

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL**

TRABAJO DE DIPLOMA

**PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* fs. Y
SU INTERACCION CON *Meloidogyne* sp. EN EL
COMPLEJO DE LA MARCHITEZ LENTA DE CAFE.**

**AUTORES: BR. MARGARITA DE FATIMA MUNGUIA
BR. LESBIA DEL CARMEN MATUTE S.**

**ASESORES: DR. DAVID MONTERROSO S.
ING.MSc. CAROLINA LOPEZ A.**

Managua, Nicaragua 1997

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL**

TRABAJO DE DIPLOMA

**PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* fs. Y
SU INTERACCION CON *Meloidogyne* sp. EN EL
COMPLEJO DE LA MARCHITEZ LENTA DE CAFE.**

**AUTORES: BR. MARGARITA DE FATIMA MUNGUA
BR. LESBIA DEL CARMEN MATUTE S.**

**ASESORES: DR. DAVID MONTERROSO S.
ING.MSc. CAROLINA LOPEZ A.**

**Presentada a consideración del honorable tribunal examinador como requisito
para optar al grado de Ingeniero Agrónomo con especialidad en Sanidad
Vegetal.**

Managua, Nicaragua 1997

*Hay hombres que luchan un día y son buenos
Hay hombres que luchan un año y son mejores
Pero hay hombres que luchan toda la vida
esos son los imprescindibles.*

Bertold Brecht

DEDICATORIA

A DIOS

Por haberme iluminado a través de todo este camino Andado y el que queda por andar.

A MI MADRE

Por su invaluable esfuerzo y apoyo moral dado durante todos estos años de estudio.

A MIS HERMANOS

SOBRINOS

Y

AMIGOS

MARGARITA MUNGUÍA.

DEDICATORIA

A DIOS

Que me dio la vida y me ha iluminado en el camino que he recorrido.

A MIS PADRES

Por los valores que me han inculcado, los sacrificios que han hecho y por la confianza y seguridad que su amor me ha brindado.

*A MIS HERMANOS Y HERMANA,,
por su alegría y apoyo moral*

A MI SOBRINA Y AMIGOS

LESBLIA DEL CARMEN MATUTE SNCHEZ

AGRADECIMIENTO

Ser artífice en las ciencias agrarias es una tarea que demanda la ejecución de acciones y decisiones precisas y acertadas, que conllevan a expresar resultados científicos que facilitan el entendimiento.

La conducción de nuestro trabajo fue posible gracias a la acertada asesoría del Dr. David Monterroso (CATIE/NIC) quien de manera única e insustituible nos entrego sus consejos y recomendaciones durante todo el proceso investigativo. De igual manera apreciamos el aporte brindado del Ing. Ramón Mendoza (CATIE/NIC), la Lic. Silvia Morales y Aurora Altamirano, Agradeciendo también de manera sincera el apoyo brindado por el personal técnico y administrativo del Proyecto MIP/ CATIE .

Es la Ing.Msc Carolina López A.(ESAVE/UNA) asesora, amiga, consejera, siempre que la necesitamos de ella surgian respuestas alentadoras que nos permitian anidar fuerzas positivas. Nuestro más sincero agradecimiento.

Olvidar a los profesionales del Jardín Botánico no es posible, pues de ellos dependió en gran medida la etapa fundamental de nuestro ensayo.

Es por ello que nos permitimos con gran satisfacción agradecer profundamente el trabajo de apoyo que obtuvimos por parte de : Nuestro co-asesor Ing. Pedro José Calderón (UNICAFE), Ing. Marisol Baylón (Dir. C. EXP del café) a trabajadores y técnicos de campo.

Es oportuno hacer mención a la Escuela de Sanidad Vegetal-UNA por el apoyo logístico brindado, asi como el apoyo técnico-profesional durante el procesamiento de muestras en el laboratorio nuestro eterno agradecimiento a: Ing. Msc Janeth Gutiérrez; Tec.sup. Jorge Tiffer; Ing.Msc. Isabel Herrera; Sras. Ofelia Sánchez; Ruth Vallecillo, Sres Ernesto Urbina; Humberto Villalobos.

Cabe mencionar el invaluable aporte en cuanto a material bibliográfico por parte del Centro de Documentación de la Escuela de Sanidad Vegetal; en especial las sugerencias que nos brindó Tec.sup. Dilma López (Resp. CEDOC-ESAVE).

Es importante señalar en estas líneas a nuestros amigos de promoción quienes siempre nos brindaron su apoyo moral e incondicional, Ing. Mauricio Molina; Ing. Jorge Ortega; Ing. Tomás Orozco; Ing. Gabriel Nuñez.

A todas estas personas gracias por aportar ese granito de arena necesario para la culminación de este proyecto.

INDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

LISTA DE CUADROS.....iv

LISTA DE FIGURAS.....v

RESUMEN.....xiii

I.INTRODUCCION.....1

II. OBJETIVOS.....3

III.REVISION DE LITERATURA.....4

3.1 GENERALIDADES DEL GENERO *MELOIDOGYNE*.....4

3.1.1 Historia.....4

3.1.2 Clasificación.....5

3.1.3 Efectos en las Plantas.....5

3.2 GENERALIDADES DE *FUSARIUM*.....6

3.2.1 Clasificación.....6

3.3 INTERACCION NEMATODO-HONGO.....8

IV. MATERIALES Y METODOS.....11

4.1 Fase de campo.....11

4.1.1 Ensayo 1 Evaluación de la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* en la marchitez lenta del café.....12

4.1.2 Inoculación.....	12
4.1.3 Procedimiento.....	13
4.1.4 Diseño Experimental.....	15
4.1.5 Tratamientos.....	15
4.1.6 Variables Medidas.....	15
4.2 Ensayo 2 Evaluación de la interacción nematodo Meloidogyne sp.)hongo(<i>Fusarium oxysporum</i>)en la marchitez lenta del café en plantas injertadas y no injertadas.....	16
4.2.1 Inoculación.....	16
4.2.2 Procedimiento.....	17
4.2.3 Diseño Experimental.....	18
4.2.4 Tratamientos.....	18
4.2.5 Variables Medidas.....	18
4.3 Ensayo 3. Evaluación de la interacción <i>Meloidogyne sp.</i> - <i>Fusarium oxysporum</i> en el comportamiento de la variedad CATRENIC.....	19
4.3.1 Inoculación.....	19
4.3.2 Diseño Experimental.....	20
4.3.3 Tratamientos.....	20
4.3.4 Variables Medidas	21
4.4 Análisis Estadístico.....	21
4.5 Muestreo de Campo.....	21

4.6 Fase de Laboratorio.....	22
V RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
5.1 Sintomatología de la enfermedad.....	24
5.2 Resultado de Laboratorio.....	26
5.3 Evaluación de la patogenicidad de <i>Fusarium oxysporum</i> en plantas de café con diferentes métodos de inoculación.....	28
5.4 Evaluación de la interacción Nematodo-Hongo en plantas con injerto y sin injerto	31
5.5 Evaluación de la interacción <i>Meloidogyne sp. -Fusarium oxysporum fs.</i> sobre el comportamiento de la variedad Catrenic.....	38
VI CONCLUSIONES.....	44
VII RECOMENDACIONES.....	46
VIII BIBLIOGRAFIA.....	48
VIII ANEXOS.....	51

LISTA DE CUADROS

En el texto	Página
Cuadro No	
1. Ritmo de Crecimiento Radial del hongo <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	27

LISTA DE FOTOGRAFIAS

No	Páginas
1. Fase 1 de la Enfermedad marchitez lenta del café.....	25
2. Fase 2 de la Enfermedad marchitez lenta del café.....	25
3. Fase 3 de la enfermedad marchitez lenta del café.....	25

LISTA DE FIGURAS

Figura No	Página
1. Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el número de crucetas en plantas de café. Jardín Botánico. 95/96.....	28
2. Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el número de hojas en plantas de café. Jardín Botánico. 95/96.....	29
3. Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el peso fresco de raíz en plantas de café. Jardín Botánico. 95/96.....	29
4. Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de número de crucetas en plantas con injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	32
5. Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de número de hojas en plantas con injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	32
6. Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de peso fresco de raíz en plantas con injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	33
7. Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de raíces agalladas en plantas con injerto. Jardín Botánico.	

	95 /96.....	33
8.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de alturas en plantas sin injerto. Jardín Botánico.95 /96.	34
9.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio del diámetro del tallo en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	34
10.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio del número de crucetas en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	35
11.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio del número de hojas en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	35
12.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio del peso fresco de raíz en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95/96.....	36
13.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium y Meloidogyne</i> sobre el promedio de raíces agalladas en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95 /96.....	37
14.	Efecto de la interacción nematodo - hongo sobre el promedio de altura en plantas de la variedad CATRENIC. Jardín Botánico.	

	95/96.....	39
15.	Efecto de la interacción nematodo - hongo sobre el promedio de raíces agalladas en plantas de la variedad CATRENIC. Jardín Botánico. 95/96.....	40
16.	Efecto de la interacción nematodo - hongo sobre el promedio del diámetro del tallo en plantas de la variedad CATRENIC. Jardín Botánico. 95/96.....	40
17.	Efecto de la interacción nematodo - hongo sobre el promedio de número de crucetas en plantas de la variedad CATRENIC. Jardín Botánico. 95/96.....	41
18.	Efecto de la interacción nematodo - hongo sobre el promedio del número total de hojas en plantas de la variedad CATRENIC. Jardín Botánico.....	41
19.	Efecto de la inoculación de <i>Fusarium</i> y <i>Meloidogyne</i> sobre el promedio de altura, Variedad Catrenic. Jardín Botánico. 95/96.....	42

ANEXOS

No	Página
1.	Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la altura de plantas de café de 29 meses. Jardín Botánico. 95/96.....52
2.	Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la altura de plantas de café de 34 meses. Jardín Botánico. 95/96.....52
3.	Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el diámetro del tallo de plantas de café de 29 meses. Jardín Botánico. 95/96..52
4.	Efecto de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el diámetro del tallo de plantas de café de 34 meses. Jardín Botánico. 95/96...52
5.	Efecto de cuatro tratamientos sobre el promedio de altura en plantas con injerto. Jardín Botánico.95/96.....53
6.	Efecto de cuatro tratamientos sobre el promedio del diámetro del tallo en plantas con injerto. Jardín Botánico.95/9653

7.	Análisis de varianza del número de crucetas de plantas de menor edad: Ensayo Patogenicidad.....	54
8.	Análisis de Varianza del número de crucetas de plantas de mayor edad: Ensayo Patogenicidad.....	54
9.	Análisis de Varianza del número de hojas de plantas de menor edad: Ensayo Patogenicidad.....	55
10.	Análisis de Varianza del número de hojas de plantas de mayor edad: Ensayo patogenicidad.....	55
11.	Análisis de Varianza del peso fresco de raíz de plantas de menor edad: Ensayo Patogenicidad.....	56
12.	Análisis de Varianza del peso fresco de raíz de plantas de mayor edad: Ensayo Patogenicidad.....	56
13	Análisis de Varianza de la altura en plantas sin injerto: Ensayo interacción.....	57

