

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL

TRABAJO DE DIPLOMA

**Efecto de formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis*
sobre el desarrollo de la roya del cafeto causada por
Hemileia vastatrix Berk. & Br.**

Autor:

Martha Patricia Lara Sandino

Asesor:

Falguni Guharay, Ph.D

Managua, Nicaragua

Enero, 1997

DEDICATORIA

A mis padres: Rosa Argentina Sandino y Guillermo Lara, quienes con su esfuerzo y sacrificio me guiaron por el camino del estudio, contribuyendo a mi formación profesional.

A mis hermanos: Jamileth, Guillermo y Aldo.

A G R A D E C I M I E N T O

Mi agradecimiento a todas las personas que brindaron su apoyo de manera directa e indirecta, que aportaron su ayuda en la realización y finalización de este trabajo.

A los profesores de la Universidad Agraria quienes con su abnegada labor de enseñanza han contribuido a mi formación profesional.

Dr Falguni Guharay por su valiosa asesoría y orientación que hicieron posible el desarrollo y finalización de este trabajo. Por su contribución en mi formación profesional.

Centro Experimental del Café, el norte-UNICAFE y Al Movimiento Laico para América Latina (MLAL), por facilitarme los medios necesarios para la realizar este estudio. En particular al Ing. M. Sc Rafael Ubeda por su apoyo.

Al Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORAD) por su apoyo.

INDICE GENERAL

SECCION	PAGINA
INDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE CUADROS	v
RESUMEN	vi
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	4
III. MATERIALES Y METODOS	5
3.1 Inoculo	5
3.2 Sustrato y proceso de inoculación	6
3.3 Tratamiento y diseño experimental	6
3.4 Evaluación	7
3.5 Análisis estadístico	9
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	11
4.1 Desarrollo de enfermedad	11
4.1.1 Número de pústulas y área foliar afectada	11
4.1.2 Período de incubación y período de latencia	20
4.2 Índice de Esporulación e Índice de la enfermedad	23
4.3 Cuantificación del desarrollo de la enfermedad	25
4.4 Porcentaje de protección	29
4.5 Posibles mecanismos de protección	31
V. CONCLUSIONES	33
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. BIBLIOGRAFIA	35

INDICE DE FIGURAS

FIGURA No.		PAGINA
1.	Temperatura y humedad relativa registradas durante el período de noviembre 1990 a enero de 1991 en el invernadero del Centro Experimental del Café el Norte (Matagalpa, Nicaragua).	15
2.	Número de pústulas de roya causado por <i>Hemileia vastatrix</i> en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (<i>Bacillus thuringiensis</i>).	16
3.	Número de pústulas de roya causado por <i>Hemileia vastatrix</i> en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (<i>Bacillus thuringiensis</i>).	17
4.	Area foliar afectada por roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (<i>Bacillus thuringiensis</i>).	18
5.	Area foliar afectada por roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (<i>Bacillus thuringiensis</i>).	19
6.	Relación entre Logit de la severidad de la infección de <i>Hemileia vastatrix</i> en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (<i>Bacillus thuringiensis</i>) y el tiempo transcurrido después de la inoculación.	26
7.	Relación entre Logit de la severidad de la infección de <i>Hemileia vastatrix</i> en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (<i>Bacillus thuringiensis</i>) y el tiempo transcurrido después de la inoculación.	27

INDICE DE CUADROS

CUADRO No.		PAGINAS
1.	Número de pústulas por par de hoja (NPPH) y área foliar afectada (AFA) por <i>Hemileia vastatrix</i> en plantas de café asperjadas con dos diferentes dosis de Dipel y Javelin (<i>Bacillus thuringiensis</i>).	13
2.	Número de pústulas por par de hoja (NPPH) y área foliar afectada (AFA) por <i>Hemileia vastatrix</i> en tres diferentes pares de hojas de café asperjadas con dos formulaciones comerciales de <i>Bacillus thuringiensis</i> .	14
3.	Período de incubación y Período de latencia de <i>Hemileia vastatrix</i> en plantas de café asperjadas con dos comerciales de <i>Bacillus thuringiensis</i> .	21
4.	Relación entre el Período de incubación (PI) y Período de latencia (PL) de <i>H. vastatrix</i> con diferentes dosis de Dipel y Javelin.	23
5.	Índice de esporulación (%) Índice de la enfermedad (%) de <i>H. vastatrix</i> en plantas de café asperjadas con dos formulaciones comerciales (Dipel y Javelin) y con diferentes dosis.	24
6.	Relaciones cuantitativas entre la severidad de la roya y el tiempo después de la inoculación en diferentes tratamientos.	28
7.	Porcentaje de protección contra la roya en plantas de café asperjadas con diferentes formulaciones comerciales de <i>B. thuringiensis</i> . Noviembre 1990- Enero 1991. Invernadero de C.E.C.N.	30

RESUMEN

Con el fin de buscar alternativas no químicas para el manejo ecológico de la enfermedad roya de café causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, Berk. & Br. se evaluó el efecto de *Bacillus thuringiensis* como inhibidor del desarrollo del hongo *H. vastatrix*. El estudio se realizó en el invernadero del Centro Experimental del Café el Norte- UNICAFE, Matagalpa.

Las plantas de café fueron asperjadas con dos productos comerciales a base de *B. thuringiensis* (Dipel y Javelin) en 3 dosis: 5,10, y 20 g/ lt de agua. Las aplicaciones de *B. thuringiensis* se realizaron 72 horas antes de la inoculación de la suspensión de uredosporas de *H. vastatrix*.

Los registros de la incidencia y severidad de la roya se llevaron en tres pares de hojas en cada planta previamente marcadas. La lectura de datos se realizó cada dos días hasta los 15 días después de la inoculación (DDI) del patógeno, posteriormente las lecturas fueron distanciadas cada cinco días hasta los 60 DDI. Se evaluaron las siguientes variables: número de pústulas, severidad, período de incubación, período de latencia, porcentaje de protección e índice de esporulación.

Las aplicaciones del *B. thuringiensis* disminuyeron significativamente el número de pústulas de roya y el área foliar afectada en comparación con el testigo. El período de incubación y latencia fue mayor con las aplicaciones *B. thuringiensis*, el efecto dependió de los productos y las dosis aplicadas. Mayor dosis provocó el mayor grado de protección.

En las plantas no tratadas un mayor número de lesiones lograron producir esporas, especialmente en las hojas más jóvenes, mientras que las aplicaciones de *B. thuringiensis* disminuyeron la cantidad de lesiones que logran esporularse.

Las aplicaciones de *B. thuringiensis* disminuyeron el índice de infección por la reducción del inóculo inicial, provocando un retraso significativo en la enfermedad de la roya de café. Sin embargo, una vez iniciado la enfermedad no afectó el desarrollo de ésta.

I- INTRODUCCION

El cultivo del café *Coffea arabica* L. juega un papel importante en la economía de Nicaragua, este cultivo es el principal producto de exportación, representando en el ciclo agrícola 94-95, el 54 % del valor total de las exportaciones anuales (Lacayo, 1996). El café ocupa un área de 98,000 ha las cuales producen 33,709 toneladas métricas de café oro lo que significa un aporte significativo a la economía nacional (UNICAFE, 1994).

La roya del café causado por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk & Br. es una de las enfermedades del café, más importante a nivel mundial (Mayea et al., 1985). En Nicaragua, la roya fue detectada por primera vez en 1976, en la zona de Carazo (INTA, 1977). Actualmente la enfermedad se encuentra distribuida en todas las zonas cafetaleras del país.

La enfermedad provoca defoliación prematura a la planta de café debilitándola progresivamente, lo cual afecta la producción de frutos y disminuye la longevidad del cafeto (Schieber, 1975). En fincas del norte de Nicaragua se ha estimado que la roya puede ocasionar pérdidas de hasta 50 % de la producción en plantaciones que no se realizan acciones de control de la enfermedad (Rodriguez et al., 1994).

Para el manejo de la roya se han venido utilizando diversas estrategias y medidas de control, tales como: uso de

variedades resistentes, prácticas culturales y control químico.

Según Waller (1985), los fungicidas a base de cobre, constituyen el tratamiento más efectivo para el control de la roya y aunque otros fungicidas sistémicos como el pyracarbolid, oxicarboxin y triadimefon han sido usados, se ha visto que son menos efectivos que los cúpricos en término de costo-beneficio. Sin embargo, el uso frecuente de fungicidas cúpricos puede producir una acumulación de cobre en el suelo, en las raíces finas y en las hojas (ADUAYI, 1975), lo que en ciertas condiciones puede causar graves síntomas de fitotoxicidad, especialmente en las áreas climáticamente marginales para café y en suelos ácidos (Becker et al., 1991).

Así como efectos secundarios se puede inducir un aumento en la incidencia del minador de las hojas *Leucoptera coffeella* (PROMECAFE, 1985; Ubeda, 1994). También es conocido que uso excesivo de fungicidas cúpricos puede aumentar la concentración de plomo en las plantas y en el fruto afectando así la salud de los consumidores (PROMECAFE, 1985).

El manejo de *H. vastatrix* se basa en al control químico pero su uso esta limitado (Becker et al., 1991). Esto ha llevado a buscar alternativas de control de la enfermedad, que orientadas a disminuir los costos de manejo y sea menos perjudicial al medio ambiente. Entre estas alternativas tenemos el control biológico y la inducción de protección o resistencia inducida.

