

**Evaluación de la efectividad de cuatro  
fungicidas biológicos en el control del hongo  
de la roya de café *Hemileia vastatrix*.**

**José Ovidio Guerra Burgos  
Juan Angel Welchez Arita**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**

Noviembre, 2013

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

**Evaluación de la efectividad de cuatro  
fungicidas biológicos en el control del hongo  
de la roya de café *Hemileia vastatrix*.**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingenieros Agrónomos en el Grado  
Académico de Licenciatura

Presentado por

**José Ovidio Guerra Burgos  
Juan Angel Welchez Arita**

**Zamorano Honduras**  
Noviembre, 2013

# **Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya de café *Hemileia vastatrix*.**

Presentado por:

José Ovidio Guerra Burgos  
Juan Angel Welchez Arita

Aprobado:

---

Mauricio Huete, Ing.  
Asesor principal

---

Renan Pineda, Ph.D.  
Director  
Departamento de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Rogelio Trabanino, M.Sc.  
Asesor

---

Raúl Zelaya, Ph.D.  
Decano Académico

---

Isidro Matamoros, Ph.D.  
Asesor

## **Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya *Hemileia vastatrix*.**

**José Ovidio Guerra Burgos  
Juan Angel Welchez Arita**

**Resumen:** El cultivo del café (*Coffea arabica*) juega un papel muy importante en la economía Hondureña debido a que es el primer país con mayor producción en Centroamérica generando más de 1 millón de empleos directos. Más de 400 millones de dólares en divisas. Dada la importancia que tiene el café en nuestros países y el gran daño económico causado en Latino América por el ataque del hongo conocido como *Hemileia vastatrix* o como comúnmente se le llama roya, se ha buscado diferentes alternativas para su control. De tal manera que el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de cuatro biopesticidas para el control de la roya. Se evaluaron extracto de *Mimosa tenuiflora*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma harzianum*, y sulfato de cobre que se utilizó como el control en el campo. El estudio se desarrolló en dos fases, una a nivel de plantación comercial localizada en la Finca Santa Isabel, en el Departamento de Copan y la otra en el vivero establecido en la unidad de ornamentales situado en la Escuela Agrícola Panamericana, en el Departamento de Francisco Morazán. En la plantación comercial con una variedad conocida llamada catuai amarillo se identificó el lote con la incidencia alta de roya donde se ubicó el ensayo, con un área de 0.288 ha. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 5 tratamientos y cuatro repeticiones. Las fumigaciones realizadas con bomba de mochila se realizaron cada 15 días por dos meses, completando un total de cuatro aplicaciones por tratamiento. En la fase de vivero con una variedad conocida llamada catuai también se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 72 plántulas de café las cuales fueron divididas en seis lotes de 12 plantas donde se distribuyeron 2 plantas por tratamiento dentro de cada bloque siendo así cada bloque una repetición. Estas fueron inoculadas con el hongo y luego aplicadas con cada tratamiento con una secuencia de cada siete días por seis semanas consecutivas. Las variables medidas en ambas fases fueron el porcentaje de daño foliar (PDANO) que causa la roya en el follaje, el grado de daño (GDANO), la cantidad de pústulas vivas (PUSTULAS) en cada una de las hojas muestreadas. Cada dos plantas por tratamiento en el bloque fue considerada una unidad experimental en vivero y en campo se muestreo seis plantas del medio de la plantación. En la fase de campo no se encontraron diferencias significativas para ninguna variable para los cinco tratamientos. En la fase de vivero se determinó que el extracto de la *Mimosa tenuiflora* tuvo diferencias significativas para las variables PDANO y GDANO mostrando el porcentaje más bajo de infestación 8.69% de roya por hoja infestada. Fue distinto en cuanto a PUSTULAS ya que el único tratamiento que tuvo diferencia significativa fue el sulfato de cobre con una media de 6.47 pústulas.

**Palabras clave** *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* *Coffea arabica*, extracto de *Mimosa tenuiflora*, Grado de daño, Porcentaje de daño, Pústulas, *Trichoderma harzianum*.

**Abstract:** Coffee (*Coffea arabica*) plays an important role in Honduran economy given that it is the number one country in Central America that produces coffee. More than 1 million jobs are generated thanks to it and over 400 million dollars are made in foreign currency. Given the importance of coffee in our countries and the major economic damage in Latin America by the attack of fungus known as *Hemileia vastatrix* or as it is commonly called coffee rust scientists have sought alternatives for its control. Thus the aim of this investigation was to evaluate the effect of four biopesticides to control coffee rust. Evaluation of *Mimosa tenuiflora* extract, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma harzianum* , and copper sulfate which was used as control in the field study. The study was conducted in two phases, one in a commercially productive plantation located at Finca Santa Isabel, in the Department of Copan and the other phase of our study was made in the coffee nursery established ornamental unit located at Escuela Agricola Panamericana, in the Department of Francisco Morazán. In commercially productive plantation a mayor coffee rust infected lot was seek. A yellow catuai lot was found where the experiment took place, with an area of 0.288 ha. The statistical design was a randomized block design with five treatments and four replications. The knapsack fumigations were performed every 15 days for two months, for a total of four applications per treatment. In the coffee nursery phase with a known variety called catuai a randomized block design was also used, with 72 coffee seedlings which were divided into six lots of 12 plants which were distributed 2 plants per treatment within each block being each block a replica . These were inoculated with the fungus and then applied to each treatment sequence every seven days for six consecutive weeks. The variables measured in both stages were the percentage of leaf damage (PDANO) caused by coffee rust on foliage , the degree of damage (GDANO), the amount of living pustules (PUSTULAS) on each sampled leaf . Every two plants per treatment in the block were considered an experimental unit in the coffee nursery and in field sampling six plants of every block in the plantation. In the field phase differences were not significant for any variable for the five treatments. In the coffee nursery phase it was determined that *Mimosa tenuiflora* extract had significant differences for the variables GDANO PDANO showing the lowest rate of 8.69% infestation per infested leaf with coffee rust. Copper sulfate was different in terms of pustules as it was the only treatment that had significant differences with an average of 6.47 pustules per plant

**Key words:** *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Coffea arabica*, damage degree, damage percentage, *Mimosa tenuiflora* extract, pustules, *Trichoderma harzianum*.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen .....	
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Contenido .....	v
Índice de cuadros y figuras.....	
vii	
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>19</b>
<b>5. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>20</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>21</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Distribución de los tratamientos en campo. ....	5
2. Distribución de los tratamientos en vivero. ....	6
3. Distribución de tratamientos para la fase de campo. ....	6
4. Distribución de tratamientos para la fase de vivero. ....	7
5. Escala de grado de daño en base al % de daño. ....	8
6. Porcentaje de Daño (PDANO) y número de Pústulas Vivas (PUSTULASV) en el ensayo de campo. ....	9
7. Porcentaje de daño y número de pústulas por hoja en el ensayo de vivero. ....	14

Figuras	Página
1 Rango de porcentaje de daño de la roya en hojas de café. ....	7
2 Porcentaje de infestación para los tratamientos en las tomas de datos en campo. ....	10
3 Número de pústulas vivas para los tratamientos en cada toma de datos en campo. ....	11
4 Distribución del grado de daño para los tratamientos evaluados en campo. ....	12
5 Evolución del grado de daño a lo largo del tiempo en campo. ....	<b>Error! Bookmark</b>
6 Comportamiento de los tratamientos a través del tiempo. ....	15
7 Número de pústulas vivas a través del tiempo en vivero. ....	16
8. Grado de daño para los tratamientos a evaluar en vivero. ....	17
9. Movimiento de los diferentes grados de daño a través del tiempo en vivero. ....	18

## 1. INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica L.*) un arbusto siempre verde perenne de entre nueve a 12 metros de altura, pertenece a la familia de las Rubiáceas tiene su origen en Etiopia. De sus frutos se obtiene una de las bebidas más populares a nivel mundial. Debido a un mercado exigente y creciente, hace que sea uno de los cultivos más deseados, comercializados y rentables para los países productores.

