.06 bc
<i>Torta de neem + extracto de marigold</i>	6.78 bcd	10.17 a	14.40 a	21.59 a	24.65 a

P=0.05

4.2 ANALISIS ECONOMICO

Los resultados obtenidos anteriormente muestran que no pudo encontrarse diferencia significativa entre los tratamientos al ser comparados con el testigo, por lo que se presentan únicamente los costos de aplicación por planta de cada uno de los productos.

El tratamiento que presentó un menor costo fue el tratamiento testigo por lo que el análisis de costos me permitiría concluir que dadas las circunstancias, es mejor no aplicar ningún producto, ya que el tratamiento testigo resultó 4.3 veces menor que el tratamiento en que se aplicó torta de neem + extracto de marigold y no produce diferencias significativas en los resultados (Cuadro 6).

Cuadro 6. Costo (Lps) por tratamiento, Zamorano 1997.

<i>Tratamiento</i>	<i>Costo (Lps)</i>
<i>Torta de neem + extracto de marigold</i>	8.22
<i>Extracto de marigold (40g/l)</i>	7.75
<i>Neem (80 g/l)</i>	6.27
<i>Neem (40 g/l)</i>	5.63
<i>Biostat (Paecilomyces lilacinus)</i>	5.43
<i>Pulpa de café</i>	4.13
<i>Terbufós</i>	3.86
<i>Torta de neem (4g/planta)</i>	2.32
<i>Testigo</i>	1.90

Nota: el anexo 1 presenta los costos en forma detallada para cada tratamiento.

Tipo de cambio: 13.20 Lps/\$

4.3 FITOTOXICIDAD

Para poder determinar que los productos aplicados no afectaban el desarrollo de las plantas de café, se hizo un análisis de fitotoxicidad.

Los datos que se presentan en el cuadro 7 muestran que durante las semanas 3 y 6 de haber aplicado los productos, el tratamiento en que se aplicó neem (40 g/l) fue el que tuvo mayor altura y el que muestra menor altura es el tratamiento en el que se aplicó pulpa de café. Esto probablemente se debió a que en el caso de neem, este se descompone más rápidamente en el suelo que la pulpa de café por lo que no provocó efectos secundarios al desarrollo de las plantas.

Cuadro 7. Separación de medias SNK para determinar fitotoxicidad de los productos aplicados

Tratamiento	Semana 3	Semana 6	Semana 9	Semana 12	Semana 15
<i>Neem (40 g/l)</i>	9.60 a	10.42 ab	15.01 ab	18.20 a	19.38 a
<i>Neem (80 g/l)</i>	8.89 abc	9.84 abc	13.80 ab	16.72 a	17.98 a
<i>Biostat (Paecilomyces lilacinus)</i>	8.93 abc	9.35 abc	14.36 ab	17.45 a	19.48 a
<i>Pulpa de café</i>	7.48 c	8.38 bc	13.24 ab	17.49 a	20.50 a
<i>Extracto de marigold (40g/l)</i>	8.09 abc	8.21 c	12.64 b	15.48 a	18.52 a
<i>Torta de neem (4g/planta)</i>	7.98 bc	8.88 bc	14.06 ab	17.86 a	20.39 a
<i>Terbufós</i>	9.47 ab	10.99 a	16.90 a	19.41 a	21.57 a
<i>Testigo</i>	8.69 abc	9.85 abc	15.66 ab	19.87 a	21.33 a
<i>Torta de neem + extracto de marigold</i>	7.79 c	9.06 abc	14.42 ab	18.32 a	20.46 a

P=0.05

La pulpa de café utilizada no estaba en un grado de descomposición avanzado, por lo que sería recomendable aplicar la pulpa de café en un estado inicial de descomposición a la mezcla de suelo a utilizar, de esa manera la pulpa puede realizar los cambios físico-químicos en el suelo y también favorecer a los enemigos naturales presentes, sin afectar el desarrollo inicial de las plantas.

Las últimas dos evaluaciones realizadas muestran que el desarrollo de las plantas en todos los tratamientos es similar, por lo que puede decirse que en etapas posteriores los productos aplicados no provocaron efectos negativos al desarrollo de las plantas .

4.4 RESULTADOS DE BIOENSAYO

Las pruebas en laboratorio se realizaron en intervalos de tiempo a las 2, 4, 8, 12, y 24 horas respectivamente. Se evaluó el % de morbilidad que estos productos causan en estos organismos. El tratamiento que causó mayor efecto sobre los nemátodos fue en el que se aplicó terbufós inmovilizándolos a partir de las primeras dos horas de haber expuesto los nemátodos al producto (Cuadro 8).