Se conoce que plantas previamente estimuladas por razas de hongos o células bacterianas no patogénicas o avirulentas pueden ser protegidas contra la posterior inoculación con un patógeno (Yarwood, 1956; Chamberlain & Paxton, 1968; Rahe et al., 1969). La protección inducida siempre está asociada con cambios bioquímicos en el metabolismo de las plantas tratadas (Kuc, 1983). La resistencia inducida puede ser local o sistémica. La resistencia inducida sistémica es mas importantes porque hace que toda la planta reaccione como una planta resistente y no solamente el tejido sometido al pretratamiento con el inductor (Moraes, 1991).

Para inducir resistencia en plantas de café contra la infección de la roya se han probado varios inductores, entre ellos se puede mencionar uredosporas de una raza compatible de *H. vastatrix* sometidas a un tratamiento térmico (Martins et al., 1973 ; Moraes et al., 1976 y Beretta et al., 1977), bacterias como *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* (Roveratti et al., 1985; Roveratti et al., 1989).

Utilizando una suspensión de *B. thuringiensis* o formulaciones comerciales de esta bacteria Thuricide HD, Bactimos y Bactospeine PM. Roveratti et al., (1989), verificaron que Thuricide HD fue efectivo como inductor de protección en plantas de café contra la roya, en concentraciones de 5 a 20 mg/ml alcanzando una protección de 90% durante cinco semanas posterior al tratamiento y la protección fue sistémica.

En ese sentido el uso de *B. thuringiensis* como inductor de resistencia contra la roya de café, parece una alternativa promisorio para el control de la enfermedad. La protección inducida con bacterias no patogénicas abre nuevas perspectivas para el manejo de las enfermedades de plantas, que podrían reducir el uso de plaguicidas químicos.

En Nicaragua se ha iniciado diversos estudios del hongo *H. vastatrix* con el fin de implementar un programa de manejo ecológico de la enfermedad. Debido a la importancia de ésta enfermedad y con el fin de ampliar conocimientos del manejo, se realizó el presente estudio con los siguientes objetivos.

II-OBJETIVOS:

- 1.- Determinar el efecto de *Bacillus thuringiensis*, como inhibidor del desarrollo del hongo *Hemileia vastatrix* en condiciones de invernadero.
- 2.- Evaluar la efectividad de los productos comerciales de *Bacillus thuringiensis*, para la protección contra *Hemileia vastatrix* en condiciones de invernadero.

III- MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en noviembre de 1990, en el invernadero del Centro Nacional del Café, adscrito al Ministerio de Agricultura (actualmente Centro Experimental de Café el Norte CECN - UNICAFE), localizado en el Km. 136 Carretera de Matagalpa a San Ramón (12° 55' 24" latitud Norte y 85° 50' 30" longitud Oeste), a una altura de 720 metros sobre el nivel del mar.

3.1 Inoculo.

El hongo *H. vastatrix*, se colectó de una plantación comercial de la variedad Caturra de la Finca La Suana, situada a 1,100 m.s.n.m. Seguidamente se inocularon varias plantas de café en vivero (12-14 hojas) de la variedad Caturra, para obtener inoculo libre del hiperparásito *Verticillium* sp. Para la inoculación se procedió de la siguiente manera: con un bisturí se retiraron las uredosporas de las hojas provenientes del campo y se colocaron en el envés de las hojas de las plantas de café, luego se extendieron las uredosporas con un pincel por toda la superficie foliar. Seguidamente, con un atomizador se asperjó agua estéril a las plantas inoculadas y éstas fueron cubiertas con bolsas de polietileno por 48 horas. Después del crecimiento del hongo sobre las hojas se realizó la cosecha de las uredosporas con un bisturí, para obtener una suspensión de las uredosporas en agua estéril.

3.2 Sustrato y proceso de inoculación.

Para el establecimiento del ensayo en el invernadero, se utilizaron plantas de café de la variedad Caturra, en estado de vivero (promedio de 12-14 hojas por planta).

La inoculación de las plantas experimentales consistió de la aspersión de una suspensión de uredosporas de *H. vastatrix* en concentración de 7×10^4 esporas/ml en agua estéril. La inoculación fue dirigida al envés de las hojas desarrolladas del primero, segundo y tercer par, los cuales fueron previamente marcados en orden descendente en la planta. Posterior a la aspersión de la suspensión de la uredosporas, las plantas fueron cubiertas con bolsas negras de polietileno en forma individual para garantizar la humedad y obscuridad necesaria para la infección. Después de las 48 horas se removieron las bolsas, exponiendo a las plantas en condiciones ambientales del invernadero.

Durante todo el período del estudio se aplicó riego por aspersión cada 24-48 horas.

3.3 Tratamiento y diseño experimental.

Setenta y dos horas previa a la inoculación de las plantas de café con la suspensión de uredosporas de *H. vastatrix*, las plantas de café fueron tratadas con diferentes dosis de productos comerciales de *B. thuringiensis* para inducir la resistencia contra la roya de café.

Los tratamientos evaluados fueron los productos comerciales Dipel PM (16,000 U.I) y Javelin (32,000 U.I), más un testigo sin aplicación. De cada producto fueron evaluadas tres dosis: 5, 10 y 20 g del producto comercial en un litro de agua. Para las aplicaciones se utilizó un atomizador de vilbis, asperjando los productos sobre las plantas.

Cada planta fue considerada como una unidad experimental, utilizando 10 repeticiones, arregladas en un diseño completamente aleatorio.

3.4 Evaluación.

Para determinar el efecto de *B. thuringiensis* sobre *H. vastatrix* se observaron las hojas que fueron inoculadas. Los registros se llevaron inicialmente cada dos días hasta los 15 días después de la inoculación del patógeno (DDI), seguidamente fueron distanciados cada cinco días hasta los 60 DDI. Se evaluaron las siguientes variables: número de pústulas, severidad, período de incubación, período de latencia, porcentaje de protección e índice de esporulación.

La severidad fue evaluada por medio del área foliar afectada (cm²) medida mediante lámina cuadrículada (1 x 1 cm) y por la intensidad de la enfermedad de acuerdo a la escala propuesta por Leguizamón et al., (1983), que consiste en:

- 0: Ausencia de lesión visible.
- 1: Aparición de pequeñas manchas descoloridas.
- 2: Aumento de la superficie de pequeñas manchas y decoloración más pronunciadas.
- 3: Conjunto de pequeñas manchas con tendencia a la coalescencia e intensificación de la decoloración.
- 4: Aparición de las primeras esporas.
- 5: Esporulación inferior al 25% de superficie de la mancha.
- 6: Esporulación entre el 25% y el 50% de superficie de la mancha.
- 7: Esporulación superior al 50% de superficie de la mancha.

A partir de los datos obtenidos con la escala de intensidad de la enfermedad se determinó el índice de esporulación y el índice de intensidad de la enfermedad por medio de las siguientes fórmulas, según Leguizamón et al., (1983),

$$\text{Índice de esporulación} = \frac{\sum_{i=0}^7 i \cdot n_i}{4 \cdot n}$$

$$\text{Índice de intensidad de la enfermedad} = \frac{\sum_{i=0}^7 i \cdot n_i}{7 \cdot n}$$

Donde:

n = Número total de pústulas.

n_i = Número de pústulas en las anotaciones de i .

i = El valor correspondiente a las anotaciones del 0 al 7.

El porcentaje de protección fue determinado de acuerdo a la siguiente fórmula (Rivera, 1992):

$$\%P = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Donde:

$\%P$ = Porcentaje de protección.

A = No. de pústulas del testigo.

B = No. de pústulas de los diferentes tratamientos.

3.5 Análisis estadístico.

Se realizó análisis de varianza para detectar diferencias entre los tratamientos en las variables: número de pústulas, área foliar afectada, período de incubación, período de latencia, índice de esporulación e índice de intensidad de la enfermedad. Se realizó separación de medias con la prueba de SNK al 5 % de probabilidad del error.

Para determinar el efecto de las dosis de Dipel y Javelin sobre el período de incubación y período de latencia, se realizó el análisis de regresión.

Para determinar valores de los parámetros del desarrollo de la enfermedad se transformaron los valores del area foliar afectada a valores logit y posteriormente se realizó análisis de regresión lineal con los valores transformados.

Para comparar los valores del parámetro (intercepto) de diferentes curvas, se utilizaron los intervalos de confianza y se realizó comparación de curvas bajo el mismo modelo, para los valores del parámetro (pendiente) de acuerdo a Torres & Siman (1990).

IV- RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 El desarrollo de la enfermedad.

Las uredosporas de *H. vastatrix* germinan en condiciones favorables de mucha humedad y temperatura de 21 °C a 25 °C y bajo luz difusa (INTA, 1977). Durante el estudio (noviembre 1990 - enero 1991) los rangos de temperaturas fueron de 18 °C a 26°C y la humedad relativa promedio fue del 85%, lo cual permitió el desarrolló de la enfermedad (Fig. 1).

Los resultados coincidieron con Vasquez (1992), quien encontró que condiciones ambientales durante el desarrollo de la roya fueron temperaturas que oscilan 19°C a 26°C y humedad relativas de 80 a 83 %.