El cultivo del café (*C. arabica*) juega un papel muy importante en la economía Nacional. Honduras es el segundo país productor de Centroamérica generando más de 1 millón de empleos directos (8% de la generación de empleos del país). Representa el 8% del PIB Nacional y casi el 30% del PIB Agrícola; genera más de 400 millones de dólares en divisas (IHCAFE sf).

En el país se cultivan alrededor de 270,000 ha con una producción promedio anual de 4.4 millones de qq. Se cultiva en 15 de 18 departamentos y en 213 de 268 municipios. Dividiéndose en regiones cafetaleras de: Copán, Opalaca, Montecillos, Azul Meambar y Asalta Tropical; con una distribución porcentual de la producción en el país en un 45% en Occidente, 25% en Oriente, 20% en Centro-Sur y un 10% en el Norte. De los cuales 3.8 millones son exportados principalmente a Bélgica, Alemania, Estados Unidos, y Japón (IHCAFE sf).

Dado a la importancia que tiene el café en nuestros países y el gran daño que ha surgido en Latino América por la roya (*Hemileia vastatrix*) se ha buscado diferentes alternativas para su control. La roya puede llegar a causar hasta un 100% de daño en las plantaciones por lo que esta es la enfermedad principal del cultivo del café (Huete 2013). Debido a la importancia de la enfermedad el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los tratamientos con extracto de *Mimosa tenuiflora*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma harzianum*, y sulfato de cobre en el control de La Roya Del Café (*H. vastatrix*) utilizando agua como control en la fase de vivero.

La roya causada por el hongo de la clase Basidiomycetes, que pertenece a la familia Pucciniaceae (Avelino *et al.* 1999). El ciclo de vida de esta enfermedad se ve afectado por factores climáticos, entre los más importantes están la temperatura, la humedad relativa y en menor grado la radiación solar (Becker *et al.* 1991). Esta enfermedad es policiclica dado que presenta varias generaciones en un solo ciclo del cultivo, sin embargo la duración del este depende de las condiciones climáticas. El hongo puede sobrevivir en lesiones que no tienen esporas en las hojas bajas de la planta, también puede estar en las



hojas del suelo; pero no se conoce si tiene hospederos alternos (Guharay *et al.* 2000). El hongo puede llegar a sobrevivir hasta seis semanas en períodos de sequía en órganos

afectados, incrementando su intensidad en época lluviosa (Castaño y Mendoza, 1994). El rango de temperaturas óptimas para el desarrollo del hongo oscilan entre los 21 y 25 °C, el hongo es beneficiado de igual manera por baja intensidad lumínica y requiere entre 5.3-8.5 horas para formarse. El hongo también requiere de humedades altas para poder germinar, una vez ya en la planta este penetra por los estomas del envés de las hojas maduras y desarrolla estructuras denominadas haustorios (Rayner, 1961). Estas estructuras son encargadas de aferrarse a las células de las plantas de las cuales extrae los nutrientes para su crecimiento. A los 30 días de su germinación el hongo se considera suficientemente maduro y este desarrolla estructuras llamadas soros las cuales a su vez son las encargadas de producir nuevas urediniosporas (Rivillas *et al.*, 2011).

El extracto de *Mimosa tenuiflora* que también es conocida comúnmente como carbón negro, tepezcohuite, jurema preta o catanga, tiene como ingredientes activos los taninos y bioflavonoides. Estos causan una ruptura en la membrana celular vaciando el contenido interno y destruyendo la estructura reproductiva de los microorganismos. Simultáneamente desnaturalizando las enzimas e impidiendo el arreglo correcto de sus sustratos. El extracto de *M. tenuiflora* es efectivo contra la mayoría de hongos y bacterias fitopatógenos, inhibiendo el crecimiento y desarrollo de éstos. Actúa de forma curativa y/o preventiva en las enfermedades más importantes que afectan a hortalizas y frutales (Atlántica Agrícola 2013).

*Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva termo-resistente lo cual mejora su supervivencia en ambientes hostiles, haciendo una simbiosis con la planta alimentándose del hongo, usualmente se utiliza para el control de la mosca blanca y Pythium en tomate. En un ensayo realizado por Journal Biopesticides esta bacteria ha funcionado en el control de *H. vastatrix* teniendo un índice de esporulación de 19.78% (Daivasikamani y Rajanaika 2009). Según estudios realizados por Bettiol *et al* (1994) y Bettiol y Várzea (1992) el *B. subtilis* tiene de 60-100% de protección de follaje al aplicarse en las hojas 24-72 horas previo a la inoculación con *H. vastatrix*.

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria Gram positiva que habita en el suelo, que se utiliza comúnmente como una alternativa biológica a los insecticidas sintéticos, siendo en un principio su uso principal en el cultivo del maíz para controlar el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y en papa y algodón como insecticida en el sur de Estados Unidos (EPA 1995).

El *B. thuringiensis* al usar un medio adecuado puede ser inducido a la producción de  $\beta$ -1,3-Glucanasa y Quitinasa la cual proporciona protección sobre *H. vastatrix* al romper la pared celular del hongo por medio de la acción de estas enzimas, la protección es expresada desde los 2-4 días después de haber sido inducida la producción enzimática y a su vez expresa su mayor protección entre los 7-18 días obteniendo hasta un 75% de control (Martins 1996), sin embargo, también se encontró que el *B. thuringiensis* no tiene control sobre las plantas de café infectadas con roya (Daivasikamani y Rajanaika 2009) y (Haddad *et al*, 2009).

*Trichoderma harzianum* es un hongo presente en el suelo el cual se alimenta de otros hongos, este produce esporas asexuales y es utilizado en control biológico por su acción micoparásitica que funciona como un escudo en los tejidos de la planta al recubrir y proteger. *T. harzianum* es utilizado comúnmente para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* (Papavizas *et al.* 1982). En estudios de laboratorio se encontró que el *T. harzianum* creció paralelo a la *H. vastatrix* sin causar ningún efecto directo en ella, sin embargo, en condiciones campo estos 2 hongos podrían competir por nutrientes (Rolz Asturias *et al.* 2013).

El sulfato de cobre es un fungicida y bactericida protectante formulado en micro gránulos dispersables en agua. Posee 26% de cobre metálico (122 gr de i.a. / Kg) y es mezclado con 30% de Mancozeb (300 gr de i.a. / Kg) a esta mezcla se le conoce comúnmente con el nombre de Caldo Bordoles. Con el Caldo Bordoles se han hecho investigaciones para la protección contra la roya del café sin encontrar resultados favorables al tener valores sin diferencia estadística significativa con el testigo sin aplicación alguna (Campos-Almengor *et al.* 2013).

Por lo que se se tuvo como objetivos evaluar el efecto de cuatro biopesticidas para el control de la roya, utilizando como control sulfato de cobre en la fase de campo. Evaluar el efecto de cuatro biopesticidas y el fungicida tradicional sulfato de cobre para el control de la roya, utilizando agua como control en la fase de vivero. Determinar el comportamiento de las variables porcentaje de daño y grado de daño con su interacción en el tiempo.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en dos fases. La fase de campo se realizó en Finca Agroindustrial Santa Isabel S.A, que cuenta con 350 ha de café ubicada entre 900 y 1300 msnm, en el municipio de San Jerónimo del departamento de Copan-Honduras, con una precipitación anual entre 1750 y 1950 mm y con una temperatura promedio anual de 20°C. Se identificó el lote con la incidencia alta de roya donde se ubicó el ensayo, con un área de 0.288 ha con una variedad de café conocida como catuai amarillo. Se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y cuatro repeticiones. Las fumigaciones realizadas con bomba de mochila se realizaron cada 15 días por dos meses, completando un total de cuatro aplicaciones por tratamiento (Ilustración 1).