Cuadro 8. Porcentaje de morbilidad en bioensayo

Tratamiento	hrs	2	4	8	12	24
Neem (40 g/l)		70.00 b	59.09 b	77.08 ab	92.26 a	68.75 b
Neem (80 g/l)		42.06 a	52.27 b	68.33 ab	100.00 a	62.50 b
Biostat (Paecilomyces lilacinus)		0.00 d	00.00 c	00.00 d	7.14 d	00.00 d
Pulpa de café		54.70 bc	42.48 b	81.67 ab	70.13 ab	27.50 cd
Extracto de marigold (40g/l)		59.06 bc	45.00 b	72.26 ab	56.36 bc	60.83 b
Torta de neem (4g/planta)		4.54 d	00.00 c	00.00 d	2.78 d	00.00 d
Terbufós		100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
Testigo		29.82 c	58.33 b	30.34 c	32.24 dc	38.58 bc
Torta de neem + extracto de marigold		65.15 b	55.43 b	63.79 b	100.00 a	78.53 b

$P=0.05$

Esto probablemente se debe a las características del producto, el cual por su acción se clasifica como un producto nematostático, causando al organismo trastornos musculares y nerviosos, como pérdida del uso de los quimiorreceptores para localizar el sistema radicular de las plantas y la paralización total de sus músculos por lo que no puede moverse o usar el estilete y como consecuencia, no puede alimentarse, lo que puede resultar como acción secundaria, en la muerte de estos organismos.

El producto neem 40 g/l y el tratamiento en que se aplicó neem + marigold también causaron un efecto adverso a los nemátodos durante las primeras dos horas, los demás productos no fueron estadísticamente diferentes al testigo. A las 4 horas de exposición de los nemátodos a los productos, no pudo detectarse diferencias entre ellos, causando todos un porcentaje de morbilidad similar incluyendo el testigo, por lo que se puede concluir que un período de exposición de 2 horas adicionales, no es suficiente para tener un incremento en la morbilidad de dichos organismos.

A las 8 horas, los tratamientos a base de neem, pulpa de café y neem + marigold, causaron un efecto similar al nematostático terbufós, aunque en menor porcentaje. A las 12 horas los tratamientos a base de neem (40 y 80 g/l), pulpa de café y neem + marigold, fueron tan efectivos como el nematicida en causar inmovilidad, posiblemente se atribuye a la acción del neem de causar un desbalance en el organismo incapacitándolo de poder realizar muchas de sus actividades primarias. El efecto de pulpa de café probablemente se debió al contenido de cafeína.

El marigold posee una sustancia llamada alfa-tertyenyl la cual según Decker (1988), tiene un efecto nematicida.

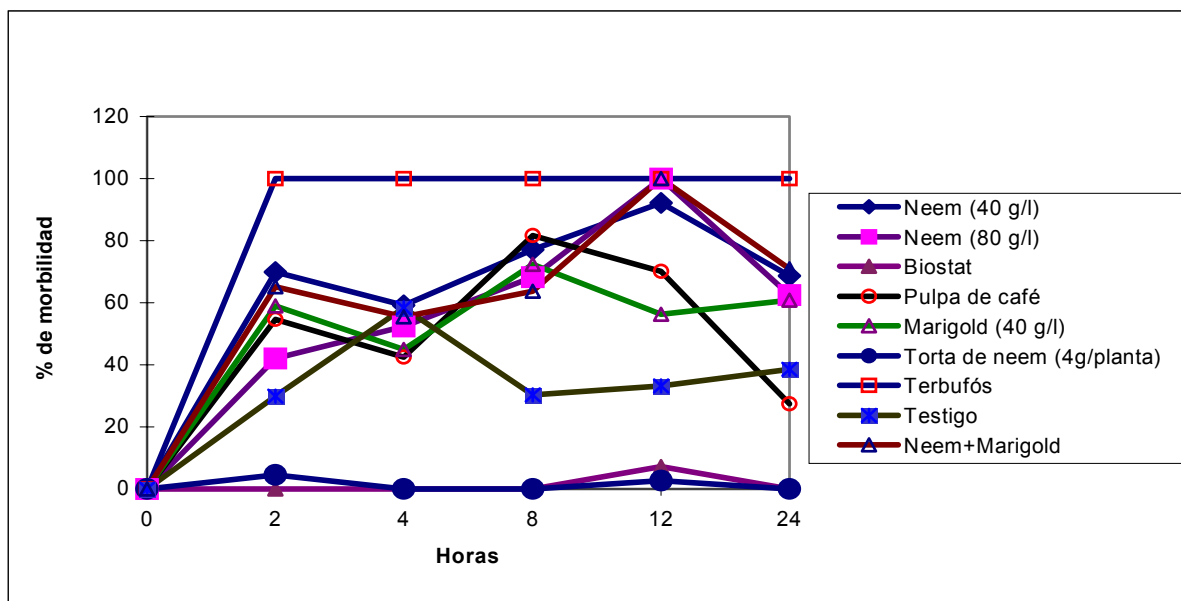
A las 24 horas los tratamientos a base de neem siguen actuando, sin embargo el porcentaje de mortalidad en la mayoría de ellos se reduce; posiblemente por que el periodo de tiempo de exposición no es suficiente para causar mortalidad, logrando volverse móviles después de ser limpiados de las sustancias aplicadas (Fig 1).