14.	Análisis de Varianza del número de Crucetasde plantas con injertos: Ensayo interacción.....	57
15.	Análisis de Varianza del número de crucetas en plantas sin injerto: Ensayo interacción.....	58
16.	Análisis de Varianza del número de hojas de plantas con injerto: Ensayo interacción.....	58
17.	Análisis de Varianza del número de hojas en plantas sin injerto: Ensayo interacción.....	59
18.	Análisis de Varianza del peso fresco de raíz de plantas sin injerto: Ensayo interacción.....	59
19.	Análisis de Varianza del número de agallas en plantas con injerto: Ensayo interacción.....	60
20.	Análisis de Varianza del número de agallas de plantas sin injertos: Ensayo interacción.....	60

21.	Análisis de Varianza del número de agallas en plantas:	
	Ensayo Catrenic.....	61
22.	Análisis de Varianza del peso húmedo de raíz de plantas:	
	Ensayo Catrenic.....	61
23.	Análisis de Varianza del diámetro del Tallo de plantas:	
	Ensayo Catrenic.....	62
24.	Análisis de Varianza del número de Crucetas de plantas:	
	Ensayo Catrenic.....	62
25.	Análisis de varianza del número de hojas de plantas:	
	Ensayo Catrenic.....	63

RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo de Julio de 1994 a Julio de 1996. Con los objetivos de: (1) Evaluar la Patogenicidad *Fusarium oxysporum*, sobre el cultivo del café empleando dos métodos de inoculación, un método con navaja, y un método de poda de raíces con inmersión (2) Evaluación de la Interacción *Meloidogyne -Fusarium* en plantas de café injertadas y no injertadas y, (3) Evaluar el efecto de la interacción *Meloidogyne -Fusarium* sobre el desarrollo de la marchitez lenta en el comportamiento de la variedad Catrenic.

El estudio se dividió en dos fases una fase de campo y una fase de laboratorio. La fase de campo consistió de tres ensayos: Ensayo 1 Evaluación de la patogenicidad de *Fusarium oxysporum fs*. Cuyos resultados indicaron diferencias significativas en el método de Inmersión concluyendo, que es el método de inoculación más efectivo, para comprobar que *Fusarium* puede penetrar con mayor rapidez dentro de la planta y causar infección en estas. Ensayo 2 Interacción *Meloidogyne sp. - Fusarium oxysporum* en plantas de café con injerto y sin injerto, como resultado de este ensayo, las plantas más afectadas en su altura, diámetro del tallo, peso fresco de raíz, e índice de agallas fueron las plantas sin injerto presentando una menor tolerancia al ataque de nematodos y por ende reflejaron una mayor evidencias de síntomas de la enfermedad marchitez lenta. Ensayo 3 Evaluación de la interacción *Meloidogyne sp. - Fusarium oxysporum* en la marchitez lenta con la variedad Catrenic. Los resultados de este ensayo demostraron que *Meloidogyne y Fusarium* actúan sinérgicamente causando un cuadro claro de deterioro de las plantas de café de la variedad Catrenic.

INTRODUCCION

Nicaragua es un país netamente agrícola, uno de los rubros de mayor importancia es el café. Se estima que hay aproximadamente 28,000 productores y cerca de 170,000 hogares dependen directamente del café como fuente de ingresos (Banco Mundial, 1992, citado por Monzón, 1992).

En Nicaragua el café se produce en seis regiones. La mayor producción se concentra en las regiones I, IV, Y VI. A pesar de la importancia del cultivo del café la producción cafetalera enfrenta grandes problemas como son : El financiamiento bancario, los costos de producción y la afectación por la incidencia de plagas y enfermedades, sufriendo sus efectos principalmente el pequeño productor (UNICAFE 1995).

En el ciclo cafetalero 1994/ 1995 la producción alcanzada a nivel nacional, fue de 894,066 quintales de café oro habiéndose registrado una caída de 2,8 por ciento con relación a la del ciclo anterior 1993/ 1994 (920,108 quintales oro) (UNICAFE 1995).

Entre los principales factores que han estado incidiendo en las bajas de la producción están: La alta restricción y desfase del crédito lo que trae como consecuencia la falta de atención a las plantaciones.

Entre las diversas plagas y enfermedades que atacan el cultivo del cafeto, se destacan las de mayor importancia *Hemileia vastatrix*, *Colletotrichum coffeanum*, *Hypotenemus hampei* (Ferr), *Leucoptera coffeella* (Guer Menex) y varias especies de nematodos (Carvajal 1984, citado por Herrera 1995). Y actualmente la marchitez lenta la cual ha causado pérdidas en las regiones IV y VI (UNICAFE 1995,).

La marchitez lenta representa una seria limitante para la caficultura de las regiones VI y IV, se han venido realizando estudios para conocer la distribución de la marchitez y para identificar los organismos asociados al síntoma de la enfermedad. Los resultados han demostrado una incidencia variable del hongo *Fusarium sp* y nematodos de los géneros *Meloidogyne sp* y *Pratylenchus sp* (Blandón et al 1993). En otros estudios realizados se han encontrado *Fusarium sp* y *Rosellinia sp* asociados con la marchitez (Monterroso y Góngora, 1991, citado por Blandón 1992).

Dado la importancia que esta enfermedad representa para la producción cafetalera de Nicaragua se ha planteado el siguiente trabajo con el propósito de determinar la patogenicidad del hongo *Fusarium oxysporum* y para saber si la asociación *Meloidogyne sp. F.oxysporum fs.* está influyendo de alguna manera en el desarrollo en la enfermedad marchitez lenta.

II OBJETIVOS

- * Determinar el papel que juega el ***Fusarium oxysporum fS.*** en el desarrollo de la marchitez lenta del café.

- * Evaluar el efecto de la interacción ***Meloidogyne sp.y Fusarium oxysporum*** en la enfermedad marchitez lenta en plantas de café con injerto y plantas no injertadas.

- * Evaluar el efecto de la interacción ***Meloidogyne sp. y Fusarium oxysporum*** sobre el desarrollo de la marchitez y el comportamiento de la variedad Catrenic.

III REVISION DE LITERATURA

3.1 GENERALIDADES DEL GENERO MELOIDOGYNE

Los nematodos que afectan al cultivo del café son principalmente : *Pratylenchus* spp., *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp. y *Meloidogyne* spp. destacandose entre este último género *Meloidogyne exigua* y *Meloidogyne incognita* (villalba, et al 1982, citado por Herrera 1995).

3.1.1 Historia

Jobert en 1884 informó por primera vez sobre los daños causados por nematodos en café. Desde 1887, realizando estudios sobre la enfermedad del declinamiento del café en la provincia de Rio de Janeiro, Brasil. Observó agallas y pequeños organismos en forma de gusanos en las raíces de las plantas enfermas. (Jobert, 1984, citado por Herrera 1995).

Posteriormente Chitwood(1949), agrupa a todos los nematodos formadores de agallas dentro del género *Meloidogyne*, basado en estudios morfológicos de diferentes poblaciones de este nemátodo y en las diferentes respuestas de los hospedantes reconoce y redescrive claramente las cuatro especies más comunes y ampliamente distribuidas a nivel mundial: *M. incognita* (Kofoid y White 1919); *M. Javanica* (Treulo 1885); *M. arenaria* (Neal 1889) y *M.*

hapla (Chitwood 1949). A demás de **M. exigua** (Goldi 1887) describe una nueva variedad a la que le da el nombre de **M. incognita var. acrita** (citado por Calderón 1989).

En 1968, Whitehead redefine el género y confirma 23 especies. Para junio de 1984 se habían reportado 54 especies y dos sub-especies de **Meloidogyne** (Hirschman 1985 b), 11 de las cuáles tienen al café como hospedante tipo (Hirschman 1985; Taylor y Sasser 1978, Citado por Calderón 1989). Siendo **M. incognita, M. coffeicola** y **M. exigua** los de mayores distribución e importancia económica en cafeto(Whitehead, 1968, citado por Calderón. 1989).

3.1.2 CLASIFICACION

Wouts, citado por Taylor y Sasser (1978) , ubica las especies de **Meloidogyne** dentro del Phylum **Nemata** (Nematoda); Clase **Secernentea**; Orden **Tylenchyda**; Superfamilia **Tylenchoidea** y Familia **Meloidogynidae**.(Taylor y Sasser, 1978; citado por Herrera 1995).

3.1.3 EFECTO EN LAS PLANTAS

Las plantas afectadas por **Meloidogyne sp.** reflejan los síntomas en las raíces y los brotes, las alteraciones que se observan en la planta son similares a los observados en cualquier planta que tiene raíces dañadas y/o un mal funcionamiento del sistema radical. Muestras de deficiencias nutricionales en

el follaje, clorosis, marchitez temporal durante los períodos de estrés hídrico como el mediodía, cuando las temperaturas son altas aún cuando la humedad del suelo es adecuada. Todo esto culmina con una reducción de los rendimientos. (Dropkin 1980, citado por Herrera 1995).

3.2 GENERALIDADES DE FUSARIUM

3.2.1 CLASIFICACION DE FUSARIUM

Los hongos del género *Fusarium* abundan en la naturaleza y están ampliamente distribuidos, muchos de ellos causan enfermedades en las plantas, algunos están situados entre los hongos patógenos más peligrosos. (Dropkin 1980 citado por Herrera 1995).

Estos pertenecen a la División Mycota, que a su vez tiene dos subdivisiones: Myxomycotina (Mixomicetes o mohos mucilaginosos) y Eumycotina (hongos verdaderos).

El género *Fusarium* pertenece a la Clase Deuteromicetes; Orden Moniliales y Familia Moniliaceae.

Entre los patógenos de importancia hay dos grupos generales: Los que producen pudriciones del tallo y la raíz y los que producen marchitez vascular, todas formas especiales (variantes) de la especie *Fusarium oxysporum*. Estos últimos viven en el suelo, y por lo general, una vez que se establecen en un

terreno determinado persisten por muchos años. *F. oxysporum* consiste de diferentes formas, cada una de las cuáles es específica para una especie de hospedante;(Agrios 1991). En investigaciones realizadas sobre estos organismos sobresalen algunos detalles:Para comprobar la patogenicidad de estos hongos al hacer la inoculación en plantas sanas, siempre hay la necesidad de causar heridas en las raíces para que logren penetrar, ya que por si solos, no pueden hacerlo. Además cuando se logra inocular plantas sanas los síntomas que causan son diferentes a los que en forma natural se observan en el campo y la inoculación únicamente se logra en plantas o arboles jóvenes(García,R. De la 1990).

Los tipos más conocidos de marchitez son los debidos a infecciones vasculares; entre éstas, las más estudiadas son las causadas por *Fusarium oxysporum*.