4.1.1 Número de pústulas y área foliar afectada.

En las figuras 2 y 3 se presentan los números de pústulas de la roya contabilizada en los diferentes tratamientos durante el período de 60 días después de la inoculación y en las figuras 4 y 5 se presentan las áreas foliares afectadas en los mismos momentos.

En plantas no tratadas la presencia de las primeras pústulas se observó a los 20 días después de la inoculación (DDI). A los 40 y 50 DDI se observó un ligero descenso del número de pústulas de roya y después la curva sigue aumentándose (Fig. 2 y 3). Esto se puede explicar por la coalescencia en este momento de algunas pústulas adyacentes.

Por tal razón aún con la reducción de los números de pústulas, el área foliar afectada sigue aumentando (Fig. 4 y 5).

En las plantas tratadas con Dipel en la dosis de 20 g/l no se observó el desarrollo de la enfermedad durante los 60 días después de la inoculación. Se observó similar efecto con Javelin en la dosis de 20 g/l con la excepción que en la primer par de hojas de las plantas tratadas con esta dosis, a los 55 días aparecieron una cantidad mínima de pústulas (menos de 0.5) por par de hojas (Fig. 2 y 3).

En las plantas tratadas con la dosis de 10 g/l de Dipel la enfermedad se presentó a los 40 DDI en el primer par de hojas, 50 DDI en el segundo par y a los 35 DDI en el tercer par (Fig. 2), mientras que con 10 g/l de Javelin la enfermedad se presentó a los 40, 35 y 30 DDI en los primer, segundo y tercer par de hojas respectivamente (Fig.3). Además de la aparición tardía de las primeras pústulas, estas plantas presentaron un número reducido de pústulas y la menor área foliar afectada en comparación con el testigo (Fig. 2,3, 4 y 5).

En las plantas tratadas con 5 g/l de Dipel y Javelin se presentaron pústulas de roya a los 35 DDI en los diferentes pares de hojas. Sin embargo, con esta dosis las pústulas de roya aparecen de 5 a 15 días antes que con las dosis mayores (10 y 20 g/l, Fig. 2 y 3).

Al comparar el número de pústulas y área foliar afectada a los 60 días después de la inoculación, se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de pústulas por par de hoja (NPPH) y área foliar afectada (AFA) por *Hemileia vastatrix* en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel y Javelin (*Bacillus thuringiensis*).

Tratamientos	NPPH	AFA (cm ²)
Dipel 20 g/l	0.10 a	0.30 a
Javelin 20 g/l	0.23 a	0.26 a
Dipel 10 g/l	1.43 ab	1.73 ab
Javelin 10 g/l	1.93 bc	2.70 bc
Dipel 5 g/l	3.80 c	5.06 c
Javelin 5 g/l	3.30 c	4.66 c
Testigo	11.43 d	27.40 d
ANDEVA	S	S
CV (%)	51.17	57.09

Según la prueba de SNK ($p= 0.05$) medias seguidas con letras con letras iguales no son estadísticamente significativas. S: son estadísticamente significativas.

También se observa que todos los tratamientos con aplicaciones previas de *B. thuringiensis* resultaron con número de pústulas y área foliar afectada significativamente menor que el testigo sin aplicación. Sin embargo, las plantas tratadas con mayor dosis de *B. thuringiensis* (20 g/l de Javelin o 10-20 g/l de Dipel) mostraron aún menor número de pústulas y área foliar afectada en comparación con la dosis menor 5 g/l (Cuadro 1).

Los resultados de este estudio, coinciden con Roveratti et al., (1989), quienes encontraron que las aplicaciones de 5 a 20 mg/ml del producto comercial Thuricide a base de *B. thuringiensis* disminuyen significativamente el número de pústulas de roya y el área de las lesiones en las plantas de café inoculadas con *H. vastatrix*. Según ellos las aplicaciones previas de *B. thuringiensis* garantiza una protección de 90% hasta un período de 5 semanas.

El número de pústulas y el área foliar afectada por par de hojas presentaron diferencias significativas cuando se relacionaron por diferentes pares de hojas (Cuadro 2). Los menores valores de estas variables se registraron en el tercer par (hoja de mayor edad o madurez). Esto se puede atribuir al hecho de que el desarrollo de pústula y la formación de uredosporas es más rápido en hojas jóvenes que en hojas maduras o viejas. (INTA, 1977).

Cuadro 2. Número de pústulas por par de hojas (NPPH) y área foliar afectada (AFA) por *Hemileia vastatrix* en tres diferentes pares de hojas de café asperjadas con dos formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis*.

Par de hojas	NPPH	AFA (cm ²)
Primer	3.30 a	5.92 ab
Segundo	3.78 a	7.65 b
Tercer	2.44 b	4.47 a
ANDEVA	S	S
CV (%)	51.17	57.09

Según la prueba de SNK (P= 0.05) medias seguidas con letras iguales no son estadísticamente significativas.

S: son estadísticamente significativas.

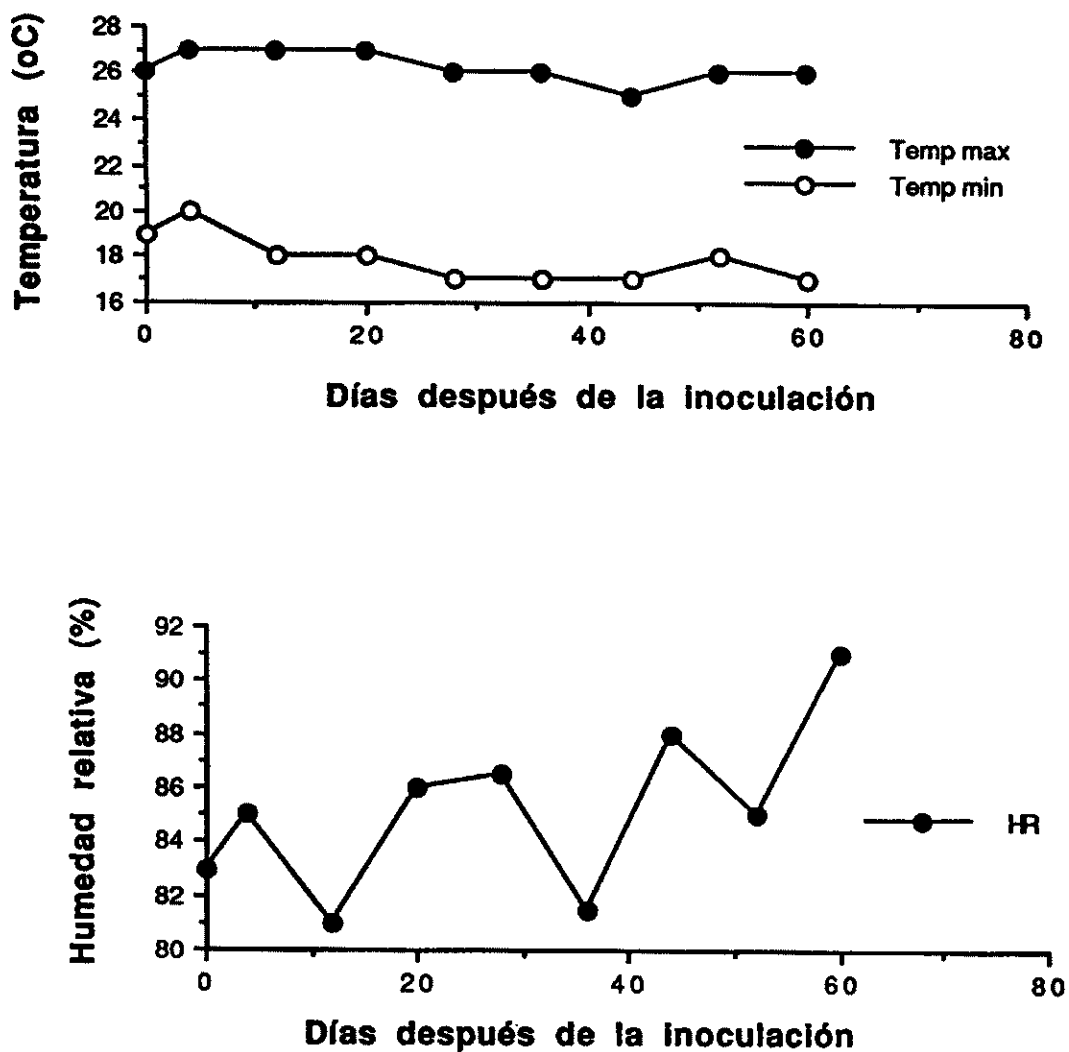


Figura 1. Temperatura y humedad relativa registradas durante el período noviembre 1990 a enero de 1991 en el invernadero del Centro Experimental de Café el Norte (Matagalpa, Nicaragua).