La fase de vivero se desarrolló en la unidad de ornamentales ubicado en la Escuela Agrícola Panamericana, a 32 km de Tegucigalpa, con una altura promedio de 800msnm, precipitación y temperatura promedio anual de 1100 mm y 24°C respectivamente. Se utilizó un diseño completamente al azar con 72 plántulas de café variedad catuai las cuales fueron divididas en seis lotes de 12 plantas donde se distribuyeron 2 plantas por tratamiento dentro de cada bloque siendo así cada bloque una repetición. Estas fueron inoculadas con roya y luego aplicadas con cada tratamiento cada siete días por seis semanas consecutivas. Las variables medidas en ambas fases fueron el porcentaje de daño (PDANO) que causa la roya en el follaje, el grado de daño (GDANO), la cantidad de pústulas vivas (PUSTULASV) en cada una de las hojas muestreadas. Cada plantas por bloque fue considerada una unidad experimental en vivero y en campo se muestreo 6 plantas del medio de la plantación (Ilustración 2).

En la finca Santa Isabel se utilizó como testigo el sulfato de cobre dado a que este fungicida es el que se usa y se recomienda tradicionalmente para el manejo de la enfermedad. Para los productos biológicos de *B. subtilis* y *T. harzianum* se usaron los productos del laboratorio de control biológico de Zamorano. Para el tratamiento botánico del extracto de *M. tenuiflora* y el sulfato de cobre se usó el producto comercial MIMOTEN y CUPROFIX respectivamente, utilizando las dosis recomendadas por el fabricante.

En el ensayo hecho en campo se determinó que con 52 L por cada parcela de 144 m<sup>2</sup> las plantas quedaban completamente cubiertas de los tratamientos diluidos en el agua. Para la fase de vivero utilizando papel hidrosensible se pudo determinar que con para poder mojar bien las 12 plantas por bloque se necesitaban 110mL de agua.

Los tratamientos evaluados en campo fueron:

1. ***Bacillus thuringiensis***: Dosis commercial, 500 g/ha.
2. ***Bacillus subtilis***: Dosis comercial, 1 gal/ha.
3. **Extracto de *Mimosa teuniflora***: Dosis comercial, 300 cc/ha.
4. ***Trichoderma harzianum***: Dosis comercial, 240 g/ha.
5. **Sulfato de cobre**: Dosis comercial, 4 Kg/ha.

Los tratamientos evaluados en vivero fueron:

1. ***Bacillus thuringiensis***: Dosis commercial, 500 g/ha.
2. ***Bacillus subtilis***: Dosis comercial, 1 gal/ha.
3. **Extracto de *Mimosa teuniflora***: Dosis comercial, 300 cc/ha.
4. ***Trichoderma harzianum***: Dosis comercial, 240 g/ha.
5. **Sulfato de cobre**: Dosis comercial, 4 Kg/ha.
6. **Agua**: 100ml

El ensayo realizado en campo tuvo una duración de 67 días iniciando del 13 de Marzo del 2013 y finalizando el 19 de Mayo del 2013, tiempo en el cual se hicieron cuatro aplicaciones con frecuencia de 15 días.

Cuadro 1. Distribución de los tratamientos en campo. Finca Sta. Isabel, 2013

<b>BS</b>	<b>SC</b>	<b>MT</b>	<b>BT</b>	<b>TH</b>
<b>MT</b>	<b>BS</b>	<b>BS</b>	<b>SC</b>	<b>BT</b>
<b>SC</b>	<b>TH</b>	<b>BT</b>	<b>BT</b>	<b>BS</b>
<b>TH</b>	<b>MT</b>	<b>SC</b>	<b>TH</b>	<b>MT</b>

Cuadro 2. Distribución de los tratamientos en vivero. Zamorano, 2012.

BT	MT	AG	TH	SC	BS
AG	BS	BT	BS	AG	MT
BS	SC	MT	SC	BS	BT
MT	TH	SC	AG	TH	AG
TH	BT	TH	BT	MT	SC
SC	AG	BS	MT	BT	TH
B.1	B.2	B.3	B.4	B.5	B.6

Cuadro 3. Distribución de tratamientos para la fase de campo. Finca Sta. Isabel 2013.

Tratamientos	Forma y dosis de aplicación
Extracto de <i>Mimosa tenuiflora</i>	160 cc/52 L de agua/aplicación
<i>Trichoderma harzianum</i>	40 g/52 L de agua/aplicación
<i>Bacillus subtilis</i>	175 cc/52 L de agua/aplicación
<i>Bacillus thuringiensis</i>	23 g/52 L de agua/aplicación
Sulfato de cobre	180 g/52 L de agua/aplicación

El ensayo de vivero se realizó durante un periodo de 70 días iniciando el 18 de Julio del 2013 y finalizando el 26 de Septiembre del 2013, donde se hicieron seis aplicaciones con una frecuencia de siete días.

Cuadro 4. Distribución de tratamientos para la fase de vivero. Zamorano, 2012.

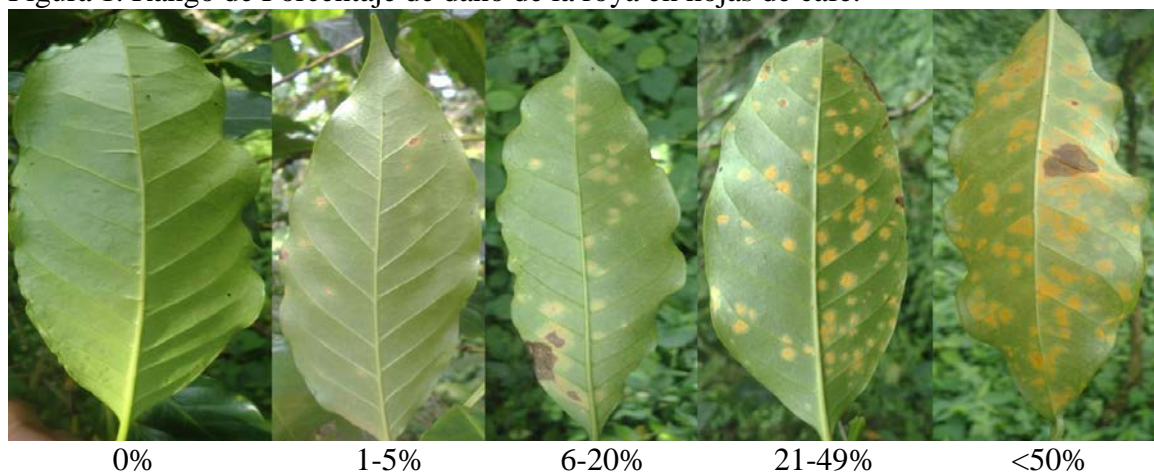
<b>Tratamientos</b>	<b>Forma y dosis de aplicación</b>
Extracto de <i>Mimosa tenuiflora</i>	160 cc/52 L de agua/aplicación
<i>Trichoderma harzianum</i>	40 g/52 L de agua/aplicación
<i>Bacillus subtilis</i>	175 cc/52 L de agua/aplicación
<i>Bacillus thuringiensis</i>	23 g/52 L de agua/aplicación
Sulfato de cobre	180 g/52 L de agua/aplicación
Agua (control)	52 L de agua/aplicación

Para evaluar el efecto de los tratamientos en ambos ensayos se midieron las siguientes variables

- Porcentaje de daño foliar sobre la lámina de la hoja.
- Grado de daño causado en cada hoja afectada.
- Numero de pústulas por hoja.