Los llamados marchitamientos vasculares se agrupan debido a la asociación de síntomas con la presencia de un agente patógeno en el sistema vascular del huesped, generalmente en el xilema. Aunque la marchitez, o pérdida de turgencia sea un síntoma normal de enfermedad puede ser el resultado de una entre distintas causas posibles.(Agrios 1991) .

3.3 INTERACCION NEMATODO-HONGO.

Existen numerosas publicaciones donde señalan que la mayoría de las enfermedades radicales son ocasionadas por un complejo etiológico, en donde participan hongos, bacterias, virus y nematodos. La interacción *Fusarium - Meloidogyne*, ha sido muy estudiada en varios cultivos en donde los nematodos noduladores aceleran e incrementan el síntoma de la marchitez y aumenta la tasa de mortalidad en las plantas infectadas por ambos organismos, todas las enfermedades de " *marchitez por Fusarium* " pertenecen a la especie *Fusarium oxysporum* (Mai y Abawi 1987, citado Calderón 1989).

El incremento en la susceptibilidad de las plantas a la marchitez por *Fusarium* no solamente se debe a las heridas causadas por el nematodo nodulador, si no a fenómenos más complicados. Hillocks (1986), concluyó que la sensibilidad

se ve alterada por dos efectos separados ocasionados por el nematodo.

1) **Un efecto localizado y confinado a la raíz, donde las heridas causadas por el nematodo facilitan la penetración del hongo y/o el crecimiento del hongo se ve estimulado por el incremento de nutrientes en los sitios de alimentación del nematodo y 2) Un efecto sistémico que inhibe los mecanismos de resistencia en el tallo.** No es necesario que el hongo y el nematodo ataquen la misma parte de la planta para inducir un incremento a la susceptibilidad de esta planta a la marchitez por *Fusarium* (Hillocks 1985,

Montalvo y Meléndez 1986; citados por Calderón. 1989).

La mayor parte de los complejos informados envuelven un nematodo y un hongo, los casos más típicos de esta clase de asociación son los de hongos vasculares como *Fusarium* y el nemátodo de agalla, *Meloidogyne*. De hecho el informe de que la incidencia y severidad de la marchitez de *Fusarium* en algodón aumentaba en presencia de *Meloidogyne* sentó las bases para estudios relacionados (Atkinson, 1892, citado por Román 1978). El *Fusarium* puede también asociarse con *Radopholus similis* y aumentar la incidencia de la enfermedad del bananero conocida como mal de panamá (Newhall, 1958, citado por Román 1978).

En ninguno de estos casos el nemátodo transmite al hongo. Sin embargo las variedades vegetales susceptibles a sus hongos correspondientes sufren más daño cuando son infectadas por los nemátodos, siendo el daño combinado considerablemente mucho mayor que la suma del daño producido por cada patógeno por separado, a sí mismo, las variedades habitualmente resistentes a los hongos al parecer pierden su resistencia cuando son infectadas previamente por nemátodos.

planta, sugiere que los nemátodos pueden también inducir algún tipo de respuesta del hospedero, la que disminuye la resistencia natural de éste ante el hongo. Debe tenerse también presente que, al menos en algunos de dichos complejos, hay una masa de micelio mucho mayor en los tejidos infectados por nemátodos que en los tejidos libres de ellos en una misma planta y también que las poblaciones de nemátodos son mucho mayor en los tejidos infectados por hongo que en los tejidos libres de ellos en una planta enferma (Agrios 1991).

IV MATERIALES Y METODOS

El experimento fue realizado de julio de 1994 a julio de 1996 consistió en una fase de campo y una fase de laboratorio.

4.1 FASE DE CAMPO

Esta se realizó en el Centro Experimental de Café del pacifico (Masatepe-Masaya). Localizado a 11°54' y latitud norte ,86°08 longitud oeste, con una altura de 455.5 msnm, y una temperatura media anual de 24.22°c.

La parcela experimental en donde se realizarón los ensayos fué en un área de 3 metros de largo por 10 de ancho, con un 50% de sombra, rodeada de una zanja de 30 centímetros de profundidad y 30 centímetros de ancho, esta se realizó con el objetivo de evitar cualquier tipo de contaminación de enfermedades radicales provenientes de nuestros ensayos ya que la parcela se encontraba cercana del área de producción.

Esta fase consistió en los ensayos siguientes:

4.1.1 Ensayo 1: Evaluación de la patogenicidad de *F. oxysporum* en la marchitez lenta del café

Para saber el grado de infección que causaba *Fusarium oxysporum* en plantas de café se realizó la evaluación de plantas de café de 20 meses de edad y plantas de 7 meses de edad de la variedad catuaí rojo y catuaí amarillo. Donde se establecieron dos tratamientos y se utilizaron dos métodos de inoculación. Las plantas se distribuyeron de la siguiente forma: 60 plantas en bolsas y 60 trasplantadas a maceteras. El suelo que se utilizó se esterilizó con formalina al 10%, cubriéndose posteriormente con plástico negro para agilizar su esterilización, dejándose por un período de 10 días para posteriormente ser utilizado. El riego se suministró diariamente en suficientes cantidades para mantener las condiciones de humedad del suelo.

Se realizaron aplicaciones de fertilizantes cada 3 meses, fertilizante foliar (Bayfolan) a razón de 4 cc/lit de agua, nitrógeno (urea al 46%) 5lb x 200 lit de agua y completo (N-P-K) a razón de 3g por planta. No se realizó ninguna aplicación de productos fungicidas.

4.1.2 INOCULACION

Para obtener el inóculo se realizó un muestreo de plantas con síntomas de la enfermedad Marchitez lenta en el área de producción (campo), una vez

ubicada se extrajo la planta y se cortaron partes de la raíz, cuello de la raíz, base del tallo y el primer cruce de bandolas.

Para comprobar la presencia del hongo *Fusarium oxysporum* se realizaron cortes longitudinales de las partes deseadas de las plantas, observándose estrías finas de color rojizo a café rojiza entre los haces vasculares

El resto de la planta se cortó en pedazos y se enterró en el mismo lugar de donde se extrajo la planta.

4.1.3 PROCEDIMIENTO

Las muestras fueron llevadas al laboratorio donde se esterilizaron los trozos de tejido y posteriormente fueron sembrados en placas petri con PDA dejándolos en incubación durante 7 días. Una vez obtenido el cultivo puro se procedió a realizar una siembra del hongo en el medio Bilay con el objetivo de elevar la producción de conidias, este medio se cubrió con papel aluminio ya que el hongo crece mas con menor intensidad de luz y se mantuvo en movimiento constante en un agitador, esto como estimulante en la producción de los propágulos durante 3 días a una temperatura de 25°C.

Una vez alcanzada la cantidad de propágulos deseados se procedió a realizar lecturas con el Hematocímetro Spencer donde se obtuvo una concentración de 500,000 propágulos por cc, aplicándose a cada planta una concentración de 9×10^6 propágulos y un volumen de suspensión de 18 ml por planta .

Para obtener el número de propágulos a inocular se utilizó la fórmula siguiente: (Hebert, French 1982), (anexo 26).

$$\text{Volumen-final} = \frac{(\text{propágulos/cc})}{(\text{propágulos/cc, deseado})} * \text{Volumen-total-origin}$$

La inoculación del hongo *Fusarium oxysporum* se llevó a cabo de la siguiente manera:

Para inocular las plantas en macetas se realizó un canal en el suelo con una navaja estéril alrededor de la planta a una distancia de la base del tallo de 5 cm y 10 cm de profundidad para producir heridas en las raíces, posteriormente se vertió al canal la suspensión del hongo, repitiéndose el proceso 10 días después.

Para realizar la inoculación de las plantas en bolsas, éstas se extrajeron de las bolsas y se lavaron vigorosamente las raíces, posteriormente se podaron las raíces con una tijera estéril y se procedió a sumergirlas en la suspensión del hongo durante 2 horas, transplantándose posteriormente a macetas.

En ambos casos a las plantas testigos se les realizó el mismo procedimiento, pero en lugar de aplicar la solución del hongo se les aplicó agua estéril.

4.1.4 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completo al azar (DCA) con 2 tratamientos y 15 repeticiones en cada uno.

4.1.5 Tratamientos

Se evaluó *Fusarium oxysporum* en dos métodos de inoculación con plantas de diferentes edades(20 meses y 7 meses). Los tratamientos fueron distribuidos de la siguiente manera:

Tratamientos

1. *Fusarium oxysporum* (Met.de inoculación navaja)
2. Agua estéril. (Met. De inoculación navaja)
3. *Fusarium oxysporum* (Met.de inoculación inmersión)
4. Agua estéril. (Met.de inoculación inmersión)

4.1.6 Variables Medidas:

- Altura por plantas
- Número de Crucetas por plantas
- Número total de Hojas por plantas

Estas variables fueron tomadas cada mes en cada uno de los tratamientos, con el objetivode observar el efecto que produciría *Fusarium* una vez inoculado en las plantas.

Después de la inoculación para medir la respuesta del hospedante *Fusarium oxysporum* las variables tomadas fueron:

- Diámetro del tallo por planta
- Peso fresco de raíz por planta

4.2 Ensayo 2: Evaluación de la Interacción *Meloidogyne* sp. *Fusarium oxysporum* en la Marchitez Lenta del Café en plantas con injertos y plantas no injertadas.

El ensayo se estableció con plantas plantas injertadas y no injertadas de la variedad Catuaí rojo.

El trasplante se realizó a los 24 meses de edad de la planta en maceteras plásticas de 21 kg de capacidad. El suelo que se utilizó fue esterilizado con formalina al 10% dejándose por un período de 10 días para utilizarse posteriormente. Se suministró riego diariamente en cantidades suficientes para mantener las condiciones de humedad a capacidad de campo, se efectuaron aplicaciones de fertilizante foliar (Bayfolan 4cc/L de agua), Nitrógeno (Úrea al 46%) a razón de 5lb diluidas en 200 lt de agua, Completo (N-P-K) 3gr por planta.

4.2.1 INOCULACION

Se utilizaron para la inoculación del nematodo raíces de cafeto naturalmente infestadas provenientes de una plantación comercial, en la Finca Las Carolinas, en San Marcos-Carazo.

4.2.2 PROCEDIMIENTO

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de nematología donde se llevó a cabo el proceso de extracción y lectura. Estas fueron lavadas con agua corriente para eliminar residuos de suelo, las raíces se cortaron en fracciones de aproximadamente 5cm de largo.

El método de extracción de los nematodos, utilizado fué el macerado por licuadora y tamices con filtro de algodón. Posteriormente se llevó a cabo la lectura donde el número promedio de estados juveniles por muestra de 15g de raíz fué de 1,520. Se determinó inocular por planta 4g de raíces equivalentes a 5,000 nematodos por planta. Estos 4 gramos de raíz finamente cortados fueron incorporados a las plantas de café realizándose dos orificios de 5cm en el suelo a cada lado de la planta y depositando ahí las raíces para luego ser cubiertas con suelo.