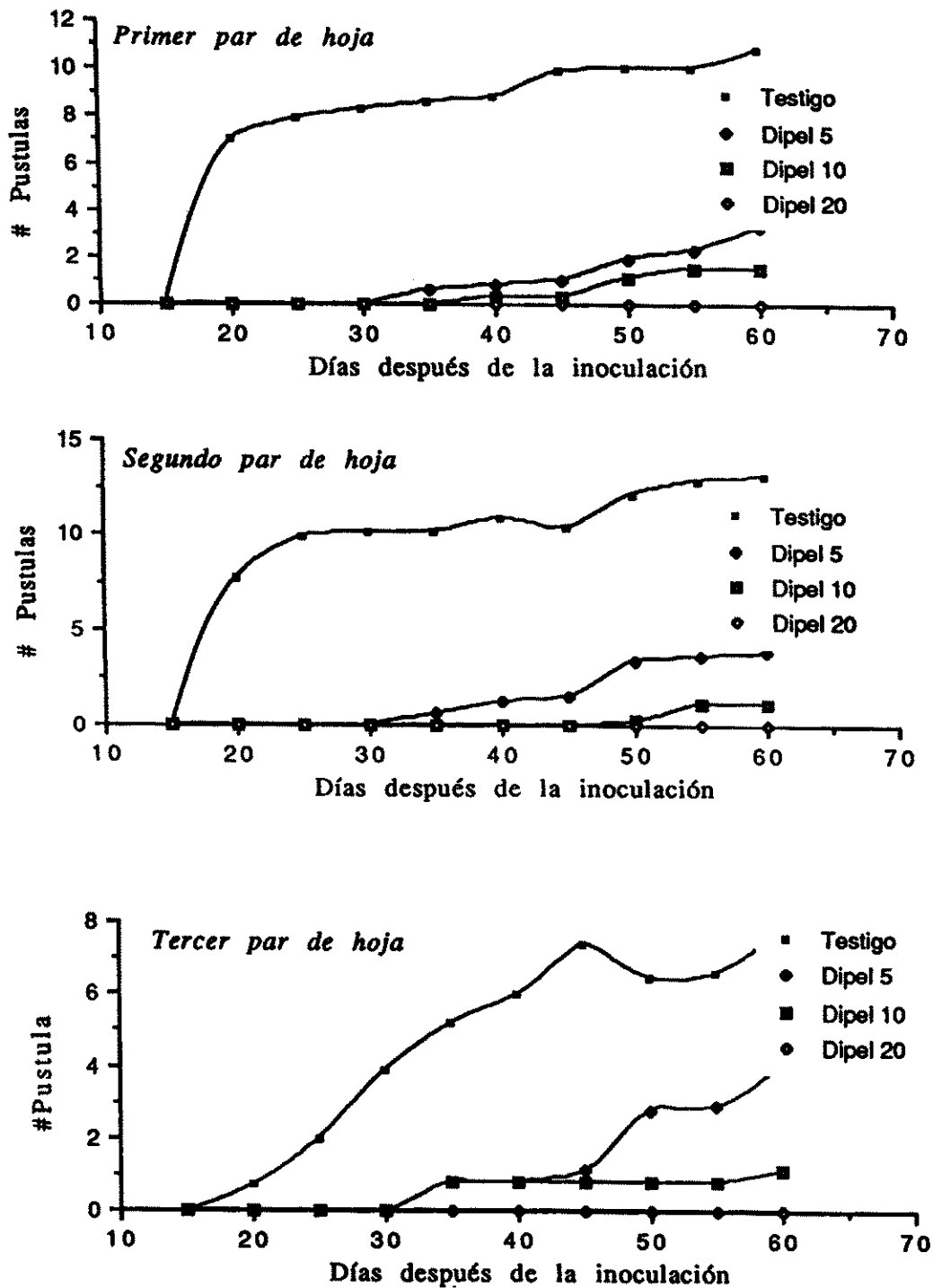


Figura 2. Número de pústulas de roya causados por *Hemileia vastatrix* en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (*Bacillus thuringiensis*).

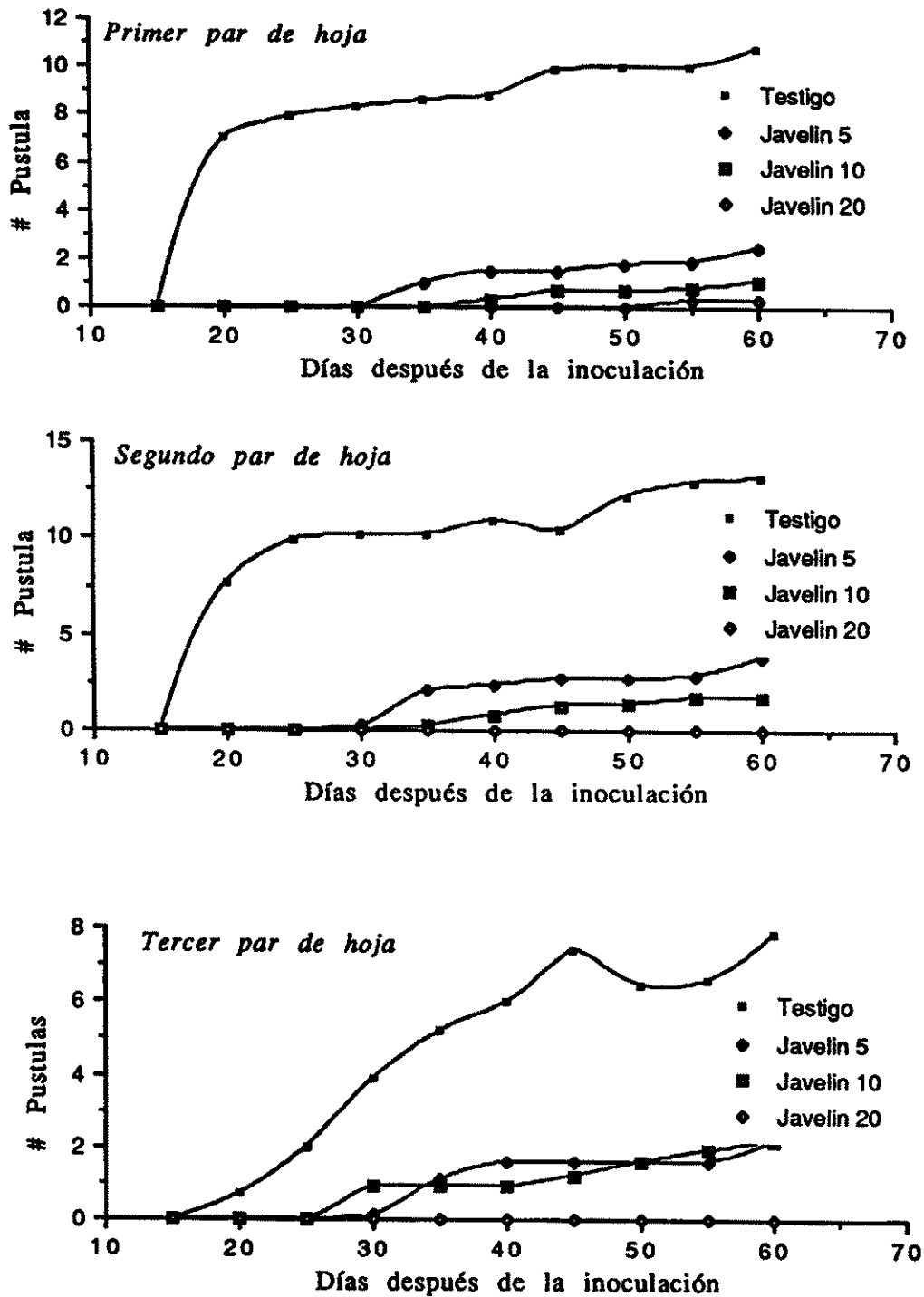


Figura 3. Número de pústulas de roya causado por *Hemileia vastatrix* en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (*Bacillus thuringiensis*).

