

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA-LEON
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA
CARRERA INGENIERÍA EN AGROECOLOGIA TROPICAL



Evaluación de *Trichoderma harzianum* como agente de control biológico de enfermedades fungosas de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado en la finca La Cumplida, San Ramón, Matagalpa.

PRESENTADO POR:

Br. ROLANDO JOSÉ MÉNDEZ MAYORGA

Br. RAFAEL MAURICIO REYES VELÁSQUEZ

“Previo para optar al título de Ingeniero en Agroecología Tropical”

TUTOR:

M.Sc WILBER SALAZAR ANTÓN

ASESOR:

Ing. JUAN RAFAEL REYES MARÍN

León, Febrero 2010

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO.....	i
DEDICATORIA.	ii
RESUMEN.	iv
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. OBJETIVO.	3
III. HIPÓTESIS.....	4
IV. MARCO TEÓRICO.	5
4.1 Generalidades del cultivo.	5
4.2 Descripción botánica.	5
4.3 Condiciones edafoclimáticas.	6
4.4 Propagación del café.	7
4.5 Embriogénesis somática.	7
4.6 Cultivo de tejido del café.	8
4.7 Fases de la Embriogénesis Somática de Alta Frecuencia en el cultivo de café... 10	
4.8 Enfermedades de suelo.	11
4.9 <i>Trichoderma harzianum</i>	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS.	17
5.1 Ubicación del estudio.	17
5.2 Establecimiento del ensayo.	17
5.3 Operacionalización de las variables.	19
5.4 Análisis Estadístico.	19
5.5 Análisis Económico.	20
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	21
6.1 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre el desarrollo fenológico de plántulas de café clonado.	21
6.1.1 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre la altura de las plántulas de café clonado.	21
6.1.2 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre el diámetro en plántulas de café clonado.	23
6.1.3 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre el número de hojas en plántulas de café clonado.	25
6.1.4 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre el peso de plántulas de café clonado.	27
6.2 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre la incidencia de enfermedades de suelo en plántulas de café clonado.	29
6.2.1 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre la incidencia de plántulas enfermas de café clonado.	29
6.2.2 Efecto de <i>Trichoderma</i> sp sobre la mortalidad de las plántulas de café clonado.	31
6.3 Análisis económico del cultivo de café clonado bajo cada tratamiento (<i>Trichoderma harzianum</i> y Benomilo).	33
VII. CONCLUSIONES.	36
VIII. RECOMENDACIONES.....	37
IX. BIBLIOGRAFIA.....	38
ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba de muestras independientes para la variable altura de plántulas de café clonado.....	22
Tabla 2. Prueba de muestras independientes para la variable diámetro de plántulas de café clonado.....	24
Tabla 3. Prueba de muestras independientes para la variable número de hojas en plántulas de café clonado.....	26
Tabla 4. Prueba de muestras independientes para la variable peso de plántulas de café clonado.....	28
Tabla 5. Prueba de muestras independientes para la variable incidencia de plántulas enfermas de café clonado.....	30
Tabla 6. Prueba de muestras independientes para la variable mortalidad de plántulas de café clonado.....	32

ÍNDICE DE GRAFICO

Altura de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	22
Diámetro de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	24
Número de hojas en plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	26
Peso de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	28
Incidencia de plántulas enfermas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	30
Mortalidad de plántulas enfermas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (<i>Trichoderma harzianum</i>) y el tratamiento químico (Benomilo).....	32

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a DIOS por habernos regalado a nuestra familia la cual nos brindo fortaleza y apoyo para vencer obstáculos que se nos presentaron a lo largo de nuestra carrera.

A nuestro tutor M.Sc Wilber Salazar Antón por ayudarnos a realizar esta investigación y transmitirnos sus conocimientos.

A nuestro asesor Ing. Juan Rafael Reyes por compartir conocimientos, brindarnos su tiempo y ayudarnos a realizar nuestra investigación.

A los Ing. David Estrada y Erling Torrez por brindarnos apoyo y tiempo en el desarrollo de este trabajo.

Y cada una de las personas que no mencionamos, pero que no dejan de ser importantes, gracias por su colaboración y su ayuda desinteresada

DEDICATORIA

A DIOS por concederme la vida y la oportunidad de culminar mis estudios universitarios.

A mi abuela Tomasa Baca (Q.E.P.D) por brindarme en vida su amor y apoyo incondicional.

A mis padres quienes con muchos esfuerzos y sacrificios me brindaron su apoyo económico, comprensión y me motivaron en muchos momentos difíciles.

A mis hermanos por brindarme consejos y motivación.

A mí tía Martha Nidia Méndez por brindarme su amor y ayuda incondicional en el transcurso de mi carrera.