Para medir el porcentaje de daño se muestrearon todas las hojas que estuviesen infectadas con roya asignando un porcentaje de daño foliar a cada hoja. Para la variable número de pústulas por hoja se evaluaron todas las hojas infectadas, contando el total de pústulas encontradas en cada hoja. Para el grado de daño se utilizó el porcentaje de daño de cada hoja con la ayuda de la siguiente escala de daño.

Figura 1. Rango de Porcentaje de daño de la roya en hojas de café.



0%

1-5%

6-20%

21-49%

<50%

Cuadro 5. Escala de grado de daño en base al % de daño.

<b>Porcentaje de daño foliar/hoja</b>	<b>Grado</b>
<b>0</b>	<b>0</b>
<b>1-5%</b>	<b>1</b>
<b>6-20%</b>	<b>2</b>
<b>21-49%</b>	<b>3</b>
<b>≥50%</b>	<b>4</b>

Fuente: SAGARPA (2013), adaptada por los autores.

Para la evaluación de los productos en la plantación comercial sobre el control de la roya se utilizó un diseño experimental de BCA (Bloques Completos al Azar) con cinco tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, cada unidad experimental constó de 144 m<sup>2</sup>, con 72 plantas por unidad experimental, destinando seis plantas del centro de cada unidad experimental de las cuales se evaluaron las hojas que tengan roya para el muestreo.

Para la fase de vivero en la evaluación de los productos en el control de la roya se utilizó un diseño experimental de BCA (Bloques Completos al Azar) con seis tratamientos con seis aplicaciones por tratamiento. Cada bloque experimental consistió de 12 plantas en donde se distribuyeron los tratamientos al azar. Cada repetición o bloque consto con dos plantas por tratamiento.

Para la variable porcentaje de daño (PDANO) la cual fue transformada por medio del arseno para disminuir la varianza y el número de pústulas (PUSTULASV) se realizó un análisis de varianza con el Modelo General Lineal (GLM) y separación de medias se realizó con la prueba DUNCAN. Para la variable grado de daño (GDANO) se utilizó la prueba Chi-Cuadrado con PROC FREQ (procedimiento de frecuencias), con una probabilidad requerida menor o igual a 0.05. Estas variables se analizaron en el paquete estadístico SAS<sup>®</sup> 2012.



### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo realizado en campo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos comparándolos contra el testigo Sulfato de cobre, para las variables PDANO y PUSTULASV con una  $P \leq 0.05$  (Cuadro 4). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en las fechas de toma de datos, indicando que los tratamientos tuvieron efecto de control contra la roya a lo largo del tiempo, encontrando que el tratamiento *Bacillus subtilis* controló mejor la roya a lo largo del tiempo que duró la investigación al poder observar la tendencia a controlar la roya (Figura 1). Aunque no existieran diferencias significativas entre los tratamientos de este estudio, los resultados obtenidos para el tratamiento testigo de sulfato de cobre superan a los encontrados por Campos-Almengor *et al.* (2013) quien evaluando siete fungicidas químicos contra roya reportó 68% de PDANO para este mismo tratamiento, de la misma manera los resultados obtenidos en el ensayo de campo para *Bacillus subtilis* como el tratamiento de mejor desempeño en el tiempo superando al testigo, el cual podemos comparar con el estudio realizado por Bettiol W. y Várzea (1992) que en condiciones controladas y utilizando dosis altas de esta bacteria obtuvieron un resultado de 100% de control del patógeno utilizando este tratamiento como preventivo.

Cuadro 6. Porcentaje de Daño (PDANO) y número de Pústulas Vivas (PUSTULASV) en el ensayo de campo

Tratamiento	n	PDANO	PUSTULASV
<i>Bacillus thuringiensis</i>	151	10.30 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>
Sulfato de cobre	169	9.63 <sup>a</sup>	3.66 <sup>a</sup>
<i>Mimosa tenuiflora</i>	105	8.59 <sup>a</sup>	3.83 <sup>a</sup>
<i>Trichoderma harzianum</i>	160	8.71 <sup>a</sup>	3.34 <sup>a</sup>
<i>Bacillus subtilis</i>	142	7.21 <sup>a</sup>	2.79 <sup>a</sup>
Probabilidad		0.6603	0.6959

n: número de muestras por tratamiento.

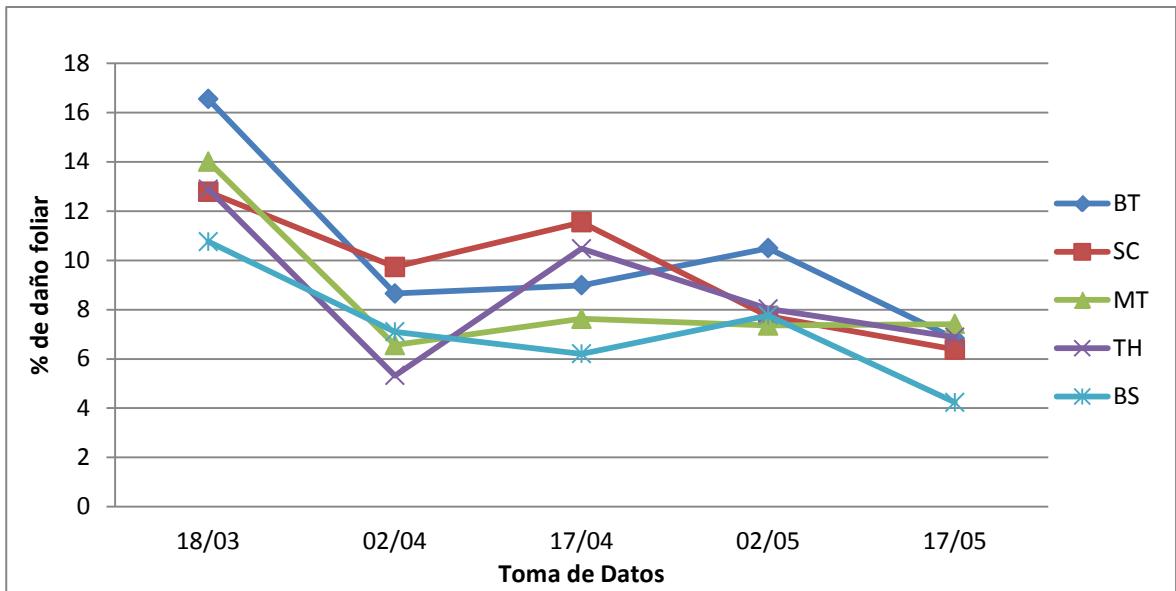


Figura 2. Porcentaje de infestación para los tratamientos en las tomas de datos en campo. Finca Sta. Isabel, 2013.

Como ya se mencionó para la variable PUSTULASV no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 4), esto se confirma en la siguiente grafica (Figura 2) donde se puede observar que los tratamientos se comportaron de forma similar a lo largo del tiempo, también en esta grafica se puede observar que las PUSTULASV disminuyeron para todos los tratamientos a lo largo del tiempo donde se encontraron diferencias significativas entre la primera toma de datos y las siguientes tomas de datos. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se puede observar que el tratamiento de *Bacillus subtilis* presenta la mejor tendencia a lo largo del tiempo y en la última toma de datos.