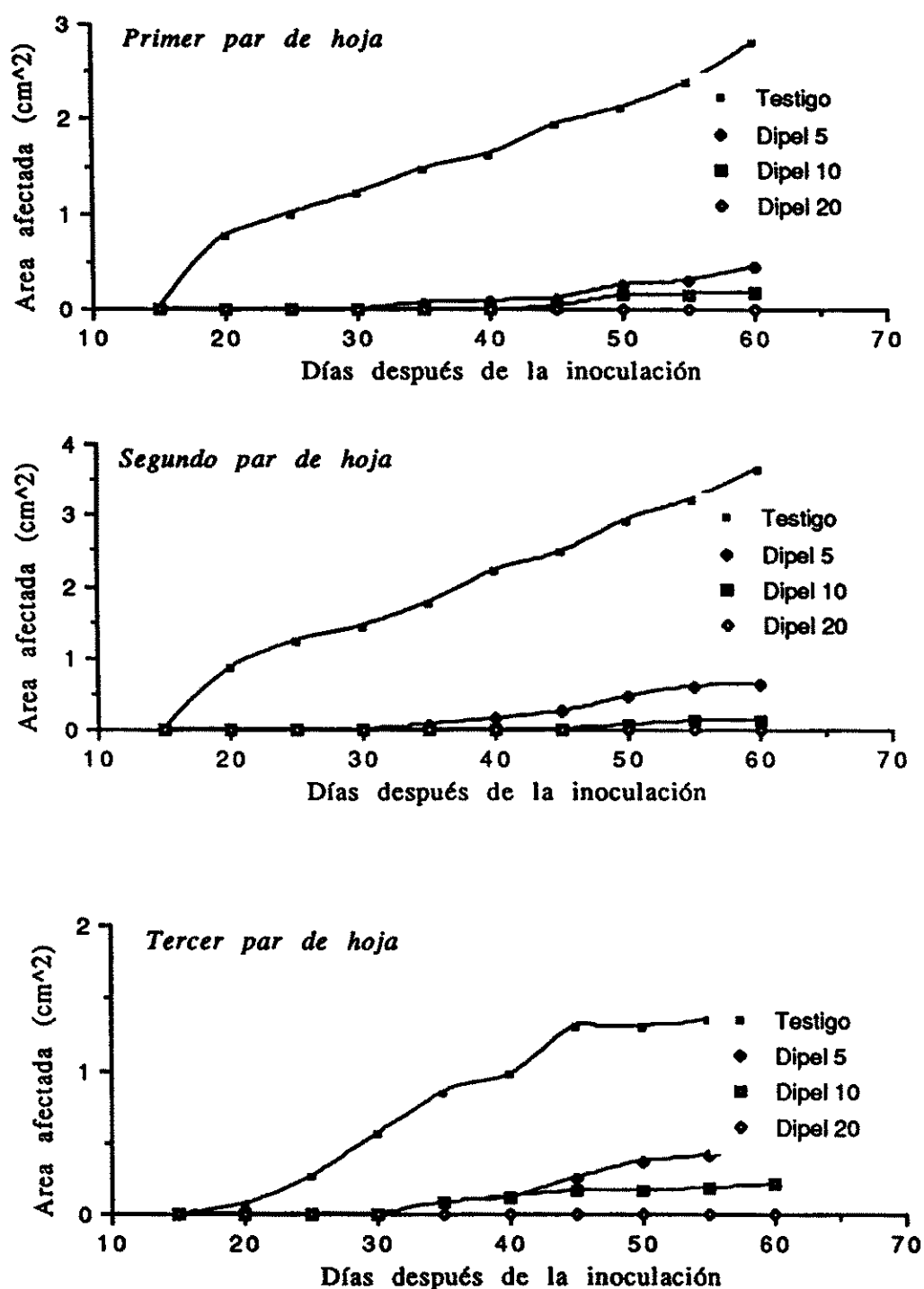


Figura 4. Área foliar afectada por roya (*Hemileia vastatrix*) en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (*Bacillus thuringiensis*).

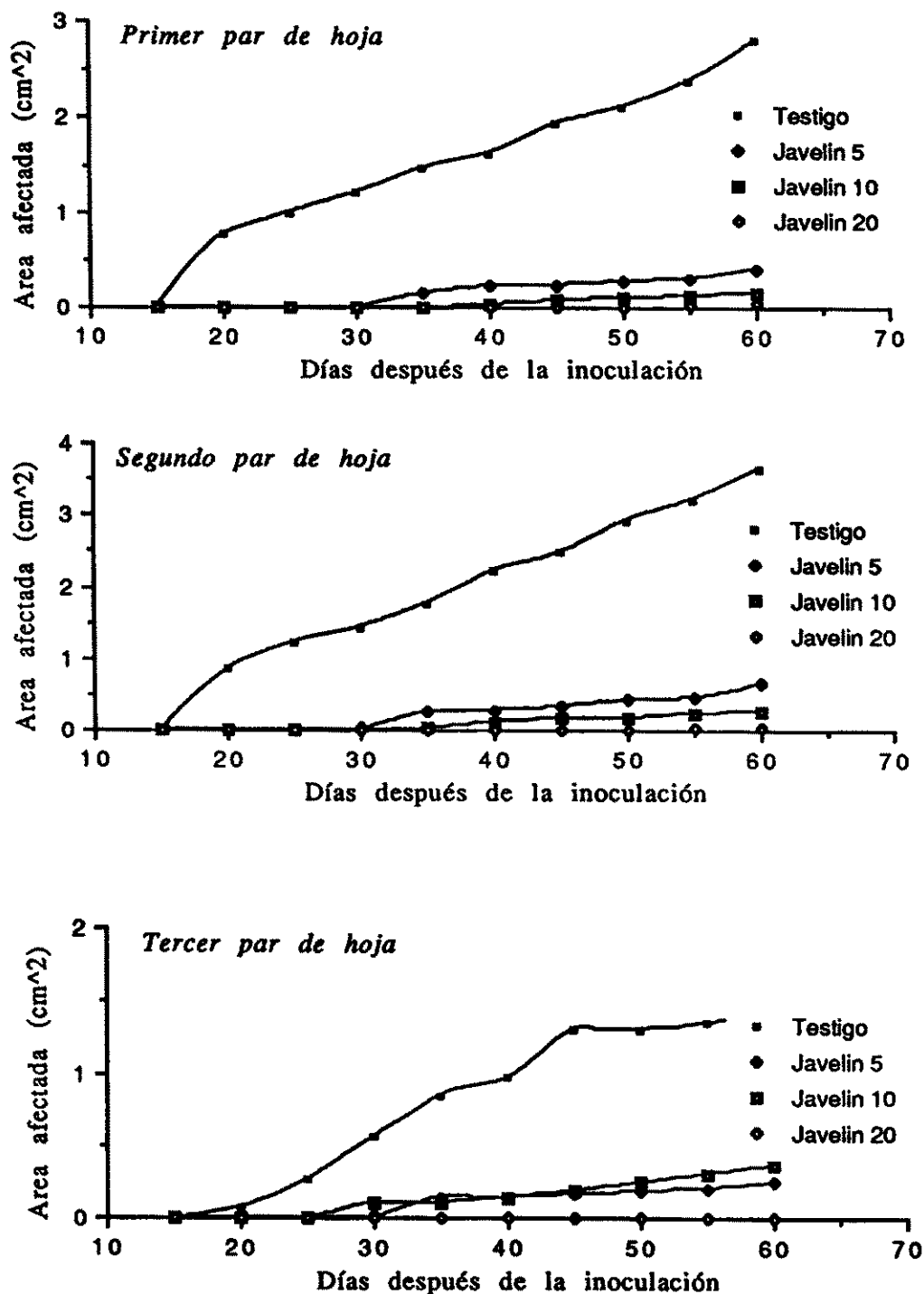


Figura 5. Área foliar afectada por roya (*Hemileia vastatrix*) en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (*Bacillus thuringiensis*).

4.1.2 Período de incubación y Período de latencia.

El intervalo de tiempo entre el momento de inoculación y el momento de aparición de la primera mancha de la roya es definido como el período de incubación, mientras que el intervalo de tiempo entre el momento de inoculación y la aparición de primera espora es denominado como el período de latencia (Rayner, 1972). Nutman & Roberts (1963), afirman que hay varios factores que actúa directamente sobre el proceso de germinación e infección del hongo y una vez establecido el hongo sobre el período de incubación y latencia. Entre ellos se puede mencionar la temperatura, la humedad y tolerancia de las plantas.

En este estudio, se observó que el período de incubación varía desde los 20 hasta los 60 días y el período de latencia varía entre 26 a 53 días dependiendo de los tratamientos. El período de incubación y el período de latencia encontrado en plantas no tratadas fue de 20 y 26 días respectivamente. Se observa que tanto el período de incubación y latencia fue corto, demostrando que las condiciones climatológicas del ensayo fueron muy favorables para el desarrollo de la infección de la roya (Cuadro 3).

Los resultados de este estudio coinciden con Barbosa & Wigers (1989), quienes encontraron en condiciones de invernadero los períodos de incubación de 18 a 24 días (primer y tercer par de hojas terminal) y períodos de latencia de 23 y 30 días respectivamente.

Kuschalappa & Martin (1980), encontraron que el período de incubación puede variar de 29 a 62 días y el período de latencia pueden variar de 38 a 70 días, dependiendo de las condiciones climatológicas. En este estudio tanto el período de incubación como el período de latencia fue corto, demostrando que las condiciones climatológicas del ensayo fueron favorables para el desarrollo de la infección de la roya (Fig, 1).

Cuadro 3. Período de incubación y Período de latencia de *Hemileia vastatrix* en plantas de café asperjadas con dos productos comerciales de *Bacillus thuringiensis*.

Tratamientos		Períodos de incubación (días)	Períodos de latencia (días)
Dipel	5 g/l	41	50
Dipel	10 g/l	49	-
Dipel	20 g/l	60	-
Javelin	5 g/l	37	46
Javelin	10 g/l	45	53
Javelin	20 g/l	54	-
Testigo		20	26
ANDEVA		S	S
CV (%)		11.96	8.73

Según el ANDEVA ($p < 0.05$) la letra S son estadísticamente significativas

El período de incubación de la roya se aumentó en las plantas tratadas con formulaciones de *B. thuringiensis*. A medidas que se utilizó mayores dosis de Dipel y Javelin, mayor fue el aumento del período de incubación, existiendo diferencias significativas en el período de incubación entre los tratamientos (Cuadro 3).

La duración del período de incubación fue afectado por las aspersiones de *B. thuringiensis* encontrándose que se presentaron con diferencias de días después del testigo, para las dosis 20g/l, 10g/l y 5g/l en Dipel (40, 29 y 21 días después del testigo) y para Javelin (34, 25 y 17 días después del testigo) respectivamente.