Rolando Méndez

DEDICATORIA

A DIOS por darme la vida y darme a mis padres.

A mis padres por brindarme apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida ya que sin ellos no hubiese llegado a culminar mis estudios.

A mi señora e hijo por ser uno de los motores que me dan fuerza para salir adelante.

A mi hermano, hermana y a mi abuela Mercedes García (Q.E.P.D), por regañarme y aconsejarme.

Rafael Reyes

RESUMEN

El café es considerado un producto básico de gran importancia para la economía mundial; este se ve afectado por diversas enfermedades de suelo. En este estudio se evaluó la eficacia de *Trichoderma harzianum* sobre patógenos de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado en fase 5, propiedad de ECOM-CIRAD, ubicado en la hacienda La Cumplida en el departamento de Matagalpa. Las plántulas fueron divididas en 2 tratamientos: Biológico (*Trichoderma harzianum*) y Químico (Benomilo), teniendo cada uno 324 plántulas, de estas se muestrearon 65 plántulas (20%). Las variables medidas fueron altura, número de hoja, diámetro de tallo, peso, incidencia de enfermedades y mortalidad. La variedad utilizada fue Centroamericano (H1). Las plántulas se obtienen cortando hojas maduras de las plantas madres, desinfectándolas en cloro, se cortan los explantes foliares a 7 mm², se colocan en cajas petri que contienen medio salino solidificado con agar se da origen a embriones somáticos y finalmente plántulas. Se realizó una comparación de muestras independientes, con el fin de comparar 2 muestras aleatorias del Benomilo y *Trichoderma*. Presentando *Trichoderma* promedios en altura de 2.98 cm, diámetro 2.53 mm, número de hojas 8.86, peso 1.78 g, plántulas enfermas 0.4, plántulas muertas 2, costo de producción C\$ 2854.79; Benomilo presentó promedios de altura de 3.06 cm, diámetro 2.55 mm, número de hojas 8.78, peso 1.22 g, plántulas enfermas 1, plántulas muertas 4, costos de producción C\$2851.86.

I. INTRODUCCIÓN

El café se considera como un producto básico de gran importancia para la economía mundial y hasta el inicio de la crisis internacional del café, era el segundo producto con más valor en el mercado después del petróleo (Rivas, 2008).

A nivel mundial, aproximadamente 25 millones de productores dependen directamente del café para subsistir, en tanto otros 75 millones de personas se ocupan en las tareas de su manipulación y comercio en más de 50 países en desarrollo para un total mundial de 10.21 millones de hectáreas para el 2007 (Rivas, 2008).

Partiendo de estos datos no es difícil llegar a la conclusión de que hay muchas naciones cuya economía se sustenta en mayor o menor medida en su capacidad de producción y exportación de café (Rivas, 2008).

Centroamérica posee las condiciones edafoclimáticas ideales para producir todas las variedades de café pero su potencial no se explota plenamente. Guatemala, Honduras y Nicaragua presentan condiciones edafoclimáticas como para alcanzar mejores niveles de productividad para competir en el mercado mundial del grano de oro (Rivas, 2008).

La caficultura Nicaragüense está dotada de una enorme riqueza ya que cuenta con suelos volcánicos y clima favorable que permiten la producción de café de alta calidad. Actualmente, se estima que en Nicaragua unas 143,388 mz están cultivadas con café y más de 30,000 familias cafetaleras repartidas entre el Mombacho, Carazo, Matagalpa, Jinotega y las Segovias (Guharay et al, 2000).

Uno de los factores limitantes en la producción de plántulas de café son las enfermedades causadas por el complejo Damping off: (*Rhizoctonia solani*, *Pythium*, *Fusarium*) causante de la muerte de plántulas.

Históricamente se ha dependido del uso unilateral de agroquímicos para el control de estos patógenos, lográndose control limitado, altos costos y contaminación ambiental; debido a lo anterior, el uso de control biológico está siendo utilizado más comúnmente en los últimos años.

Entre los agentes de control biológico más importantes se encuentran los hongos pertenecientes al género *Trichoderma*, que son capaces de controlar un amplio rango de patógenos de plantas de interés agrícola. Además algunas especies de este género poseen capacidad de bioestimulación de crecimiento en algunos cultivos (Howell, 2003).

Sin embargo, a pesar del éxito relativo, todavía no ha sido posible alcanzar los niveles deseados en el control de enfermedades de suelo, debido en parte a que se conoce muy poco acerca del establecimiento, proliferación y supervivencia de este antagonista en sustratos naturales.

Debido a la incidencia de las enfermedades de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado, este estudio pretende demostrar la eficacia de *Trichoderma harzianum* en el control de dichas enfermedades, con esto se estará logrando mayores niveles de producción de plantas sanas.