Para obtener el inóculo del hongo *Fusarium oxysporum* el procedimiento fue igual al ensayo anterior (ensayo No 1).

Esta inoculación se hizo después de 30 días de estar inoculadas con el nematodo *Meloidogyne sp.* Colocando en el suelo tubos de cristal perforados en ambos extremos a una distancia de 5cm de la base del tallo y a una profundidad de 15cm donde posteriormente se añadió la solución del hongo *Fusarium oxysporum* (18 ml por planta).

4.2.3 Diseño Experimental:

Se utilizó un diseño completo (DCA) al azar con 4 tratamientos y 15 repeticiones en cada tratamiento.

4.2.4 Tratamientos

Se evaluó *Meloidogyne sp.* solo, *Fusarium oxysporum* solo y en asociación *Meloidogyne sp.* y *Fusarium oxysporum*, utilizándose un solo testigo.

la distribución de los tratamientos fué la siguiente:

Tratamientos:

1. ***Fusarium oxysporum fs.***
2. ***Meloidogyne sp.***
3. ***Meloidogyne sp. + Fusarium oxysporum fs.***
4. Agua estéril.

4.2.5 Variables Medidas:

Para todos los tratamientos los datos se tomaron cada mes. las variables evaluadas fueron:

- Altura de planta
- Número de Crucetas por planta
- Número total de Hojas por planta

A los 35 meses después de la inoculación las variables evaluadas fueron:

- Diámetro del tallo por planta.
- Peso fresco de raíz por planta.
- Porcentaje de raíces con agallas por planta.

4.3 Ensayo 3. Evaluación de la interacción *Meloidogyne sp* - *Fusarium oxysporum* en la Variedad Catrenic.

Esta evaluación se llevó a cabo con plantas de la Variedad Catrenic, dichas plantas se encontraban agalladas de forma natural, se hizo el trsplante a maceteras plásticas a los 12 meses de edad, estas maceteras fueron colocadas en panas plásticas para evitar contaminación entre los ensayos. El suelo utilizado fué esterilizado con formalina al 10%. Al igual que el ensayo anterior el riego fue suministrado diariamente para mantener una humedad estable en el suelo, se efectuaron aplicaciones de fertilizantes químicos cada 3 meses Bayfolan 4cc/lt de agua, Nitrógeno (Urea al 46%) a razón de 5lb diluidas en 200 lt de agua, Complet(N-P-K) 3g por planta. No se aplicaron productos fungicidas.

4.3.1 INOCULACION

Los métodos utilizados en la obtención del inóculo del hongo *F. oxysporum* en el campo, el procesamiento de muestras en el laboratorio y el cálculo de la cantidad de inóculo a aplicar fueron descritos en el ensayo No 1.

La inoculación de *Fusarium oxysporum* se efectuó en las plantas a los

20 meses de edad, introduciendo tubos de vidrio en el suelo donde posteriormente se añadió la solución del hongo.

4.3.2 Diseño Experimental:

Se utilizó un diseño completo al azar con 4 tratamientos y 20 repeticiones en cada uno.

4.3.3 Tratamientos

Se evaluaron *Meloidogyne sp.* solo, y en asociación con *F. oxysporum* también se evaluó solo *F. oxysporum* usando un nematicida (counter a razón de 5g por planta) y se utilizó un testigo con nematicida, no se utilizó fungicida ya que el objetivo era homogenizar la población de nematodos que se encontraba de forma natural presente en las plantas.

Estos tratamientos fueron distribuidos de la siguiente manera:

Tratamientos:

1. *Fusarium oxysporum* + Nematicida (counter 5g)
2. *Meloidogyne sp.* + *Fusarium oxysporum*
3. *Meloidogyne sp.*
4. Nematicida (counter)

4.3.4 Variables Medidas

Estas variables fueron tomadas cada mes de cada uno de los tratamientos y estas fueron en función de:

- Altura por planta.
- Número de Crucetas por planta.
- Número de hojas por planta.

A los 25 meses después de la inoculación para medir la respuesta del hospedante se tomaron las variables:

- Diámetro del tallo por plánta.
- Peso fresco de raíz por planta.
- Porcentaje de raíces con agallas por planta.

4.4 ANALISIS ESTADISTICO

El análisis que se realizó en cada uno de los ensayos fué un análisis de varianza para medir el efecto de los diferentes tratamientos.

4.5 MUESTREO DE CAMPO

Además de el montaje de los ensayos se realizó un muestreo en el área de producción para poder dividir la enfermedad en sus diferentes fases.

El procedimiento del muestreo, llevado a cabo se realizó de manera visual

seleccionando plantas que evidenciaban la presencia de síntomas de la enfermedad. Este muestreo fue cada 2 días a la semana durante un periodo de 4 meses. Se hicieron recorridos entre los surcos localizándose plantas con marchitez, las cuales se encontraban en su tercera fase (muerte), posteriormente se procedía a observar a la planta que le continuaba, cuando mostraba síntomas de marchitez, se arrancaba y se tomaban muestras de raíces, bandolas y tallos, con el fin de observar los síntomas internos, y para poder aislar el hongo en el laboratorio y comprobar si era *Fusarium oxysporum*.

4.6 FASE DE LABORATORIO

Esta fue llevada a cabo en los laboratorios de fitopatología de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria, localizada en el km 12 carretera norte, Managua.

Esta fase consistió en el traslado de muestras de plantas con la enfermedad Marchitez Lenta del área de producción al laboratorio donde estas fueron saneadas y posteriormente procesadas para obtener las concentraciones de inóculo utilizada en cada uno de los ensayos descritos.

Además de realizar el aislamiento e identificación del Hongo *Fusarium oxysporum* se realizó una siembra en 5 platos petri con el objetivo de medir el crecimiento radial del hongo midiéndose cada 72 horas. También se realizaron mediciones de las macroconidias mediante un Micrómetro ocular así como

también se hizo la caracterización del hongo, en cuanto a la coloración, forma de sus colonias, disposición de sus macro y microconidias, así como de sus clamidosporas.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 RESULTADO DEL MUESTREO DE CAMPO

El hongo asociado a la enfermedad Marchitez Lenta es *Fusarium oxysporum*, la enfermedad puede observarse tanto en plantas jóvenes como en plantas en producción (Barrios, 1996). Del muestreo realizado en el campo para dividir los síntomas de la enfermedad en fases, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Fase 1: En esta fase las plantas no se observan defoliadas, las hojas se conservan verdes con el inicio de síntomas de deficiencias nutricionales (clorosis), con una mínima flacidez de sus hojas (Fotografía 1).

Fase 2: Las plantas presentan hojas amarillentas, flácidas, iniciándose una defoliación, en la parte interna de la raíz principal se da una pudrición y en las bandolas se pueden observar internamente estrías finas de color rojo intenso (Fotografía 2).

Fase 3: La planta muestra una defoliación total formándose una alfombra de hojas en el área de goteo, internamente el tallo presenta una coloración café clara con estrías rojo púrpura a lo largo de los haces vasculares. El sistema radicular es pobre, sin raíces secundarias, la raíz principal se muestra



Figura 1 Sintomas de la primera fase de la Marchitez lenta.



Figura 2 Sintomas de la segunda fase de la Marchitez lenta.



Figura 3 Sintomas de Marchitez lenta en su tercera fase.

necrosada, con coloraciones rojas oscuras, hay pérdida de anclaje, (Fotografía 3).

Como resultado de estas observaciones la fase más efectiva para el aislamiento del hongo *F. oxysporum* resultó ser la segunda fase deduciéndose que es en este momento cuando el hongo se encuentra en su fase de mayor crecimiento vegetativo.

5.2 RESULTADO DE LABORATORIO

A los siete días después de la siembra de *Fusarium oxysporum* en PDA se logró el crecimiento de este. El cultivo presentaba una coloración rojo púrpura, el micelio esparcido abundantemente, las microconidias generalmente abundantes de forma oval, macroconidias fuscoides (cilíndricas) y apuntadas en ambos extremos, sus clamidosporas de pared lisa abundantes y generalmente se encuentran solitarias.

El resultado del crecimiento radial del *Fusarium oxysporum* observado cada 72 horas se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1 : Crecimiento radial del hongo

Fusarium oxysporum

PLACA PETRI	INCREMENTO TOTAL (mm)	TIEMPO (hrs)	CRECIM PROMED (mm/hrs)	PROMED TOTAL (mm/hrs)
1	345	288	1.19	1.1
2	366	288	1.27	
3	272	288	1.3	
4	240	288	0.8	
5	302	288	1	

$$\text{Ritmo Promedio} = \frac{\text{Incremento Total(mm)}}{\text{Tiempo (hrs)}}$$

$$\text{Promedio Total} = \frac{\text{Crecimiento Promedio}}{\text{No de Observaciones}}$$

5.3 EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* CON DIFERENTES METODOS DE INOCULACION

Para determinar el efecto de *Fusarium de oxysporum* y la eficacia de los métodos de aplicación del inóculo inmersión y navaja, en las plantas de los diferentes tratamientos, se realizó un análisis estadístico, comparando los métodos de inoculación en las plantas de mayor y menor edad. Para la variable número de crucetas, la diferencia significativa la presentó el método de inmersión en comparación con el método de navaja, prevaleciendo el tratamiento testigo con el mayor promedio,(figura 1).

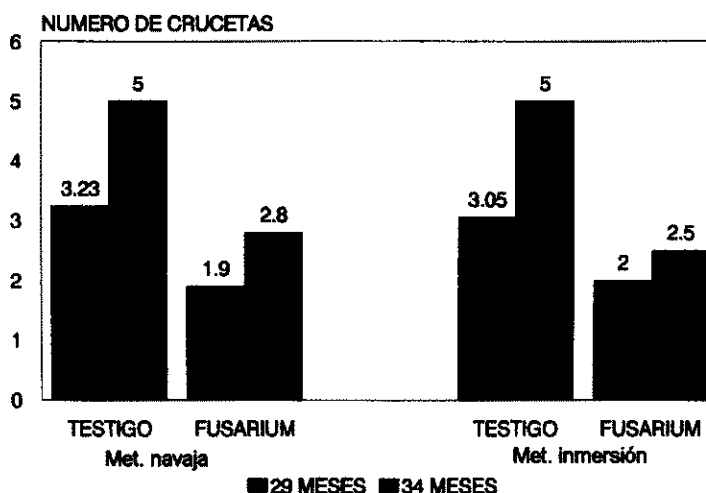


Figura 1 : Efecto de *Fusarium oxysporum* sobre el número de crucetas en plantas de café. Jardín Botánico, Masatepe - Masaya 95/96.

El menor número de hojas (figura 2), así como el menor peso fresco de raíz (figura 3) de las plantas inoculadas, se encontró en el método de inoculación

raíz (figura 3) de las plantas inoculadas, se encontró en el método de inoculación con inmersión lo que indica que la inoculación de *Fusarium* causó un mayor efecto en las plantas ya que *Fusarium* tuvo un contacto mas directo con estas.