Se observó un aumento del período de latencia como resultado de los tratamientos con *B. thuringiensis*. En las plantas tratadas con 20 g/l de Javelin y 10-20 g/l de Dipel, las pústulas no lograron formar uredosporas. Mientras que en los tratamientos Javelin a 5 y 10 g/l y Dipel 5 g/l el período de latencia varió entre los 46 días hasta los 53 días, en comparación con plantas no tratadas donde la mayoría de las pústulas lograron formar uredosporas a los 26 días después de la inoculación. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos para la variable período de latencia (Cuadro 3).

Para determinar el efecto de las dosis de los productos Dipel y Javelin asperjados sobre el desarrollo de la roya, se realizó un análisis de regresión simple, encontrando que con el aumento de las dosis el período de incubación y el período

de latencia se prolongaron significativamente (Cuadro 4). Roveratti et al., (1989), también observó un mayor grado de protección con aspersiones de dosis mayores de formulaciones comerciales de *B. thuringiensis*.

Cuadro 4. Relación entre el Período de incubación (PI) y Período de latencia (PL) de *H. vastatrix* con diferentes dosis de Dipel y Javelin.

Dipel	PI = 20.00 + 1.86 X	p = 0.050	r ² = 0.886
	PL = 26.00 + 1.60 X	p = 0.000	r ² = 0.946
Javelin	PI = 25.00 + 1.62 X	p = 0.050	r ² = 0.895
	PL = 28.16 + 1.30 X	p = 0.000	r ² = 0.963

X = concentración de productos asperjados (g/l)

La prolongación de los períodos de incubación y latencia combinados con la reducción del número de lesiones como se observó en las plantas asperjadas con formulaciones de *B. thuringiensis* (Cuadros 1 y 3), puede retrasar el desarrollo de la enfermedad debido principalmente a la presencia de un menor número de ciclos del patógeno y a la baja cantidad de inóculo secundario. Rivera (1992), estudiando el efecto de aspersiones de *B. thuringiensis* y quitina sobre el desarrollo de la roya del café llegó a la misma conclusión.

4.2 Índice de esporulación e Índice de la enfermedad.

El análisis de varianza de los valores de los índices de esporulación y de la enfermedad calculado a los 60 días después de la inoculación mostró diferencias significativas entre los tratamientos. (Cuadro 5). El mayor índice de esporulación se presentó en plantas no tratadas donde un 82 %

de las lesiones logran producir uredosporas, mientras que en las plantas tratadas con *B. thuringiensis* solamente de 0.5 % a 44 % de las pústulas logran producir uredosporas, dependiendo de las dosis utilizadas. Por lo tanto el desarrollo de enfermedad quedó sumamente afectado en las plantas tratadas con aspersiones de *B. thuringiensis*.

Cuadro 5. Índice de esporulación (%) índice de la enfermedad (%) de *H. vastatrix* en plantas de café asperjadas con dos formulaciones comerciales (Dipel y Javelin) y diferentes dosis.

Tratamientos		Índice de esporulación (%)	Índice de la enfermedad (%)
Dipel	20 g/l	0.47 a	0.40 a
Javelin	20 g/l	4.64 a	5.00 a
Dipel	10 g/l	22.35 b	21.00 b
Javelin	10 g/l	38.32 c	37.00 c
Dipel	5 g/l	46.47 c	42.00 c
Javelin	5 g/l	44.11 c	45.00 c
Testigo		82.00 d	80.00 d
ANDEVA		S	S
CV (%)		24.17	18.40

Según la prueba de SNK ($p= 0.05$) medias seguidas con letras iguales no son estadísticamente significativas.

S: son estadísticamente significativas.

Estas diferencias en los valores de índice de esporulación y de la enfermedad muestra que las plantas tratadas con *B. thuringiensis* lograron menor infección de la roya. Es probable que posterior a las aspersiones de *B. thuringiensis* ocurren reacciones fisiológicas en las plantas que afectan al hongo reduciendo el grado de esporulación de las lesiones y por ende el desarrollo de la enfermedad. De

tal manera las aspersiones logran disminuir el potencial del inóculo secundario de la enfermedad reduciendo la posibilidad de reinfección.

4.3 Cuantificación del desarrollo de la enfermedad.

Para poder cuantificar el desarrollo de la enfermedad en los diferentes tratamientos, se utilizó el modelo de regresión lineal que relaciona el tiempo transcurrido después de la inoculación con la severidad de la enfermedad (área foliar afectada). Para lograr un ajuste lineal adecuado entre los parámetros mencionados se utilizó la transformación LOGIT para los valores de la severidad de la enfermedad.

Los datos observados y los ajustes lineales correspondientes se presentan en las figuras 6 y 7. A simple vista se logra observar que las pendientes de las líneas de ajustes que describe el desarrollo de la enfermedad son similares en todos los tratamientos y en todos los pares de hojas, mientras que el punto del inicio de la enfermedad difiere entre los tratamientos.

Para comprobar estas observaciones se realizó la prueba de T para detectar la diferencia entre los valores de los parámetros (pendientes e interceptos) de los ajustes lineales de los diferentes tratamientos. Se determinó que no había diferencia significativa ($p = 0.05$) entre los valores de las pendientes de los ajustes lineales obtenidos en los tratamientos y en el testigo. Por otro lado los valores del intercepto que indica el punto del tiempo del inicio de las

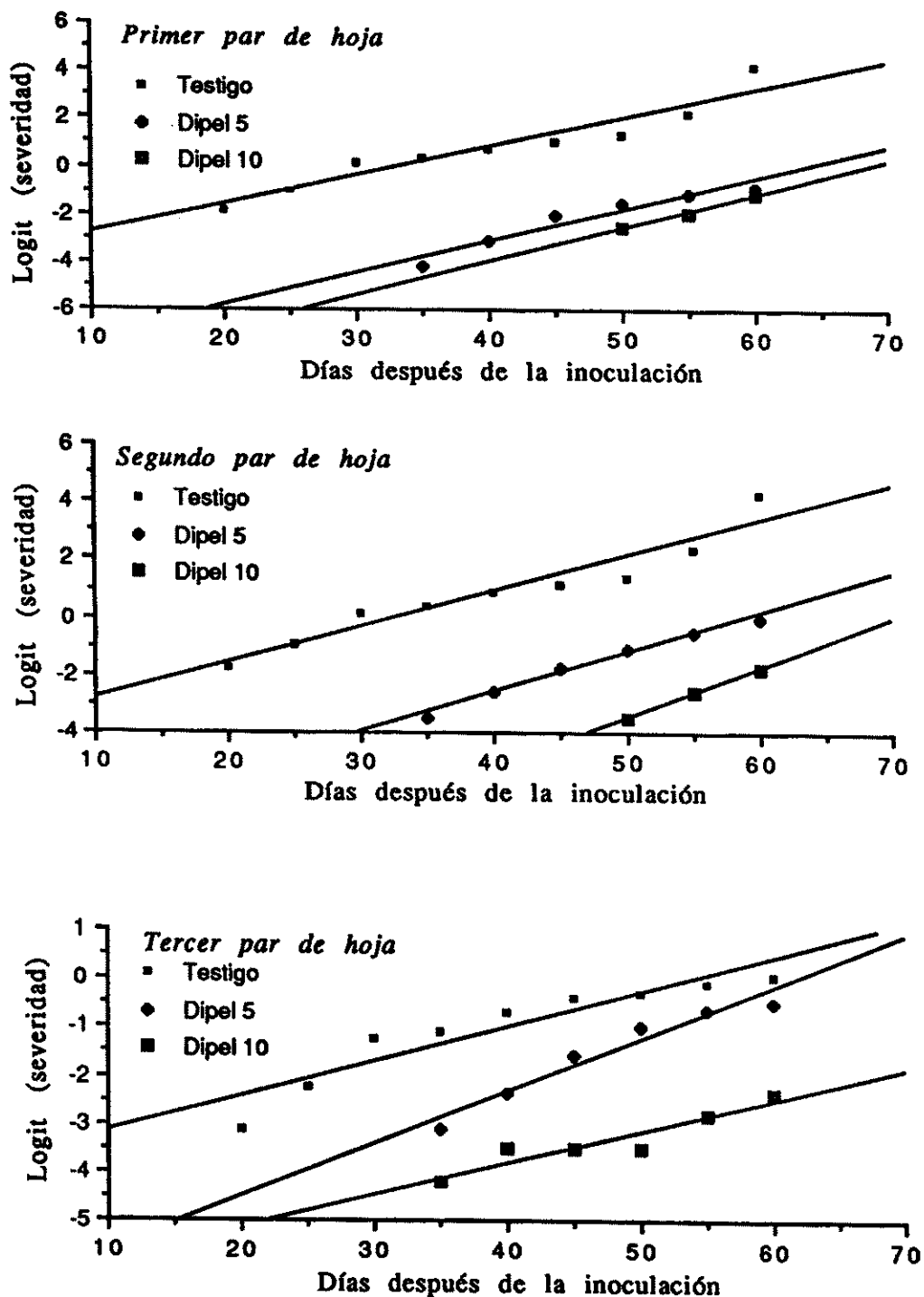


Figura 6. Relación entre LOGIT de la severidad de la infección de *Hemileia vastatrix* en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Dipel (*Bacillus thuringiensis*) y el tiempo transcurrido después de la inoculación.