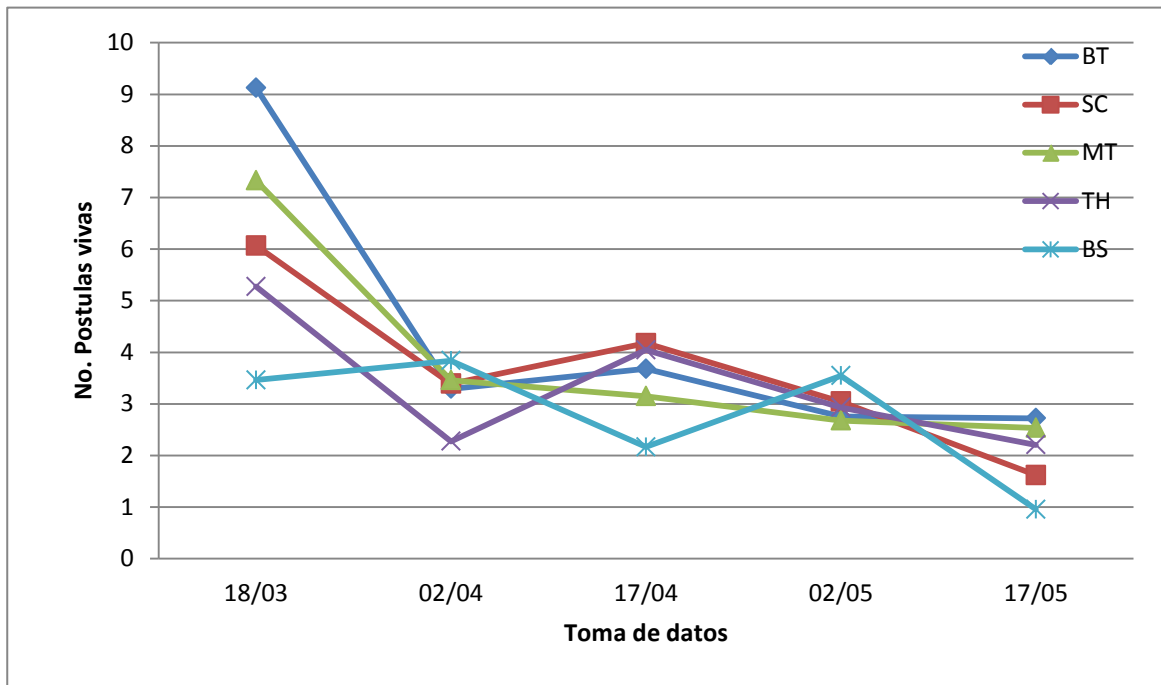


Figura 3. Número de pústulas vivas para los tratamientos en cada toma de datos en campo. Finca Sta. Isabel, 2013

La variable grado de daño se evaluó a través de la frecuencia de aparición de cada uno de los grados en los diferentes tratamientos. Para los tratamientos evaluados se encontraron diferencias significativas entre ellos donde el tratamiento con *Bacillus subtilis* es el tratamiento en el cual alrededor del 80% de los datos se encuentran en el grado 1 y 2 y aproximadamente 15% en grado 0 que es libre de infección de roya. Los tratamientos de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus thuringiensis* presentan resultados similares en cuanto a la distribución de sus datos en la escala de grado de daño pero para estos dos tratamientos se puede observar que el grado de daño 3 se presenta con mayor frecuencia que para el tratamiento *Bacillus subtilis* (Figura 3). Los resultados para *Bacillus thuringiensis* según (Rivera et al 1993) sostiene que una aplicación de esta bacteria a diferentes dosis tiene un efecto de protección a las hojas de la planta reduciendo la severidad y el periodo de incubación de las pústulas.

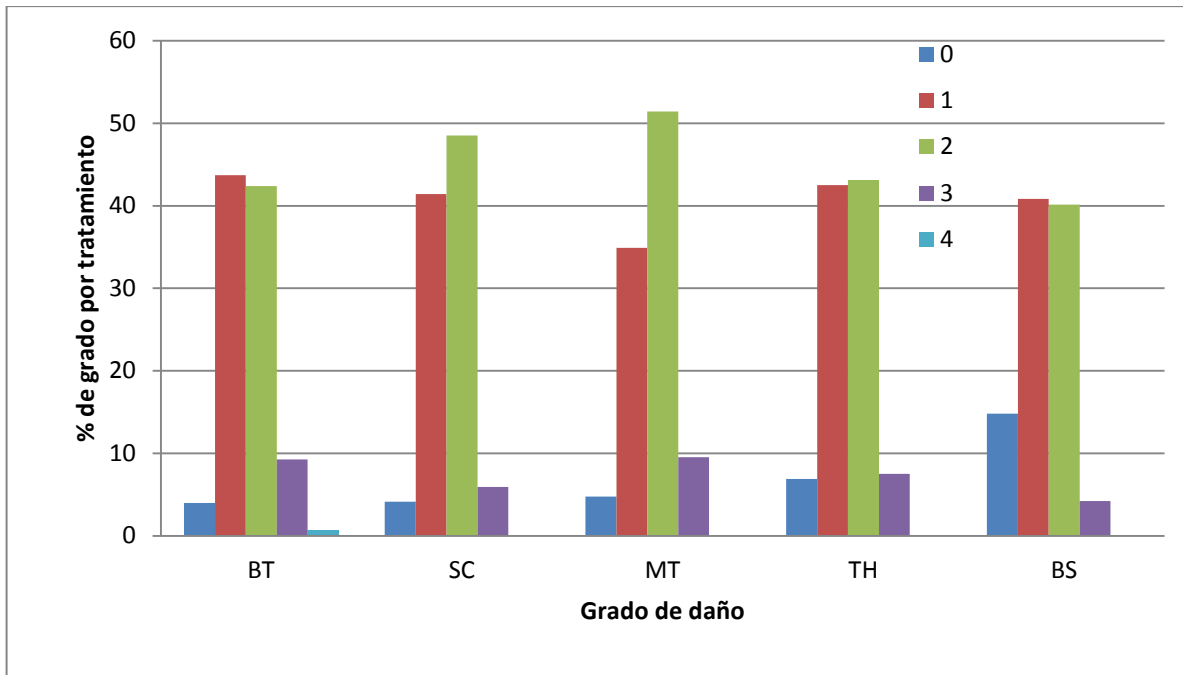


Figura 4. Distribución del grado de daño para los tratamientos evaluados en campo. Finca Sta. Isabel.

El grado de daño evoluciono entre las tomas de datos siendo notorio el grado 0 el cual es para 0% de daño, donde se puede apreciar el aumento de ocurrencia de este grado con forme transcurrió el tiempo entre las tomas de datos, además cabe mencionar que los grados 1, 2 y 3 tendieron a disminuir en el tiempo lo sirve como indicador que los tratamientos causaron un efecto positivo sobre el daño causado por la roya.