En cambio en el método de navaja la inoculación hizo poco efecto, ya que la planta estuvo con menor tiempo expuesta al hongo *Fusarium*, teniendo un contacto menos directo lo cual hizo menos efectiva la penetración del inóculo a la planta.

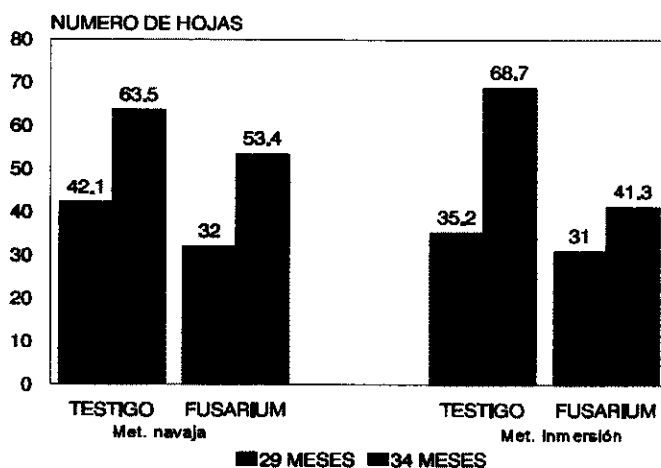


Figura 2 : Efecto de *Fusarium oxysporum* sobre el número de hojas en plantas de café. Jardín Botánico, Masatepe - Masaya, 95/96.

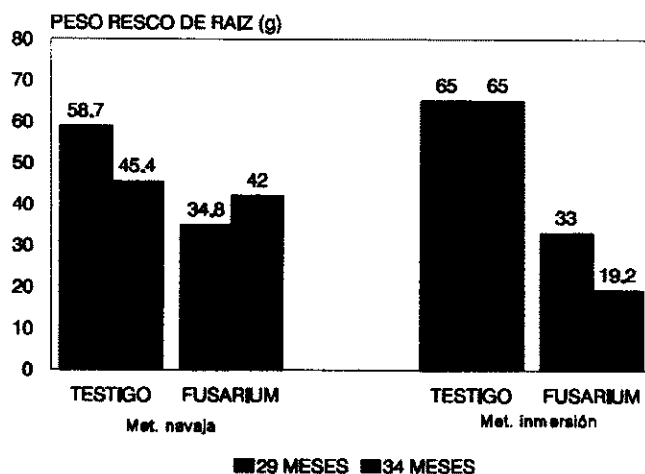


Figura 3 : Efecto de *Fusarium oxysporum* sobre el peso fresco de raíz en plantas de café. Jardín Botánico, Masatepe - Masaya, 95/96.

En ambos ensayos las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum* no presentaron síntomas externos a pesar que algunas de ellas en sus ramas de las partes bajas, internamente presentaban estrías rojas de las cuales se aisló *Fusarium oxysporum*. No obstante se considera que el nivel de inóculo utilizado fué suficiente para detectar la colonización de las plantas por parte de *Fusarium* y la presencia parcial de síntomas de la enfermedad. Existen evidencias en la literatura que sustentan el hecho de que es difícil apreciar efectos detrimentales de síntomas de marchitez en las partes aéreas de las plantas de crecimiento lento en fase de experimentación. Estos resultados se han dado en experimentos con cafeto llevados a cabo en distintos países. Puerto Rico (Monterroso 1973); Colombia (Baeza-Aragón 1979, citado por Calderón 1989); Costa Rica (Bolívar, 1984 y Morena 1986, citado por Calderón 1989); Costa Rica (Marvan - Mendoza 1988).

Mediante la realización de muestreos en el campo al observar plantas en producción con la enfermedad de marchitez esta era encontrada solo en plantas adultas lo que hacía suponer que plantas más jóvenes no eran afectadas, por lo que se experimentó con estas plantas jóvenes, y de los resultados obtenidos del ensayo de patogenicidad es interesante señalar que *Fusarium oxysporum* se presentaba tanto en plantas jóvenes como en plantas adultas, lo cual indica que la edad de la planta no es ningún impedimento para que el hongo cause enfermedad.

El ANDEVA para las variables altura y diámetro del tallo no encontró diferencia significativa entre los tratamientos (ver anexo 1 y 2), indicando que en

5.4 EVALUACION DE LA INTERACCION NEMATODO-HONGO EN PLANTAS CON INJERTO Y SIN INJERTO

Plantas con injerto:

En los análisis realizados para la variable altura no hubo diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, igual situación se presentó en el análisis del diámetro del tallo (anexo 3 y 4).

En el número de crucetas (figura 4) y el número de hojas (figura 5) la diferencia presentada fué significativa entre el tratamiento *Fusarium* y la interacción *Meloidogyne sp. + Fusarium oxysporum* en relación al tratamiento testigo y el tratamiento *Meloidogyne*.

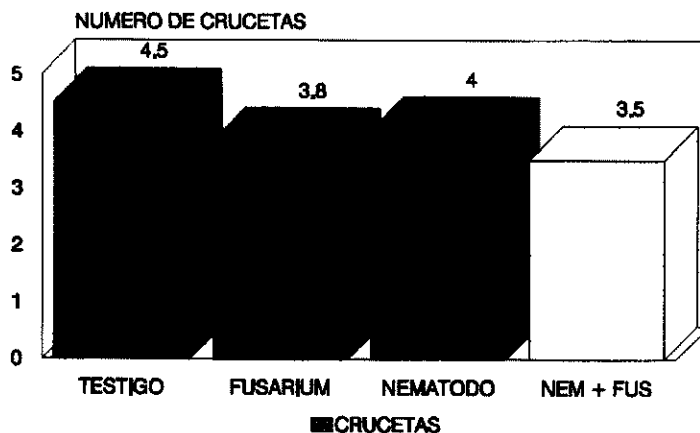


Figura 4 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de crucetas en plantas de café con injerto. Jardín Botánico. 95/96

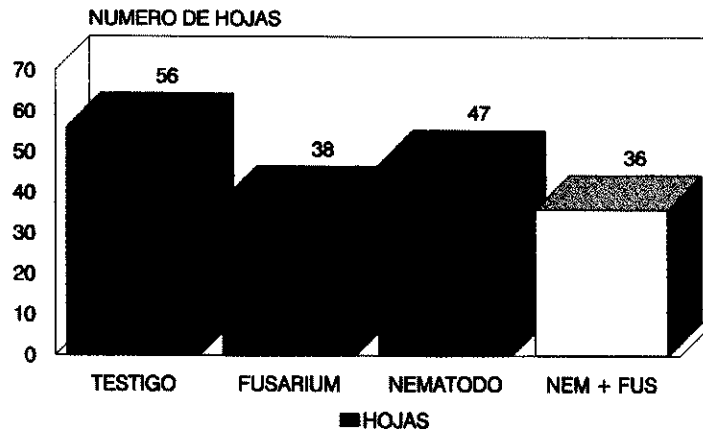


Figura 5 : Efecto de *Fusarium ox.* y *Meloidogyne* sobre el promedio de hojas en plantas de café con injerto , Masatepe - Masaya, 95 / 96

Sin embargo, en el peso fresco de la raíz (figura 6) el mayor promedio(29) se presentó en el tratamiento testigo(café solo) en comparación con los tratamientos *Meloidogyne*(23), *Fusarium* (26), *Meloidogyne + Fusarium* con promedios de (21.7).

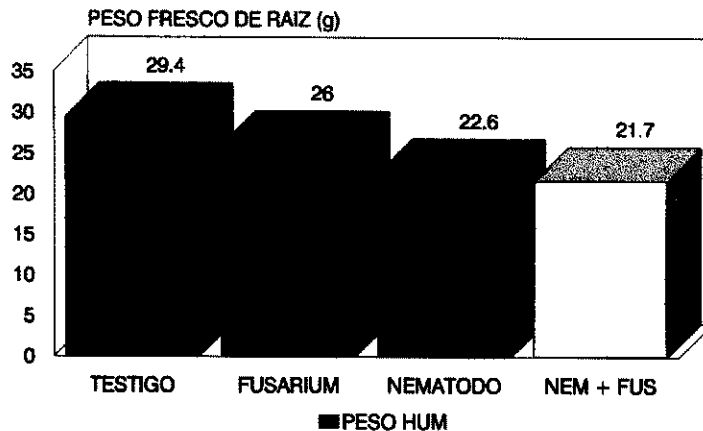


Figura 6 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de peso húmedo en plantas de café con injerto, Jardín Botánico.. 95/96.

El análisis de varianza del porcentaje de raíces agalladas, el tratamiento *Meloidogyne* - *Fusarium* mostró diferencia significativa en relación a los tratamientos *Meloidogyne* solo, *Fusarium* solo y testigo, (figura 7).

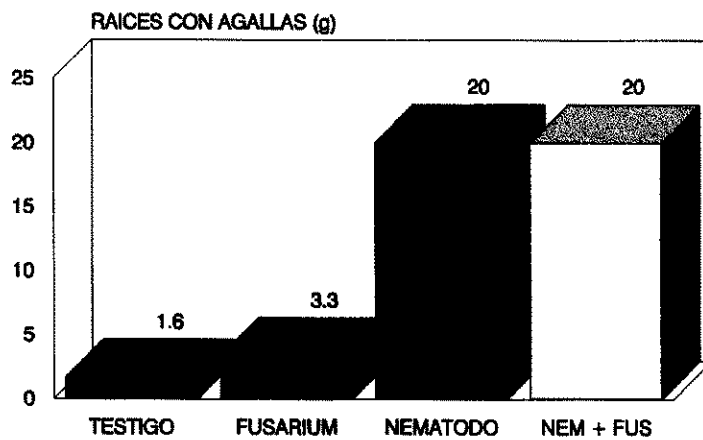


Figura 7: Efecto de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de raíces con agallas en plantas de café con. Masatepe - Masaya 95/96

Plantas no injertadas

Hubo diferencias significativas entre los tratamientos para las variables altura y diámetro del tallo. La menor altura la presentó el tratamiento *Meloidogyne + Fusarium* con un promedio de (42) (figura 8), en cambio el diámetro mayor fue presentado por el tratamiento testigo(21.6) (figura 9).