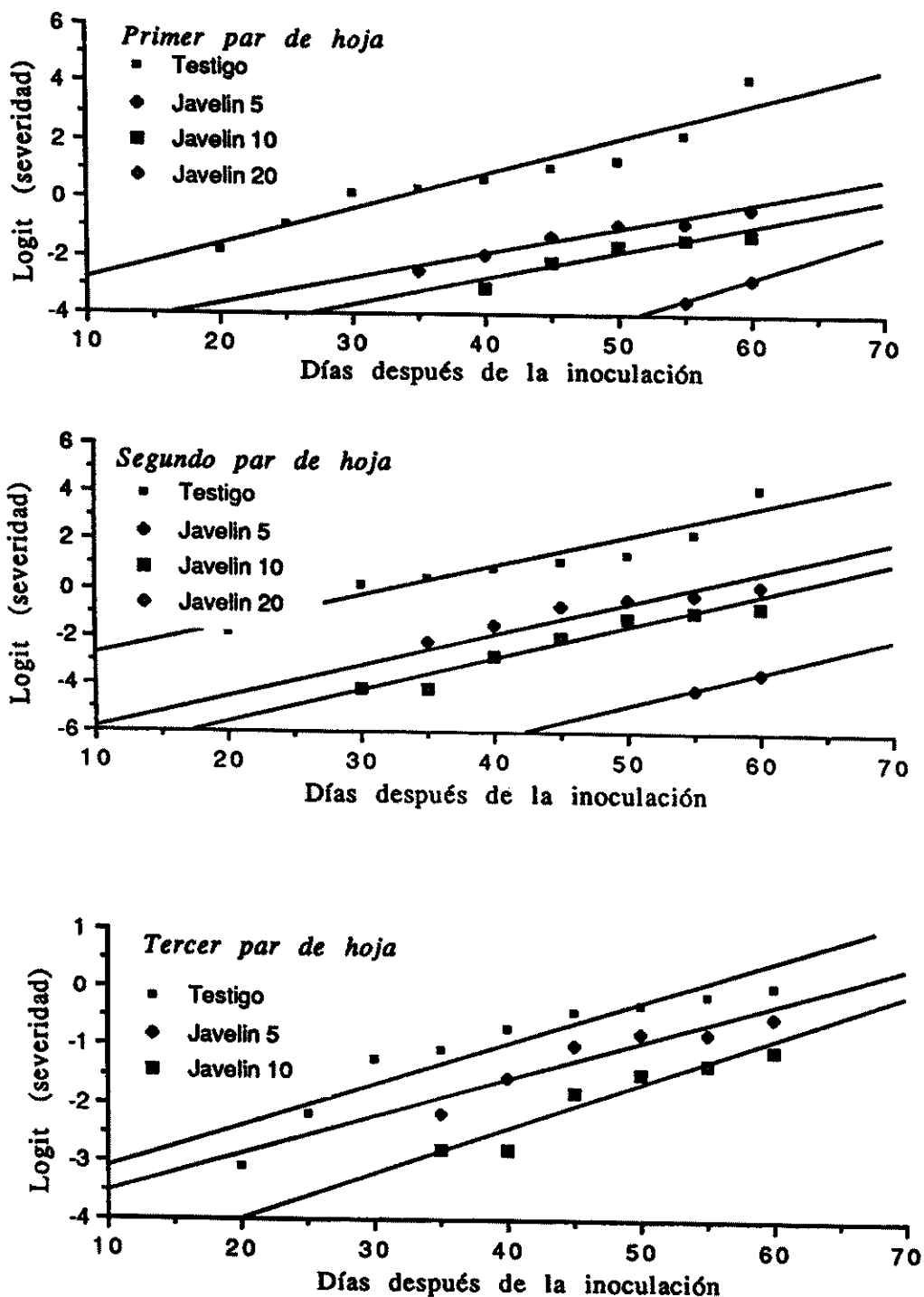


Figura 7. Relación entre LOGIT de la severidad de la infección de *Hemileia vastatrix* en diferentes pares de hojas en plantas de café asperjadas con diferentes dosis de Javelin (*Bacillus thuringiensis*) y el tiempo transcurrido después de la inoculación.

Cuadro 6. Relaciones cuantitativas entre la severidad de la roya y el tiempo transcurrido después de la inoculación en diferentes tratamientos.

Primer par de hojas

Dipel	20 g/l	no hubo desarrollo de la enfermedad			
Dipel	10 g/l	IE =	-12.87* + 0.198 X	p= 0.026	r ² = 0.948
Dipel	5 g/l	IE =	-8.47* + 0.133 X	p= 0.002	r ² = 0.934
Javelin	20 g/l	IE =	-11.56* + 0.146 X	p= 0.002	r ² = 1.00
Javelin	10 g/l	IE =	-6.49* + 0.092 X	p= 0.017	r ² = 0.886
Javelin	5 g/l	IE =	-5.66* + 0.094 X	p= 0.001	r ² = 0.963
Testigo		IE =	-4.04 + 0.121 X	p= 0.00	r ² = 0.909

Segundo par de hojas

Dipel	20 g/l	IE = no hubo desarrollo de la enfermedad			
Dipel	10 g/l	IE =	-12.20* + 0.174 X	p= 0.038	r ² = 0.996
Dipel	5 g/l	IE =	-8.14* + 0.138 X	p= 0.000	r ² = 0.986
Javelin	20 g/l	IE =	-11.93* + 0.140 X	p= 0.000	r ² = 1.00
Javelin	10 g/l	IE =	-8.29* + 0.133 X	p= 0.000	r ² = 0.938
Javelin	5 g/l	IE =	-7.20* + 0.131 X	p= 0.002	r ² = 0.865
Testigo		IE =	-4.10 + 0.124 X	p= 0.000	r ² = 0.926

Tercer par de hojas

Dipel	20 g/l	IE = no hubo desarrollo de la enfermedad			
Dipel	10 g/l	IE =	-6.45* + 0.066 X	p= 0.005	r ² =0.884
Dipel	5 g/l	IE =	-6.67* + 0.108 X	p= 0.001	r ² = 0.951
Javelin	20 g/l	IE = no hubo desarrollo de la enfermedad			
Javelin	10 g/l	IE =	-5.87* + 0.084 X	p= 0.000	r ² = 0.940
Javelin	5 g/l	IE =	-6.37* + 0.107 X	p= 0.009	r ² = 0.774
Testigo		IE =	-3.86 + 0.072 X	p= 0.000	r ² = 0.873

IE = Logit de Area foliar afectada

X = Tiempo transcurrido en días

*** = los valores de los parámetros son significativamente diferentes al testigo.**

epidemias fueron significativamente diferentes ($p = 0.05$) en los tratamientos de *B. thuringiensis* y el testigo (Cuadro 6). En todos los casos las enfermedad mostraban un retraso significativo cuando las plantas fueron tratadas con *B. thuringiensis* y el retraso fue mayor en las dosis más altas.

Por lo tanto podemos concluir que el elemento que contribuye a la protección de las plantas de café contra la roya, posterior a la aspersion de los productos Dipel y Javelin, es la acción de *B. thuringiensis* sobre el atraso del inicio de las enfermedad. Probablemente *B. thuringiensis* induce de alguna manera una resistencia temporal en las plantas que permite que las esporas de la roya no logren invadir y establecer en los tejidos tratados durante un período de 17 a 60 días dependiendo de las concentraciones de *B. thuringiensis*.

Sin embargo, posterior a este tiempo, cuando las esporas sobrevivientes o provenientes de la infección secundaria logran invadir el tejido resulta a una enfermedad similar al testigo pero con un atraso en el tiempo que representa el período de protección que ofrece las aspersiones de *B. thuringiensis* contra la roya del café.

4.4 Porcentaje de protección

Las hojas de las plantas asperjadas con productos a base de *B. thuringiensis* mostraron menor número de pústulas y área foliar afectada después de los 60 días de la inoculación,

demostrando el efecto protector de estos productos contra la roya del café.

El grado de protección determinado por la reducción en los números de pústulas en los tratamientos en relación al testigo, varía con la dosis. Ambos productos en dosis iguales o mayores de 10 g/l presentan porcentaje de protección superior al 80 % (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de protección contra la roya en plantas de café asperjadas con diferentes formulaciones comerciales de *B. thuringiensis*. Noviembre 1990-Enero-1991. Invernadero de C.E.C.N.

Concentración	Dipel (%)	Javelin (%)
5 g/l	67	71
10 g/l	87	83
20 g/l	99	98

Los resultados de este estudio coinciden con Roveratti et al., (1985), quienes encontraron que la aplicación del producto comercial Thuricide-Hp a base de *B. thuringiensis* en dosis de 20 mg/ml, 72 horas antes de la inoculación induce una protección del 85% en plantas de café contra la roya y además el efecto inductor de resistencia el Thuricide Hp es sistémico. Sin embargo en otro estudio, Rivera (1992), encontró menor grado de protección (50-75%), utilizando dosis de 10 a 40 g/l de los productos Javelin, Thuricide y Bactec.