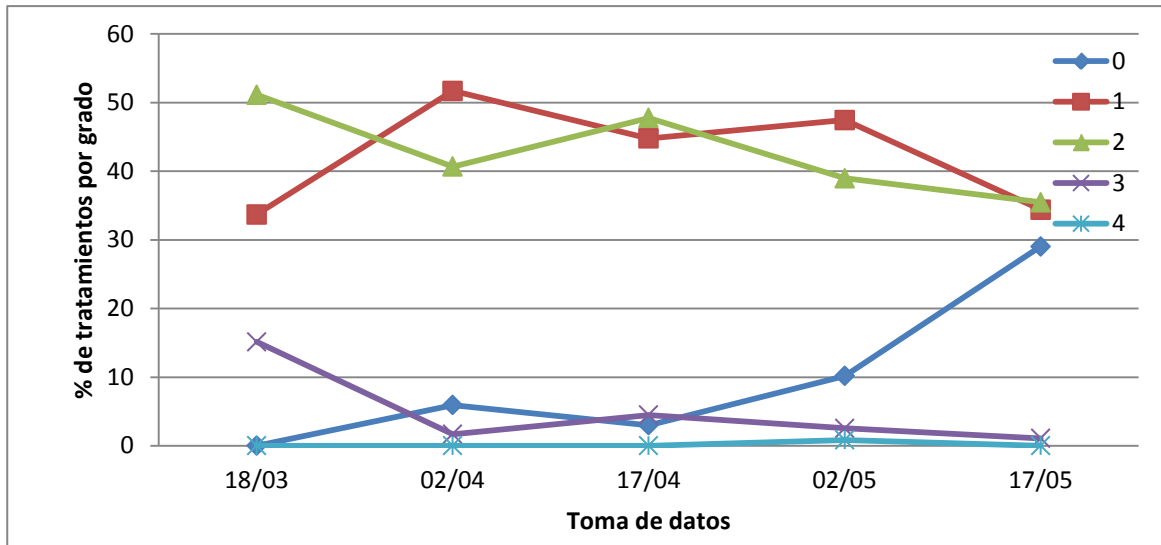


Figura 5. Evolución del grado de daño a lo largo del tiempo en campo, Finca Sta. Esabel, 2013.

En la Fase de vivero se encontró que existe diferencia significativa entre los tratamientos. Siendo el tratamiento de extracto de la *Mimosa tenuiflora* el que menor porcentaje de infestación presentó. El *Bacillus thuringiensis* y el sulfato de cobre estuvieron cerca del extracto de *M. tenuiflora* sin embargo no existieron diferencias significativas para con el resto de tratamientos pero sí para con el testigo. El testigo fue el que menor control obtuvo no obstante siempre tuvo relación para con los demás tratamientos. En cuanto a la cantidad de pústulas vivas podemos observar que el tratamiento con menor cantidad no fue el mismo tratamiento con menor PDANO si no fue el sulfato de cobre. El extracto de *M. tenuiflora* y el *B. subtilis* obtuvieron rangos muy cercanos y por debajo de los otros 3 tratamientos manteniendo así menos pústulas vivas (Cuadro 5).

Los resultados encontrados para *B. subtilis* en cuanto a PDANO son inferiores a los encontrados por Bettiol *et al* (1994) donde se evaluó el efecto de protección de la bacteria 72 y 24 horas antes de la inoculación de la roya, en donde encontraron hasta un 100% de protección en dichas hojas. Según Guzzo y Martins (1996) los resultados para *B. thuringiensis* son similares al ellos evaluar la inducción sistémica de  $\beta$ -1,3-Glucanasa y Quitinasa en *B. thuringiensis* en donde encontraron un 15% de daño 7-18 días después de haber sido inoculadas con roya. Sin embargo en estudios realizados en la India por Daivasikamani y Rajanaika (2009) encontraron que la bacteria no tenía ningún efecto controlador sobre las hojas infestadas con roya. Los resultados para el tratamiento sulfato de cobre son superiores a los encontrados por Campos-Almengor *et al.* (2013) el cual evaluando siete fungicidas químicos contra roya y reporto 68% de PDANO para este mismo tratamiento.

Cuadro 7. Porcentaje de daño y número de pústulas por hoja en el ensayo de vivero. Zamorano, 2012.

Tratamiento	n	PDANO	PUSTULASV
Agua	318	22.94a	10.51abc
<i>B. subtilis</i>	411	19.87ab	9.44bc
<i>B. thuringiensis</i>	468	13.52b	14.09a
Extracto de <i>M. tenuiflora</i>	304	8.59c	9.81abc
Sulfato de cobre	368	15.49b	6.47c
<i>T. harzianum</i>	482	17.86ab	13.48ab
Probabilidad		0.0005	0.0104

En el estudio realizado se encontró que el extracto de *M. tenuiflora* fue el tratamiento que mantuvo el porcentaje de daño (PDANO) más estable a través del tiempo (Figura 5.), manteniendo así los PDANO más homogéneos y menos cambiantes. Como fue demostrado en el Cuadro 5 el sulfato de cobre también mantuvo un PDANO estable a través del tiempo pero a una mayor escala que el extracto de *M. thuringiensis*. El resto de tratamientos oscilaron bajo un mismo rango de PDANO siendo el que menos tenía el *B. subtilis*. Para el día 36 los tratamientos que iban con un mayor incremento de roya tuvieron una pérdida notoria de follaje debido a que la infestación ya había causado daños muy graves. Por lo cual para la última fecha en el día 43 podemos notar una reducción pronunciada del porcentaje de daño causado por la pérdida de follaje.

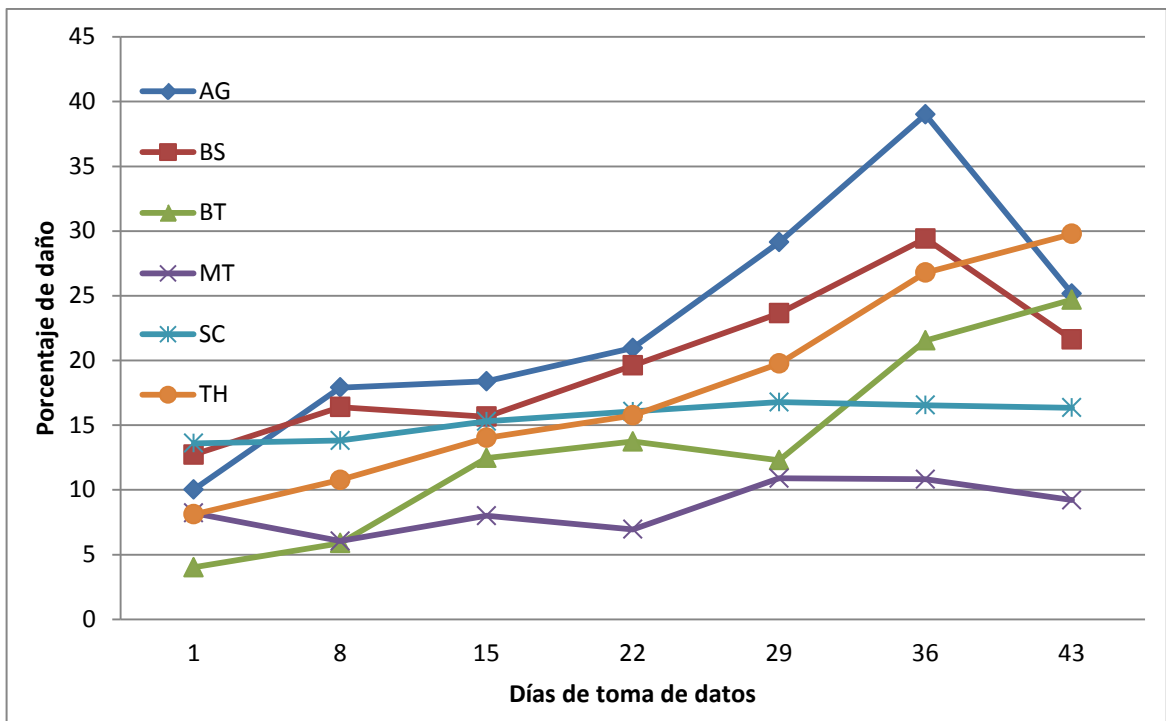


Figura 6. Comportamiento de los tratamientos a través del tiempo, Zamorano 2012.