Los tratamientos que causaron menor efecto fueron Biostat (*Paecilomyces lilacinus*) y neem (4g/planta); esto probablemente se debe en el primer caso, a la biología del hongo, el cual debe establecerse en el suelo en un determinado tiempo para poder actuar siendo principalmente un parásito de huevos de estos organismos. Según Rodríguez-kabana et al el hongo *Paecilomyces lilacinus* carece de un mecanismo agresivo para atacar o infectar a estos organismos, los cuales por su movilidad (según Esser y El-Goll (1993)), probablemente escapan de la infección por este hongo.

Otra causa tanto en el primer caso como en el segundo, podría ser la diferencia osmótica existente en cada uno de los casos. El agua destilada por no tener iones de minerales, probablemente hace que los nemátodos seden los iones minerales que poseen, al medio en que se encuentran, aumentando así en el caso del testigo, el porcentaje de morbilidad.

Caso contrario sucede en la aplicación de torta de neem y de *P. Lilacinus*, en los que probablemente la concentración de iones existentes en el medio y en los nemátodos no son muy diferentes, lo que favoreció a los nemátodos disminuyendo el porcentaje de morbilidad al ser comparados con el testigo.

Figura 1. Porcentaje de morbilidad de nemátodos por producto aplicado.



VII. BIBLIOGRAFIA

- ABREGO, L.; CARDONA, L. 1976. Ensayos de selectividad de nematicidas en el combate de nemátodos (*Pratylenchus coffeae*) en elmacigueros de café. Revista Cafetalera. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café.(E.S) (1):17-20.
- DAVID, G. 1987. Biological control of nematodes using *Paecilomyces lilacinus* in the Philipines. Philippine phytopathological Society, inc. Phil.Phytopath. 23:18-21.
- DECKER, H. 1988. Plant nematofes and their control. (phytonematology). Ed. by N. M. Sveshnicova, Moscow. Kinderhook, N. Y. 540 p.
- ESSER, R.; EL-GHOL, N. 1993. *Paecilomyces lilacinus* a fungus that parasities nematode eggs. Nematology Circular (Fla.)203 p.
- HALBRENDT, J. M. 1996. Allelopathy in the Managment of Plant Parasitic Nematodes. Journal of Nematology. 28(1):8-14.
- LOPEZ, C.; ABREGO, L. 1977. La pulpa de Café y su influencia en el desarrollo del cafeto. Cenicafé (Col.)32(5:8):97-114.
- LUC, M.; SIKORA, R; BRIDGE, J. 1990. Plant Parasitic Nematodes in Sub tropical and tropical Agriculture. CAB International. 629 p
- MARBAN, N. 1996. Opciones para el Manejo de Nemátodos en café. Manejo Integrado de Plagas. (C.R.) no.42:45- 48.
- STILRLING, G. 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, Problems and prospects. CAB International. 282p
- TOWWSHEND, J. 1987. Methods for Evaluating Resistance to Lesion nematodes, *Pratylenchus* Species. Journal of Nematology 10:318-323.

Anexo 1. Costo (Lps) por tratamiento. Zamorano, 1997

Concepto	Neem (40g/l)	Neem (80g/l)	Biostat	Pulpa de café	Extracto de Marigold	Torta de Neem	Testigo	Terbufós	Torta de neem + Extracto de marigold
Producto	0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	11.00	0.00
Semilla (incluye semilla de café)	31.28	62.49	39.70	0.08	0.08	0.00	0.08	0.08	15.68
Medio de crecimiento	26.44	26.44	0.08	26.44	26.44	10.48	26.44	26.44	26.44
Llenado de bolsas transplante	3.75	3.75	26.44	15.00	3.75	26.44	3.75	3.75	5.63
Molido	1.50	1.88	3.75	3.33	3.33	13.13	3.33	3.33	3.33
Fumigación	2.81	3.19	0.00	0.00	0.64	3.33	0.00	0.00	5.63
Riego	59.10	59.10	0.94	0.00	0.94	1.13	0.00	1.50	1.88
Fertilización	2.47	2.47	59.10	59.10	59.10	0.00	59.10	59.10	59.10
Marigold	0.00	0.00	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47
Equipo	150.91	150.91	0.00	0.00	96.4	0.00	0.00	0.00	96.4
Transporte	0.00	0.00	0.00	100.00	50.08	0.00	0.00	85.62	149.58
TOTAL	281.51	313.48	271.43	206.34	387.43	0.00	95.17	193.21	411.23
Costo por planta	5.63	6.27	5.43	4.13	7.75	116.00	1.90	3.86	8.22
						2.32			

Nota: Cambio actual: Lps 13.20/\$