II. OBJETIVOS

General:

Evaluar la eficacia de *Trichoderma harzianum* sobre patógenos de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado.

Específico:

Determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo fenológico de plántulas de café clonado.

Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de enfermedades de suelo en plántulas de café clonado.

Comparar el costo de producción de plántulas de café clonado, entre el tratamiento biológico (*Trichoderma harzianum*) y el tratamiento químico (Benomilo).

III. HIPOTESIS

H₀: No existe diferencia significativa entre el tratamiento biológico (*Trichoderma harzianum*) y el tratamiento químico (Benomilo) para el control de enfermedades de suelo.

H_a: Existe diferencia significativa entre el tratamiento biológico (*Trichoderma harzianum*) y el tratamiento químico (Benomilo) para el control de enfermedades de suelo.

IV. MARCO TEORICO

4.1 Generalidades del cultivo de café:

4.1.1 Origen:

El cultivo de café (*Coffea arabica*), pertenece a la familia Rubiaceae, originario de Etiopia y Sudan, África; fue llevado al Salvador en 1740, a Guatemala en 1750, Bolivia, Ecuador y Panamá 1784 y por ultimo Costa Rica procedente de Cuba y Guatemala por los años 1796 y 1798 (Zamora, 1998).

Según Pablo Levy, en Nicaragua las primeras plantas de café fueron sembradas, en el año 1848, en Jinotepe, Carazo.

4.1.2 Taxonomía del cultivo según Zamora, (1998):

Reino: Vegetal

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Asteridae

Orden: Rubiales

Familia: Rubiaceae

Género: *Coffea*

Especie: *arabica*

4.2 Descripción Botánica:

La planta de café tiene un solo eje donde hay un crecimiento activo permanente, que va alargando el tallo formando nudos y entrenudos. Las ramas laterales se alargan y la parte superior del eje vertical continúa creciendo así se produce nuevas ramas en diversos ángulos adquiriendo así una forma cónica.

El eje central solo produce yemas vegetativas. Las ramas laterales llamadas bandolas son las ramas primarias y dan origen a ramas secundarias, de las cuales pueden salir ramillas terciarias. Las ramas secundarias y terciarias constituyen lo que se llama palmilla.

Si el punto de crecimiento del eje central es cortado ciertas yemas latentes localizadas en el mismo produce nuevos ejes verticales.

La cosecha se concentra en el nuevo punto de crecimiento de ramas inferiores y ramas nuevas del ápice. Las axilas florales solo producen una vez. Por esta razón la producción anual se incrementa durante los primeros 3 ó 5 años, tendiendo luego a disminuir motivo por el cual se práctica la poda o recepa, la cual es realizada para que salgan nuevos ejes verticales (Zamora, 1998).

4.3 Condiciones edafoclimáticas:

4.3.1 Clima:

El café posee ciertos requerimientos y limitaciones a los factores climáticos que afectan directamente el comportamiento del árbol. El clima se compone de la interrelación de numerosos factores:

4.3.1.1 Altitud:

Factor referido a la altura sobre el nivel del mar incide en forma directa en la temperatura e indirectamente en la precipitación. La altitud óptima para el cultivo de café se localiza entre los 1200-1700 msnm.

4.3.1.2 Temperatura:

La temperatura promedio favorable para el café se ubica entre los 17-23° C, con una oscilación diaria máxima de 10° C, la mínima media entre los 15-17° C, y máxima media entre 25-28° C.

4.3.1.3 Precipitación:

El café se adapta a diferente régimen de lluvia inclusive se considera que posee cierta tolerancia a la sequía. Diferentes estudios ubican rangos óptimos variables que van desde los 1600-1800 mm hasta un rango de 1800-2800 mm al año.

4.3.2 Suelo:

Resultados de la diversidad de carácter químico y físico de los suelos cabe esperar un comportamiento diferencial del cafeto. En general los suelos condicionan el desarrollo radicular y la disponibilidad de elementos minerales e influyen en consecuencia en la capacidad de asimilación y uso de nutrientes y agua. Las producciones altas tienen lugar en suelos fértiles y de excelentes condiciones físicas, de no ser así se debe de hacer uso del recurso tecnológico para mantener un estado adecuado de productividad (Zamora, 1998).

4.4 Propagación del café

El método sexual ha sido el tradicionalmente usado para propagar el café este tiene sus limitaciones en términos de la baja capacidad de multiplicación, la necesidad de grandes extensiones del cultivo para obtener semillas y el largo período de tiempo que se requiere para la propagación masiva de una nueva variedad. Hoy día se han desarrollado otros métodos como el cultivo de tejidos que permiten producir una gran cantidad de plantas, en cualquier época del año, a partir de fragmentos de hojas. En el futuro este método “in vitro” permitirá producir un mayor volumen de cafetos más rápidamente (Monroig, s.f.).