Como se demostró en el Cuadro 5 el sulfato de cobre fue el tratamiento que mantuvo el número de pústulas vivas más estables y más bajo. Sin embargo se puede ver que el *B. subtilis* a pesar de que tuvo en un comienzo mayor número de pústulas termino con un una cantidad muy cercana de pústulas vivas que el mejor tratamiento (Figura 6). El extracto de la *M. tenuiflora* y Agua mantuvieron las pústulas en un rango muy cercano a los mejores tratamientos pero se puede ver una inestabilidad más grande a través del tiempo de estos tratamientos. El *T. harzianum* y el *B. thuringiensis* si tuvieron una diferencia mucho más distante a los demás tratamientos y mantuvieron los números de pústulas más altos en el ensayo. Entre los días 36 y 43 de puede ver notar una disminución muy pronunciada para el testigo y *B. subtilis* dado que estos tenían mayor porcentaje de daño lo cual causo una caída del follaje. Por ende la cantidad de pústulas para estos tratamientos era muy pocas ya que se había perdido la mayoría de hojas.

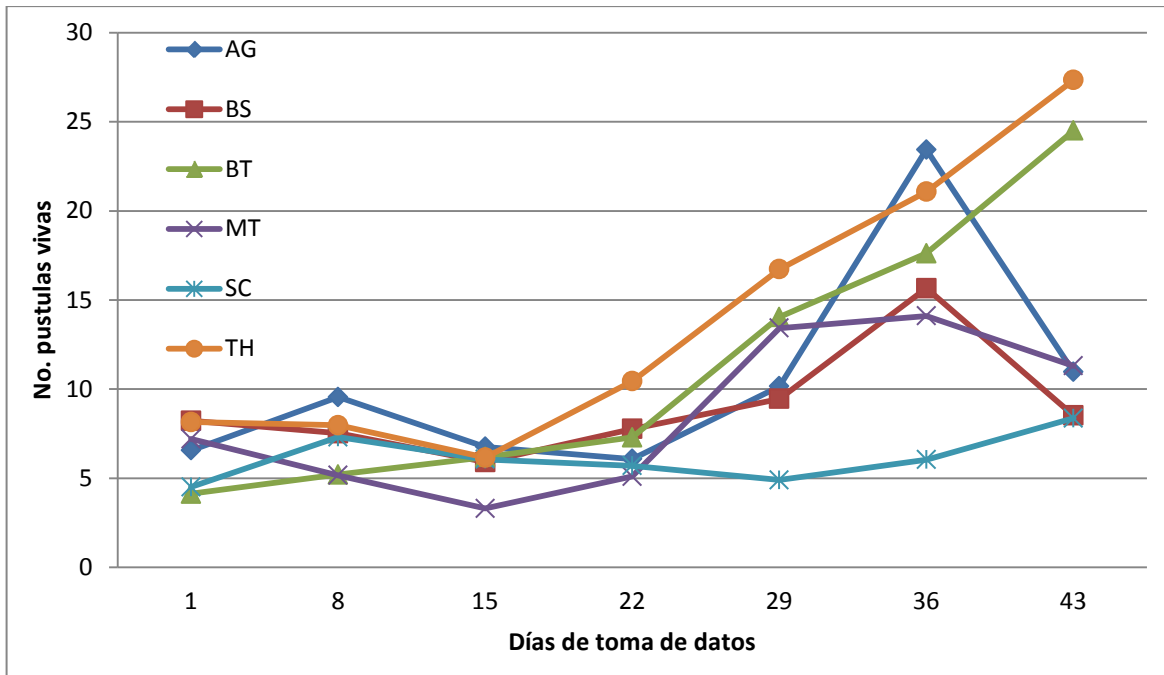


Figura 7. Número de pústulas vivas a través del tiempo en vivero. Zamorano, 2012.

Como se demostró en el Cuadro 5 y la figura 5 el mejor tratamiento fue el extracto de *M. tenuiflora*, se encontró que este tratamiento es superior a los demás al tener el mayor porcentaje de datos en el grado 1 y 2 (Figura 7.). Esto difiere del resto de tratamientos que sus datos oscilan entre los 4 grados sin presentar diferencias significativas entre ellos.



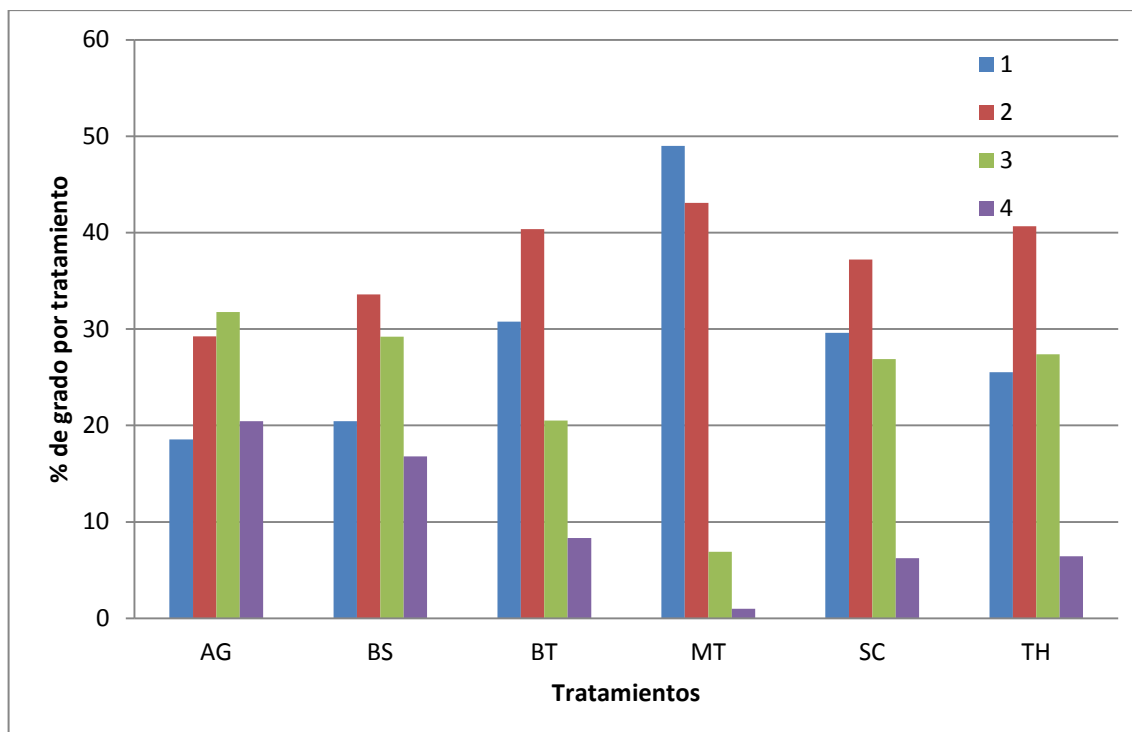


Figura 8. Grado de daño para los tratamientos a evaluar en vivero. Zamorano, 2012.

En la evaluación se encontró que a pesar de que existieron diferencias significativas la infestación mantuvo un crecimiento a través del tiempo (Figura 8). Podemos observar que el grado 1 fue disminuyendo drásticamente al contrario de los otros grados que fueron incrementando continuamente. Demostrando que la infección de roya aumento con el paso del tiempo. Esto según Zambolim *et al* (1997) quien sugiere que la roya es beneficiada y aumentada en días lluviosos y calientes. Podemos observar que en el grado cuatro a través del tiempo entre el día 36 y el día 43 existe una reducción del porcentaje de grado del tratamiento. Esto debido a que para la quinta fecha el daño había causado que se diera una defoliación por lo que para la última fecha el porcentaje de los tratamientos en el grado cuatro había bajado gracias a la falta de muestras en dicho grado.