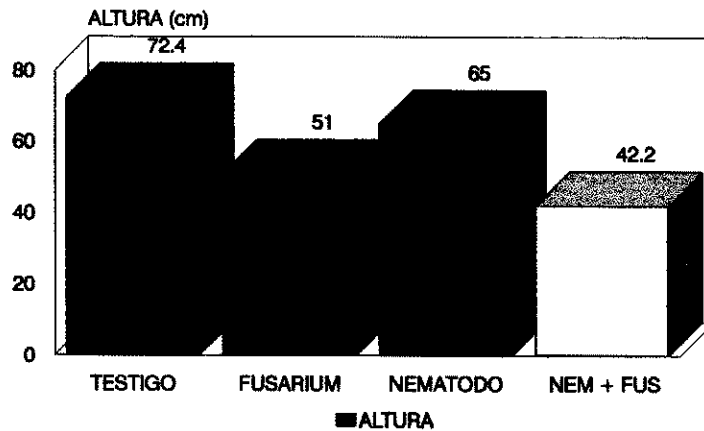


Figura 8 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de altura en plantas de café sin injerto. Jardín Botánico. 95/96

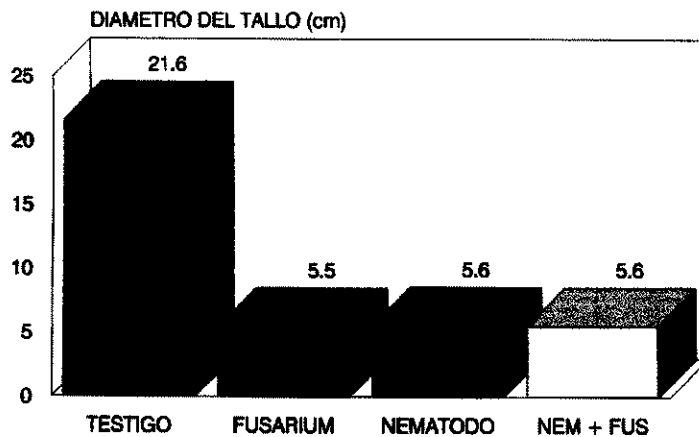


Figura 9 : Efecto de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de diámetro del tallo en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95/96

En lo que concierne al número de crucetas, estadísticamente se encontró diferencia significativa entre los diferentes tratamientos($F=9.1$, $gl=3$, $P=0.01$) donde el mayor promedio fue presentado por el testigo(5), (figura 10).

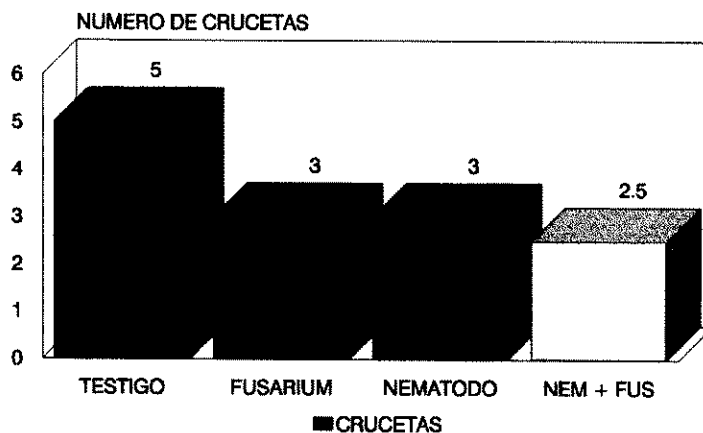


Figura10 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de crucetas en plantas de café sin injerto. Jardín Bótánico. 95/96

El análisis estadístico para el número de hojas mostró diferencia significativa ($F=64$, $gl=3$, $P= 0.01$) donde el promedio mas bajo correspondió al tratamiento ***Meloidogyne + Fusarium*** en comparación con los tratamientos, ***Fusarium***, ***Meloidogyne*** y testigo (figura 11).

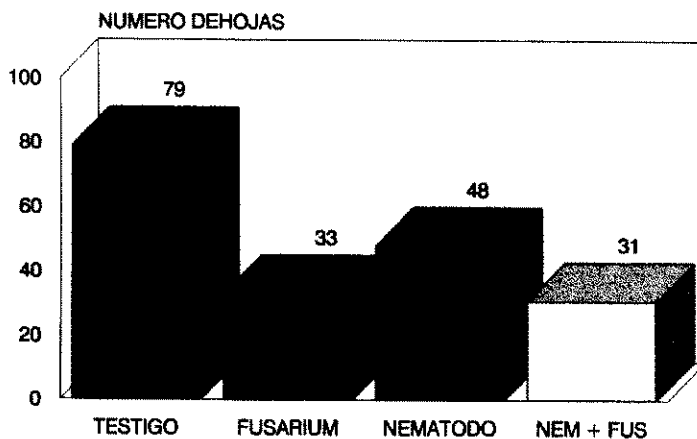


Figura 11 : Efecto de *Fusarium* y *Meloidogynes* sobre el promedio de hojas en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95/96

El peso fresco de las raíces de café fué estadísticamente diferente ($F=4.4$, $gl=3$, $P=0.01$) en los tratamientos evaluados, (figura 12). Donde la interacción ***Meloidogyne + Fusarium*** presentó el menor promedio de raíces y el tratamiento testigo presentó el mayor peso fresco de raíz.

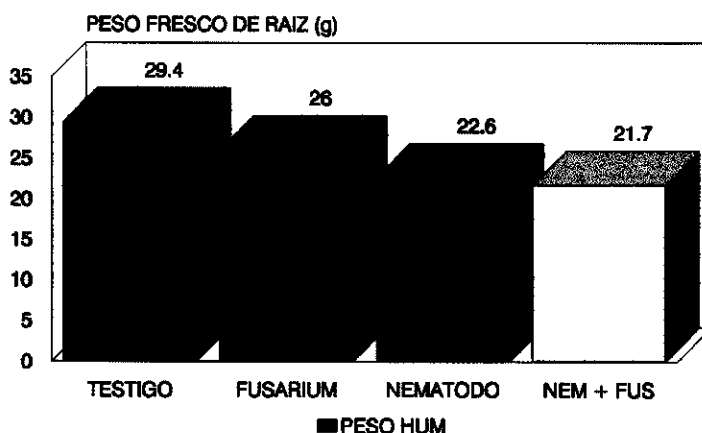


Figura 1 2: Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de peso húmedo en plantas de café sin injerto. . Jardín Botánico.. 95/96.

La Figura 13 muestra el porcentaje de raíces con agallas de las plantas inoculadas con ***Meloidogyne sp.*** como se observa las plantas de cafeto sin injerto resultaron severamente agalladas, presentandose diferencias altamente significativa entre los tratamientos($F= 19.7$, $gl= 3$, $P= 0.01$) mientras que las plantas con injerto presentaron un agallamiento muy ligero, lo cual indica que en las plantas con injerto el daño fué muy bajo, ya que el nematodo se desarrolló pero no interactuó con el hongo, haciendonos suponer que aunque esté presente el patógeno (nematodo) no se presentaron las condiciones adecuadas para que ***Meloidogyne sp.*** se desarrollara, viéndose limitado para reproducirse en las

raíces de las plantas injertadas. Estas plantas estaban injertadas sobre un patrón de robusta el cuál presenta un sistema radical muy desarrollado, lo que nos hace suponer que fué un factor para impedir que *Fusarium* penetrara a la planta con mayor agresividad.

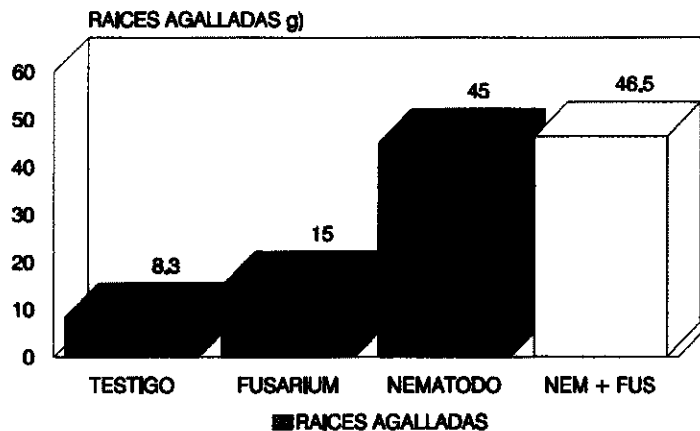


Figura 13: Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de raíces agalladas en plantas sin injerto. Jardín Botánico. 95/96

En ambos ensayos (plantas injertadas y no injertadas) no se presentaron síntomas de marchitez, pero si fue evidente la presencia de los síntomas internos provocados por *Fusarium* tales como estrías rojizas en los haces vasculares del tallo, de donde se aisló el *Fusarium* inoculado.

Estos resultados obtenidos del ensayo de interacción tienen mucha más importancia por el hecho de que diversas especies de *Meloidogyne sp.* Se han reportado que aceleran e incrementan el desarrollo del síntoma de la marchitez al asociarse con *Fusarium* en diferentes cultivos (Hillocks, 1985; citado por Calderón 1989). Pero aunque hubo una asociación entre ambos organismos se presentaron dos elementos relevantes en este trabajo, uno es el hecho que el

injerto aunque sea infectado por el nematodo no le produce mayor daño, y el segundo parece ser que el *Fusarium* requiere que haya una convivencia planta - nematodo de suficiente tiempo, para poder ser estimulado en su agresividad.

5.4 EVALUACION DE LA INTERACCION *Meloidogyne* sp. - *Fusarium oxysporum* EN LA VARIEDAD CATRENIC

Las primers evidencias de síntomas se presentaron en las plantas a las 91 días después de ser inoculadas, mostrando una ligera clorosis y una leve flacidez en sus hojas. Los síntomas más claros de la enfermedad se presentaron a los 244 días (8 meses), mostrando las plantas amarillez total de sus hojas, flacidez, retardo de crecimiento y una defoliación parcial de la planta; en trabajos anteriores los síntomas severos se han presentado a los 14 meses después de la inoculación (Marban 1988). La presencia de clorosis internerval de las hojas jóvenes se ha atribuido a la deficiencia de hierro en la planta sugiriendo la posibilidad de que el decaimiento progresivo de café sea debido a la interferencia del complejo patogèno con el metabolismo de la planta (Monterroso, 1973).

El análisis estadístico para la variable de crecimiento de la planta; revela que la altura no mostró diferencia significativa entre los tratamiento *Meloidogyne*, *Fusarium* y *Meloidogyne + Fusarium* y el tratamiento testigo, (Figura 14).

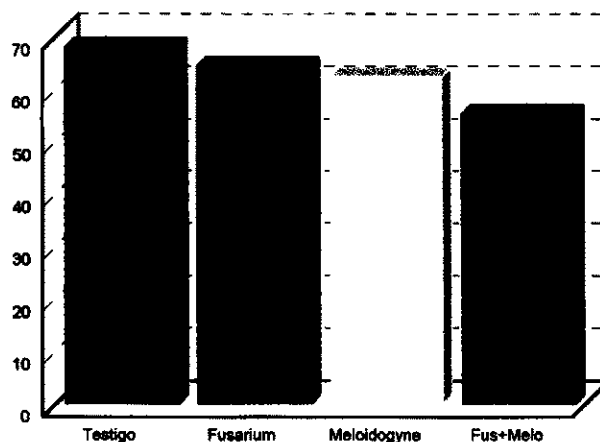


Fig.14: Efecto de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de altura en plantas de café variedad Catrenic, Masatepe - Masaya 95/96/

Tal situación indica que bajo las condiciones del estudio la presencia del inóculo no causó ningún efecto en el crecimiento (elongación) de la planta de la variedad Catrenic.