4.5 Posibles mecanismos de protección.

El fenómeno de la inducción de resistencia a *H. vastatrix* en plantas de café por *B. thuringiensis* esta bien documentada en la literatura. Roveratti et al., (1989), han encontrado que las aplicaciones del producto comercial Thuricide HP a base de *B. thuringiensis* en las dosis de 20 mg/ml es muy activo como inductor de resistencia en cerca del 85% en plantas de café inoculadas con el patógeno *H. vastatrix* 72 horas después del tratamiento de *B. thuringiensis*. Los autores demostraron en el mismo trabajo, que la protección inducida en las plantas de café es de naturaleza sistémica y que puede ser verificada a distancia del sitio de inoculación. Rivera (1992), también reporta el mismo efecto de *B. thuringiensis* sobre la roya del café. Sin embargo, lo que es desconocido todavía es el mecanismo de la inducción de resistencia.

Guzzo et al., (1987), encontraron que la actividad inductora de resistencia por parte de uredosporas desactivadas *H. vastatrix* en plantas de café está asociada con la presencia de B-azúcares, los cuales juegan un papel importante en el mecanismo de resistencia de plantas como inductores de fitoelaxinas. También es conocido que la acumulación de fitoelaxinas puede ser inducido por agentes bióticos como hongos, bacterias o por factores abióticos como estrés de la planta (Vance, 1980). Es necesario conocer de manera específica si la inducción de resistencia en plantas de café contra a la roya por *B. thuringiensis* es a través de fitoelaxinas u otros mecanismos.

Desde el punto de vista práctico, la resistencia sistémica inducida es de gran utilidad para proteger las plantas durante el período crítico más favorable a la enfermedad, cuando el potencial es mayor, las condiciones ambientales más adecuadas y el estado fisiológico del hospedante más susceptible. Pero para lograr esto con el uso de *B. thuringiensis* aún faltará algunas investigaciones claves para determinar el mecanismo de acción y determinar la factibilidad del uso en condiciones del campo.

V-CONCLUSIONES

1. El número de pústulas y el área foliar afectada por roya de café disminuye significativamente cuando se aplica *Bacillus thuringiensis*.
2. El *B. thuringiensis* afecta los períodos de incubación y latencia de *H. vastatrix*. A mayores dosis utilizadas, mayores fueron los períodos de incubación y latencia con respecto al testigo, retrasando así el desarrollo de *H. vastatrix*.
3. Las plantas sin tratamiento presentaron los mayores número de pústulas de roya esporuladas. El *B. thuringiensis* disminuyeron la cantidad de lesiones que logran esporularse.
4. Para las dos formulaciones de *B. thuringiensis* evaluadas, el porcentaje de protección varió desde 67% hasta 99%. El mayor porcentaje de protección se presentó en las dosis más altas. Presentado período de protección de 17 a 60 días.
5. El *B. thuringiensis* disminuyen el índice de infección por la reducción del inóculo inicial, provocando un retraso significativo en la enfermedad de la roya del café. Sin embargo, una vez iniciado la enfermedad no afecta el desarrollo de ésta.

VI-RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios a nivel de campo para comprobar la eficacia de las aspersiones de productos a base de *B. thuringiensis* para el manejo de la roya del café.
2. Realizar estudios para determinar posibles mecanismos de acción de *B. thuringiensis* en el control de la roya de café.

VII-BIBLIOGRAFIA

- ADUAYI, E. A. 1975. Effects of copper fungicide sprays on soil and leaf nutrient composition and yield of coffee trees. Turrialba (Costa Rica) 25 (2): 132-138.
- BARBOSA. I. & WIGER, P. 1989. Evaluación de la Roya de *Hemileia vastatrix* B & Br. e híbrido de Timor *Coffea arabica* L. Informe técnico del Departamento de Protección. Centro Nacional de Investigación del Café. p. 81.
- BERETTA, et al., 1977. Induced protection to *Hemileia vastatrix* at a distance from the site of the inducing action in coffee plants. *Phytopathology* 3: 66-70.
- BECKER, S.; MORAES, W Y QUIJANO. M. 1991. La Roya del Cafeto. Conocimiento y control. G.T.Z. p. 280.
- CHAMBERLAIN, D. W. & PAXTON, J. 1968. Protection of soybean plants by phytoelaxin. *Phytopathology*, 58: 1349-1350.
- GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F. and MORAES, W. B. C. 1987. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*: Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. *Fitopatologia Brasileira* 4: 377-385.
- INSTITUTO NICARAGUENSE DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA (INTA). 1977. La Roya del Cafeto y su combate en Nicaragua. Managua, Nicaragua. p. 33.

- KUC, J. 1983. Induced systemic resistance on plants to disease caused by fungi and bacteria. In; The dynamics of Host Defense (J. A. Bailey & B. J. Deverall, eds.) p 191-221; Academic Press, Sydney, Australia.
- KUSCHALAPPA, A. C; MARTINS, C. P. 1980. Incubation and generation periods for *Hemileia vastatrix* on coffee in Vicoso, Minas Gerais. Fitopatologia Brasileira 5 (2): 177-183.
- LACAYO, L. N. 1996. TURISMO. En Tercer lugar como generador de divisas. La Tribuna, Managua. (Nicaragua) Agosto 29: 9a.
- LEGUIZAMON, J. 1983. Contribución al estudio de la resistencia parcial del cafeto a *Hemilea vastatrix* Berk & Br. Serie publicaciones. Miscelanea No. 458. IICA-PROMECAFE. p. 24.
- MARTINS, E. M. F. ; MORAES, W. B. C. & OLIVEIRA, D. A. 1973. Protecao Inducida em cafeeiros suscetiveis a *H. vastatrix*. (Resumen). I Congreso Brasileiro de Doencas e Pragas do cafeeiro. Vitoria, Brasil.
- MAYEA, S.; HERRERA, L. & ANDREW, M. 1985. Enfermedades de la plantas cultivadas en Cuba. Habana, Cuba. Editorial Pueblo y educación. p. 425.
- MORAES et al., 1976. Induced protection to *Hemileia vastatrix* at a distance from the site of the inducing action in coffee plants. Summa Phytopathology 3: 66-70.

- MORAES, W. B. C., 1991. Bioquímica de la resistencia. Un control alternativo de la resistencia. Un control alternativo de la roya del cafeto. In: La Roya del cafeto. G.T.Z. p. 65-204.
- NUTMAN, F. J. and ROBERTS, F. M. 1963. Studies on the biology of *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. Trans. Brit Mycol. Soc. 46 (1) : 27- 48.
- PROMECAFE, 1985. Curso regional sobre el control de resistencia de pesticidas en café. Memoria. El Salvador p 24-49.
- RAYNER, R. 1972. Micología, Historia y Biología de la Roya del Cafeto. No. 24. Costa Rica. 68. p.
- RAHE, J. E. et al 1969. Induced resistance in *Phaseolus vulgaris* to bean antracnose. Phytopatology 59: 1641-1645.
- RIVERA, J. 1992. Interferencia de *Bacillus thuringiensis* y Quitina en el sistema cafe. *Hemileia vastatrix* Berk & Br. Tesis de Grado. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 60. p.
- RODRIGUEZ, M; HERNANDEZ, F ; BARBOZA, I; CUADRA, L; TELLEZ, S; ICABALCETA, J. & UBEDA, R. 1994. Validación de opciones tecnológicas en el control de enfermedades foliares en fincas de Matagalpa y Jinotega. Informe técnico, UNICAFE, Nicaragua.
- ROVERATTI, D. S; GUZZO, S. D. & MORAES, W. B. C. 1985. Emprego de Controle alternativo da ferrugem do cafeeiro

atraves da inducao de resistencia. (Resumen) XIII
Congreso Brasileiro de Doencas e Pragas do cafeeiro.

ROVERATTI, D. S; TEIXEIRA, A. & MORAES, W. 1989. *Bacillus thuringiensis* a new perspective for an Induced protection to coffea leaf rust. Journal of Phytopathology (Brasil) 12 (2) : 149-159.

SCHIEBER, E. 1975. Situación actual de la roya del cafeto en América Latina. Guatemala, p 38.

TORRES, E. & SIMAN, J. 1990. Análisis estadístico en estudio epidemiológicos. Contribución para el segundo encuentro sobre metodología de investigación de campo en Fitopatología, organizado por el proyecto CATIE-MAG/MIP NICARAGUA p 11.

UBEDA, R. A. 1994. Controles da ferrugem, da cercosporiose do bicho mineiro e nutricao do cafeeiro com aplicacao da Calda Viçosa. Tese M.S. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Brasil 77 p.

UNICAFE, 1994. Informe anual ciclo cafetalero 1993-1994. Managua, Nicaragua. p. 40.

VANCE, C. P; KIRK, T. K; SHERWOOD, R. T; 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. Annual Review of Phytopathology 18: 259-288.

VASQUEZ, O. 1992. Epidemiología de la Roya del Café (*Hemileia vastatrix* B & Br). en la zonas Norte y Pacifico de Nicaragua. Tesis. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Agronomía. Managua, Nicaragua. p 56.

WALLER, J. M. 1985. Control of coffee diseases. In coffee: Botany, Biochemistry and production of beans, and beverage. Ed. by Clifford, M.N. and willson, K. C. Croom Helm, New york . 219-229. p.

YARWOOD, C. 1956. Cross protection with two rust fungi, *Phytopathology* 46; 540-544.