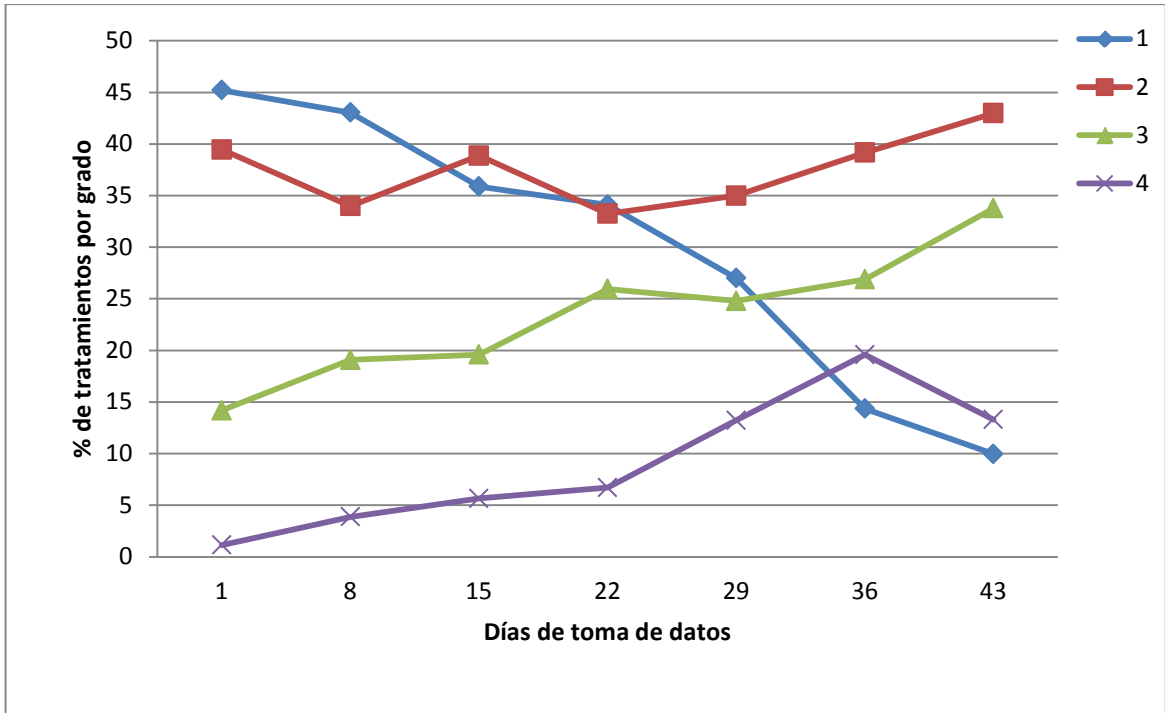


Figura 9. Movimiento de los diferentes grados de daño a través del tiempo en vivero. Zamorano, 2012.

#### 4. CONCLUSIONES

- Para las variables Porcentaje de daño y Grado de daño en plantación comercial se comportaron de forma similares.
- Las medidas en el tiempo en campo nos demuestra que todos los tratamientos tienden a disminuir el porcentaje de daño foliar.
- Bajo la evaluación de los tratamientos a nivel de vivero, el tratamiento de *Mimosa tenuiflora* fue el que presento los mejores resultados.
- En la evaluación realizada en la fase de vivero se encontró que para la variable pústulas vivas el tratamiento que presento mejor control fue el sulfato de cobre.

## 5. RECOMENDACIONES

- En próximos estudios comparar los productos biológicos contra un producto químico sistémico curativo.
- En futuros estudios evaluar los productos como preventivos no como curativos.
- Se recomienda que para futuros estudios ambos ensayos en vivero y en campo sean realizados en las mismas condiciones ambientales que favorecen a la roya simultáneamente.
- Se recomienda utilizar el extracto de *Mimosa tenuiflora* y sulfato de cobre como preventivos.

## 6. LITERATURA CITADA

Avelino, J., 1999. Contribution à la gestion du pathosystème *Hemileia vastatrix* et *Coffea arabica* au Honduras-Influence des principaux facteurs physiques, phytotechniques et biologiques. Ph.D. Thesis. Université de Paris XI, Orsay, France. 127p.

Becker-Raterink, S. 1991. El sistema *Coffea spp.* y *Hemileia vastatrix* En: Becker Raterink, S., W. Moraes y Quijano-Rico, M (eds). La roya del cafeto: conocimiento y control. GTZ. Cooperación técnica. Eschborn. República Federal de Alemania. P 1-63.

Bettiol, W. y V.M.P. Várzea. Controle biológico da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro com *Bacillus subtilis* em condições controladas. Fitopatologia Brasileira, v.17, p. 91-95, 1992.

Bettiol, W., M.L. Saito y Brandão M.S.B.. Controle da ferrugem do cafeeiro com produtos à base de *Bacillus subtilis*. Suma phytopatologica, v.20, p. 122, 1994.

Campos-Almengor, O.G., J.C. Gento-Reyes., Santos Colon, D., J.N. Reyes Maldonado y Jasinto Mazariego, R. 2013. Análisis sobre eficiencia de fungicidas contra la roya del cafeto. El Cafetalero.

Castaño-Zapata, J., L. Del Rio Mendoza. 1994. Guía para diagnóstico y control de enfermedades en cultivo de importancia económica. 3<sup>ra</sup> ed. Zamorano, Honduras; Zamorano Academic Press. p. 302.

Daivasikamani,S. y Raja Naika. 2009. Effect of some abiotic factor son germination of urediospores of the coffee leaf rust fungus, *Hemileia vastatrix* (Berkeley & Broome) J. Biopesticides, 2(1): 15-17

Guharay, F., J., Monterrey., Monterroso, D., C.H. Staver. 2000. Manejo integrado de palgas en el cultivo del café. 1<sup>ra</sup> ed. CATIE. Managua, Nicaragua. 267p.

Guzzo S.D. y E.M.F. Martins. 1996. Local and systemic induction of  $\beta$ -1,3-Glucanase and Chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. J. Phytopathology 144: 449-454

Haddad, F., L.A. Maffia., Mizubuti, E.S.G. y H. Teixeira. 2009. Biological control of coffee rust by antagonistic bacteria under field conditions in Brazil. Biological Control, v.49, N<sup>o</sup> 2, p. 144-149

Huete, M. 2013. Cultivo del café. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Comunicación personal.

IHCAFE, sf. Generalidades del café (en línea). Consultado en Marzo 2013. Disponible en [www.ihcafe.hn/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&id=1&Itemid=143](http://www.ihcafe.hn/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=1&Itemid=143)

Papavizas G.C., J.A. Lewis y Abd-Elmoity TH. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72; 126-132

Rayner R.W., 1961. Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.). *Annals of Applied Biology* 49, 497-505

Rivera, M.; F. Guharay.; Bustamante, E.; D. Moterroso. 1993. Residualidad de diferentes dosis de *Bacillus thuringiensis* en el sistema café-*Hemileia vastatrix* Berk & Br. *Manejo integrado de plagas (Costa Rica)* 27:1-4

Rivillas, O.C., G.C Serna, Cristancho, A.M. y B.A. Gaitán. 2011. La Roya del Cafeto en Colombia (Impacto, manejos y costos del control, resultados de investigación). Centro Nacional de Investigación del Café (Cenicafé). Chinchiná, Caldas, Colombia. 53p.

Rolz Asturias, C.E., L.R. De Leon Fajardo y Paniagua, O. 2013. Evidencia de un antagonismo in vitro de especies de *Trichoderma* contra *Hemileia vastatrix* (Roya del Café). *Universidad del Valle de Guatemala* 25; 61-65.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. 2013. Ficha técnica Roya del Cafeto.

U.S. Environmental Protection Agency. 1995. EPA fact sheet for *Bacillus thuringiensis* subspecies *tenebrionis* Cry3A Delta endotoxin and its controlling sequences in potato (Monsanto).