Diferencias altamente significativas se detectaron con las variables: diámetro del tallo, número total de hojas, peso fresco de raíz y número de crucetas, en las plantas de café que fueron inoculadas con ambos organismos (*Meloidogyne* + *Fusarium*) en comparación con las que tuvieron solamente a *Meloidogyne* o a *Fusarium* y consecuentemente con el testigo.

El tratamiento que presentó mayor porcentaje de agallamiento fue *Fusarium* + *Meloidogyne* en comparación con el tratamiento testigo. Se observó que entre mayor porcentaje de agallas existía en las raíces, menor era el peso fresco en estas (Figura 15). Esto debido a que el nematodo se alimenta del tejido de las raíces degradándolo y debilitándolo causando la pérdida de peso de éstas.

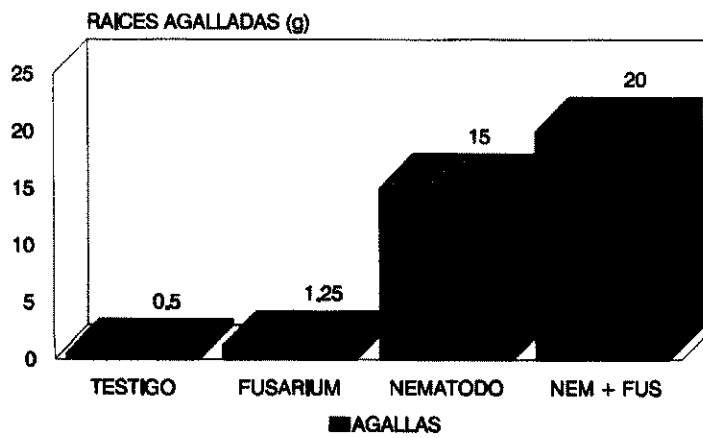


Figure15 : Efecto de la Inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de raíces agalladas en plantas de café variedad catrenic. Jardín Botánico, Masatepe - Masaya. 95/96

El análisis estadístico para la variable peso fresco de raíz mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($F= 7.5$; $gl= 3$; $P= 0.00$) el tratamiento *Fusarium + Meloidogyne* presentó el promedio menor, (13 g) en comparación a los tratamientos *Meloidogyne*, *Fusarium* y testigo (figura 16). El mayor promedio en diámetro del tallo se presentó en el tratamiento Testigo (2.7) y el menor, en el tratamiento *Fusarium + Meloidogyne* (1.7) (Figura 17).

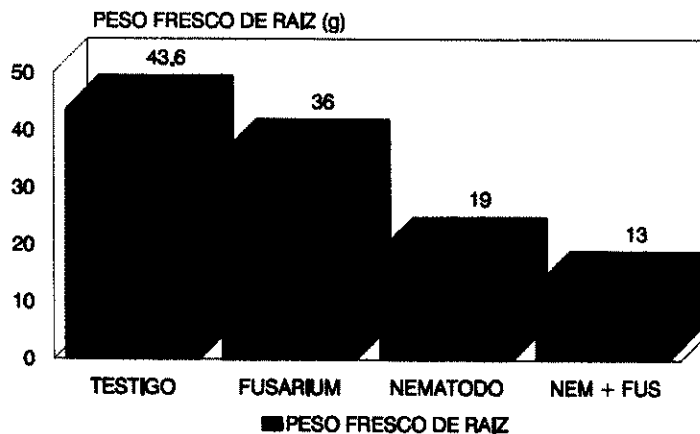


Figure16 : Efecto de la Inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de peso fresco de raíz en plantas de café, variedad catrenic Jardín Botánico. Masatepe - Masaya 95/96

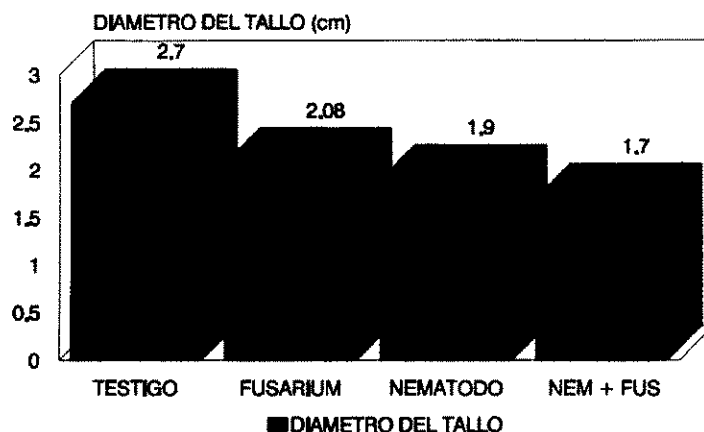


Figura17 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de diámetro del tallo en plantas de café, variedad catrenic Jardín Botánico. Masatepe - Masaya 95/96

El ANDEVA para el número de crucetas en los diferentes tratamiento mostró diferencias significativas ($F= 17.36; g_l=3; P= 0.001$) el tratamiento que presentó el menor número promedio de crucetas fue el tratamiento ***Fusarium + Meloidogyne*** en comparación con el tratamiento testigo, el tratamiento ***Fusarium*** y el tratamiento ***Meloidogyne*** (Figura 18).

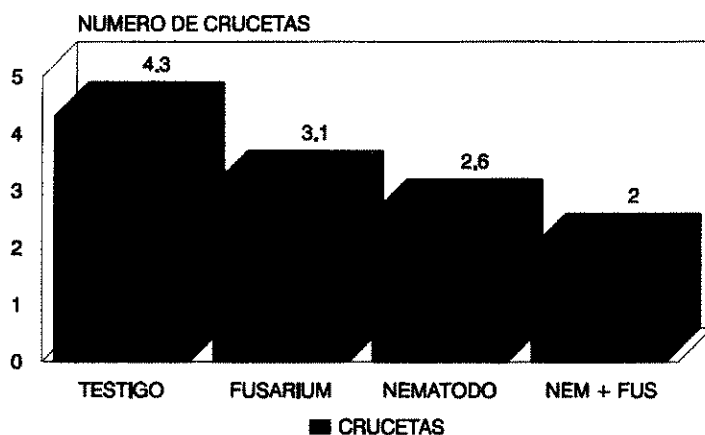


Figura18 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de número de crucetas en plantas de café, variedad catrenic Jardín Botánico. Masatepe - Masaya 95/96

El menor promedio de número total de hojas se presentó en el tratamiento ***Fusarium + Meloidogyne*** en contraste con el tratamiento Testigo que presentó el mayor promedio de hojas el análisis estadístico para esta variable presentó diferencias altamente significativa entre los diferentes tratamiento ($F= 34.6$; $gl= 3$; $P= 0.01$) (Figura 19).

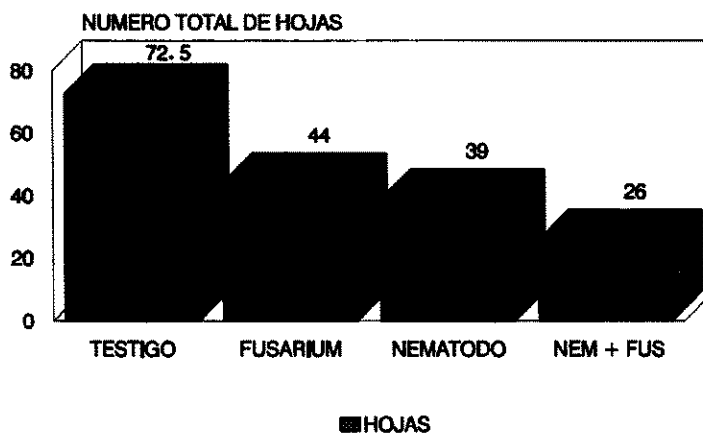


Figura19 : Efecto de la inoculación de *Fusarium* y *Meloidogyne* sobre el promedio de número de hojas en plantas de café, variedad catrenic Jardín Botánico. Masatepe - Masaya 95/96

Es evidente que el daño detrimental de la asociación hongo - nematodo en el cafeto fue mayor que el ocasionado solamente por ***F. oxysporum*** o por ***Meloidogyne sp.***

Estos resultados indican que la asociación de ***F. oxysporum*** y ***Meloidogyne*** está participando en la mortalidad de las plantas observadas en el campo y que la presencia de ambos patógenos hace que se produzca un fenómeno de

sinergismo, lo que viene a incrementar los síntomas de la enfermedad causando un cuadro claro de deterioro de las plantas de café.

Además, el efecto de estar *Meloidogyne sp.* naturalmente en las plantas (no fue inoculado) hizo que *Fusarium ox.* penetrara con mayor rapidez ya que *Meloidogyne* tuvo un mayor tiempo para establecerse en la planta, creando condiciones adecuadas para asociarse con *Fusarium*, en las raíces de las plantas inoculadas con ambos organismos se presentaba un necrosamiento generalizado y poco desarrollo.

Sin embargo, a pesar que la interacción tuvo mayor efecto en las plantas de la variedad, no se pudo con esta asociación reproducir el síntoma observado naturalmente y previamente descrito.

V CONCLUSIONES

- 1 - En muestras de campo el hongo encontrado mas frecuentemente en el laboratorio fue ***F. oxysporum fs.***
- 2 - De acuerdo a nuestro estudio ***F. oxysporum*** es el agente causal de la enfermedad Marchitez Lenta del Café.
- 3 - El mejor método de inoculación para inocular plantas de café fué el de poda o inmersión.
- 4 - Los materiales (plantas) injertados presentan mayor resistencia /tolerancia a la enfermedad Marchitez Lenta del Café. ***Meloidogyne sp.*** provoca mayor número de nódulos en plantas sin injerto.
- 5 - Las plantas evaluadas de la variedad Catrenic resultaron susceptibles al desarrollo de la enfermedad Marchitez Lenta del Café.
- 6 - La asociación ***Meloidogyne sp. y F. oxysporum*** causan un mayor efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto que cuando se inoculan por separado esto quiere decir que son organismos sinérgicos.

- 7 - En la variedad Catrenic, al ser inoculada con *Meloidogyne* y *Fusarium* los síntomas externos fueron mas evidentes que en los otros ensayos lográndose casi una similitud con la sintomatología que se presenta de forma natural en el campo.
- 8 - Las plántulas infestadas de forma natural con nematodos hacen más eficiente la entrada del hongo que plantas inoculadas artificialmente, lo que agiliza el desarrollo de la enfermedad.

VI RECOMENDACIONES

- 1 * Para lograr un buen manejo de la enfermedad marchitez lenta, deben continuarse estudios sobre el comportamiento de ella, ya que son muchas las interrogantes que aún quedan dado su complejidad.

- 2 * Para propuesta de investigación *Fusarium - Meloidogyne*, la inoculación con *Meloidogyne* debe hacerse con mas tiempo antes que la inoculación con *Fusarium*.

- 3 * Realizar evaluaciones con diferentes niveles de inóculo tanto de hongo como de nematodo con el objetivo de ver su efecto en el tiempo de desarrollo de la marchitez.

- 4 * En futuras evaluaciones de la enfermedad marchitez lenta se deben tomar en cuenta factores como: Manejo de sombra, tipo de suelo, tipo de clima, altura, niveles de fertilización, contenido de materia orgánica ya que el hongo y el nematodo necesitan condiciones especiales para desarrollarse.

5 * Continuar evaluando diferentes variedades de cafeto para determinar su resistencia a la enfermedad Marchitez Lenta del Café.

6 * En condiciones de campo se debe diseñar un buen manejo de nematodos ya que la presencia de éstos favorecen el desarrollo de la enfermedad.

VII BIBLIOGRAFIA

- 1- **AGRIOS, G.N.** 1991. Fitopatología. M. Guzmán Ortiz. (Trad.) 5ta reimp.Limusa, México. p.664.; 666.; 39.; 41.; 43.
- 2-**BLANDON RIVERA. A. M.** 1992. Evaluación de seis fungicidas "In Vitro" para el manejo de tres patógenos del cafeto (*coffea arabica* L.) Región VI. Tesis Ing. gr.Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria, Escuela de Sanidad Vegetal. P . 6.
- 3- **BLANDÓN, A. M.; GARCÍA, P.; MONTERROSO, D.; BARBOSA, I.**1993. Identificación de Organismos Asociados a la Marchitez Lenta del Cafeto. Región VI, Nicaragua. In . Avances Técnicos. Enero -Noviembre, 1993. Proyecto Manejo Integrado de Plagas. CATIE/MAG-MIP. Nicaragua. p. 13 (Tomo III).
- 4- **BARRIOS, M.; UBEDA, R.** 1996. Principales plagas y enfermedades del cafeto. Guía de Campo. UNICAFE -CATIE. Managua, Nicaragua. p. 48.
- 5- **CALDERÓN, P. J.; HERNÁNDEZ, B.; LÓPEZ, G. E.; MONTERROSO, S. D.; LÓPEZ, C.** 1993. Diagnóstico de Distribución de la Marchitez Lenta del Café en la región IV de Nicaragua. In. Avances Técnicos Enero- Noviembre, 1993. Proyecto Manejo Integrado de Plagas.CATIE/MAG-MIP. Nicaragua. p. 14(Tomo III).
- 6- **CALDERON VEGA, M.** 1989 Reacción de diferentes genotipos de café a *Meloidogyne arabicida* López y Salazar (1989), Gama de Hospedantes y hongos fitopatógenos asociados.Tesis Mg. Sc Turrialba, Costa Rica. CATIE, Programa de Enseñanza. Area de Postgrado.p. 5,6,7,10,11,12.
- 7- **N. MARBAN. MENDOZA.** 1992. La corchosis del Cafeto en México. In Simposio latinoamericano de caficultura.Resumenes). (15va.; 21 - 24 de Julio,1992. Xalapa, México). SARH-Instituto Mexicano del Café-IICA.(p.irr).
- 8- **DEACON, J. W.** 1990. Introducción a la Micología Moderna. Noriega (edit). J. Jiménez Ortega (Trad). Limusa, México. p. 19,20.
- 9- **KRANK. J; SCHMUTTERER. H; KOCH. W** (edits) 1982. Enfermedades, Plagas y Malezas de los Cultivos Tropicales. Verlag Paul Parey, Berlin. p. 217.

- 10- **FRENCH, E. R.; HEBERT, T.T.** 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. IICA. San José, Costa Rica. p. 177 (Serie: Libros y Materiales Educativos No 43).
- 11- **GARCIA DE LA ROSA, J.** 1990. Hongos del Suelo: ¿Patógenos o Saprófitos?. 4p. (* Ponencia presentada el 29 de Junio 1990, en la Facultad de Agrobiología de la Universidad Autónoma de Michoacán, Mexico.
- 12- **GÓNGORA, J. L.; MONTERROSO, S. D.** 1992. Catálogo para la Identificación de las Enfermedades del Café. En. Avances Técnicos. Abril, 1990-Marzo, 1992. Proyecto Manejo Integrado de Plagas. CATIE/MAG - MIP. Nicaragua. p.43.
- 13- **HERRERA SIRIAS. C. I.** 1995. Efecto de coberturas vivas de leguminosas en el control de nematodos fitoparásitos del café. Tesis Mg. Sc. Turrialba. Costa Rica. CATIE, Programa de enseñanza. Area de Postgrado. p. 4, 5, 7.
- 14- **MONTERROSO SALVATIERRA, D.** 1973 estudios de los nematodos que atacan el café (*Coffea arabica* L.), su distribución en Puerto Rico y algunas alternativas de control. Tesis Mg. Sc. Mayaguez, Puerto Rico. p.99.
- 15- **MONTERROSO SALVATIERRA, D.** 1994. Guía Metodológica para el Proceso de Investigación de la Marchitez Lenta del Café. 2p.
- 16- **MONZON CENTENO, A.J.** 1992 Distribución de *Verticillium* sp. en tres zonas cafetaleras de Nicaragua, y evaluación de dos aislamientos de hongos como agentes de control biológico de la Roya (*H.vastatrix*) del café (*Coffea arabica* L). Tesis Mg. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE, Programa de enseñanza. Area de Postgrado. P.1.
- 17- **NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES.** 1980. Control de Nematodos Parásitos de plantas. J. Mesa Falliner (trad). Limusa, México. p. 89, 91. (Vol. 4. Control de Nematodos parásitos de Plantas).
- 18- **NOSTI NAVA, J. (S.F.).** Cacao y Café. Revolucionaria. La Habana, Cuba. p. 42.
- 19- **ROMAN J.** 1978. Fitonematología Tropical. Universidad de Puerto Rico, Estación Experimental Agrícola. Río de Piedra, Puerto Rico. p. 29.
- 20- **UNICAFE.** Principales Resultados del Ciclo Cafetalero 1994/1995. Vicegerencia de Planificación El Caficultor. Revista del Productor Cafetalero (Nicaragua). Año 3(12):3 - 4.

21- **WALKER, J. CH.** 1975. **Patología Vegetal.** A. Aguirre Azpeitia (trad.)3ra (Edc). Omega, Barcelona. p. 676.

VII ANEXOS

ANEXO: 7. Análisis de Varianza de el No de crucetas de plantas de Menor edad (29 meses): Ensayo cafeto-hongo.

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	251.770	83.923	58.956	0.000 **
Error	607	864.053	1.423		
TOTAL	611		CV 0.309	R2 0.22	

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 8: Analisis de varianza del No de crucetas de plantas de mayor edad (34 meses) Ensayo cafeto -hongo

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	1322.036	440.679	113.330	0.000 **
Error	867	3371.303	3.888		
TOTAL	871		CV 0.57	R2 0.28	

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 9: Análisis de Varianza del No de hojas de plantas de Menor edad (29 meses): Ensayo cafeto-hongo.

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	13810.472	4603.491	10.807	0.000 **
Error	607	258563.213	425.969		
TOTAL	611	CV	0.58	R2	0.051

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 10: Análisis de Varianza del No de hojas de plantas de Mayor edad (34 meses): Ensayo cafeto-hongo.

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	118169.799	39389.933	34.245	0.000 **
Error	868	998409.100	1150.241		
TOTAL	872	CV	0.61	R2	0.106

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 11: Análisis de Varianza del Peso húmedo de la raíz en plantas de Menor edad (29 meses): Ensayo cafeto-hongo.

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	11274.104	3758.035	8.056	0.000 **
Error	46	214559.761	466.517		
TOTAL	50		CV 0.49	R2 0.344	

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 12: Análisis de Varianza del Peso húmedo de la raíz en plantas de Mayor edad (34 meses): Ensayo cafeto-hongo.

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	11584.437	3861.479	4.221	0.009 **
Error	55	50310.100	914.729		
TOTAL	59		CV 0.78	R2 0.187	

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 13: Análisis de Varianza de la altura de plantas sin injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	26637.985	8879.328	37.474	0.000 **
Error	658	155910.608	236.946		
TOTAL	662	CV	0.252	R2	0.146

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 14: Análisis de Varianza de el No de crucetas de plantas con injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	86.338	28.779	5.452	0.001 **
Error	657	3467.922	5.278		
TOTAL	661				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 15: Análisis de Varianza del No de Crucetas en plantas sin injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	722.897	240.966	9.146	0.000 **
Error	658	1778.607	2.703		
TOTAL	662		CV 0.541	R2	0.289

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 16: Análisis de Varianza del No de hojas en plantas con injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	17327.871	5775.957	5.1318	0.001 **
Error	659	715757.833	1086.127		
TOTAL	663				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 17: Análisis de Varianza del No de hojas en plantas sin injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	188104.776	62701.592	64.099	0.000 **
Error	659	644633.897	978.200		
TOTAL	663		CV 0.674	R2	0.226

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 18: Análisis de Varianza del peso húmedo de la raíz en plantas sin injerto. Ensayo: Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	6973.331	2324.444	4.433	0.007 **
Error	56	29364.673	524.369		
TOTAL	60		CV 0.866	R2	0.192

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 19: Análisis de Varianza de el No de agallas en plantas con injerto. Ensayo : Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	4614.583	1538.194	8.911	** 0.000
Error	56	115503.349	2062.560		
TOTAL	60				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 20: Análisis de Varianza de el No de agallas en plantas sin injerto. Ensayo : Interacción

FV	GL	SC	CM	FC	P	
Tratamientos	3	17864.583	5954.861	19.713	** 0.000	
Error	56	16916.667	302.083			
TOTAL	60		CV	0.845	R2	0.541

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 21: Análisis de Varianza de el No de agallas en plantas de la variedad Catrenic. Ensayo : CATRENIC

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	5128.081	1709.360	20.474	0.000 **
Error	67	5593.750	83.489		
TOTAL	71				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 22: Análisis de Varianza de el peso húmedo de la raiz en plantas de la variedad Catrenic. Ensayo: CATRENIC

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	9171.637	3057.212	7.545	0.000 **
Error	67	27147.227	405.182		
TOTAL	71				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 23: Análisis de Varianza de el diametro del tallo en plantas de la variedad Catrenic. Ensayo: CATRENIC

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	7.069	2.356	5.385	0.002 **
Error	67	29.315	0.438		
TOTAL	71				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 24: Análisis de Varianza de el No de crucetas en plantas de la variedad Catrenic. Ensayo: CATRENIC

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	110.917	36.972	17.367	0.000 **
Error	67	142.632	2.129		
TOTAL	71				

** Diferencia altamente significativa al 1 %

ANEXO 25: Análisis de Varianza de el No de hojas en plantas de la variedad Catrenic. Ensayo: CATRENIC

FV	GL	SC	CM	FC	P
Tratamientos	3	28922.191	9640.730	34.665	0.000 ^{**}
Error	67	18633.245	278.108		
TOTAL	71				

** Diferencia altamente significativa al 1 %