4.5 Embriogénesis somática del café

La obtención de embriones somáticos de alta frecuencia de los tejidos adultos (hojas) de las plantas de café se ha convertido en un sistema moderno que resulta atractivo para otras especies arbóreas.

Una característica común de la Embriogénesis Somática de Alta Frecuencia (ESAF) es la presencia de un tejido embriogénico, este tejido se diferencia a partir de células individuales llamadas células embriogénicas madres.

Los tejidos embriogénicos pueden describirse como tejidos friables, que contienen células pequeñas, esféricas, con las siguientes características: citoplasma denso, nucléolo prominente, núcleo vasofiló y ciclo celular corto. Otra característica general de los sistemas de embriogénesis de alta frecuencia es la aproximación secuencial durante las fases iniciales del cultivo:

- a) Alta relación auxinas/citocininas durante el cultivo primario (Medio de inducción).
- b) Baja relación auxinas/citocininas o ausencia de reguladores de crecimiento durante el cultivo secundario (Medio de acondicionamiento).

Se han identificado varios factores generales que controlan la ESAF:

A) Tejidos donantes

- Especies vegetales o variedades.
- Fuente del explante.
- Pretratamiento del explante.

B) Medio del cultivo

- Constituyente orgánico e inorgánico.
- Reguladores de crecimiento (Tipos y concentraciones).
- Osmolaridad total.

C) Condiciones de crecimiento

- Luz (Calidad, intensidad, fotoperíodo).
- Temperatura (Termoperíodo).
- Intercambio gaseoso.
- Régimen del cultivo.
- Selección de tejidos durante los subcultivos.

4.6 Cultivo de tejidos del café:

Hojas:

Se lavan las hojas manualmente con una solución de detergente al 1%, se enjuagan con agua destilada; si se dispone de agua ozonizada se recomienda una inmersión de 5 minutos. El uso de antibióticos y fungicidas sistémicos en un medio salino azucarado durante el periodo de precultivo de 3 días ha sido benéfico para reducir la contaminación por bacterias y hongos de los materiales del campo.

Las hojas maduras de las ramas ortótropas o plagiótropas de plantas de invernadero se desinfectan superficialmente en una solución al 1.6% de hipoclorito de sodio (30% de un agente blanqueador comercial) durante 30 minutos y luego se enjuagan 3 veces en agua estéril doblemente destilada.

Se cortan explantes foliares de unos 7 mm² excluyendo la nervadura central, los márgenes, las porciones apicales y basales de la lámina foliar. Al eliminar la nervadura central se excluyen los domacios y por ello disminuye el número de explantes foliares contaminados; los domacios son poros profundos localizados en el ángulo agudo formado por la nervadura central y las nervaduras secundarias, en el lado abaxial de la hoja del cafeto, en los cuales se acumulan microorganismos contaminantes.

Todos los lados del explante foliar deben cortarse ya que la proliferación de callo solo ocurre en los bordes cortados. Los estudios histológicos han demostrado que el tejido de callo se origina en las células del mesófilo del explante foliar (Sondahl y Sharp, 1979).

Los explantes se colocan en cajas petri de 20 x 100 mm que contiene el medio salino solidificado con agar (sales MS a la mitad de la concentración, con sacarosa 0.06 M). El período de precultivo de los explantes puede cubrirse en la oscuridad o en la luz durante unas 72 horas; no se ha hallado diferencia entre las 2 condiciones. El precultivo ha sido útil para seleccionar explantes viables y para eliminar las partes foliares contaminadas. Los explantes foliares se colocan de manera que su superficie abaxial que se distingue claramente por una coloración pálida de tono mate, diferente de color oscuro y brillante de la superficie adaxial mire hacia arriba.

En frascos de una capacidad aproximadamente de 50 ml se vierten 10 ml de medio basal esterilizado en autoclave; este medio contiene sales inorgánicas MS (Murashige et al, 1962) y ha recibido además los siguientes compuestos: tianina HCL 30 Um, Lcisteína 210 Um, 550 Um myoinsitol, sacarosa 117 Mm, y 8 g/litro de Bacto Agar DIFCO. En el cultivo primario se utiliza un medio de introducción que contiene una combinación de KIN (20 Um) y 2,4-D (5 Um), y se incuba los frascos en la oscuridad a 25+- 1° C durante 45-50 días. Este medio de inducción se considera ideal para la inducción de ESAF de C. Arabica (Sondahl y Sharp, 1979).

Se establece entonces con un periodo de luz de 12 horas a 24-28° C, cultivo secundario mediante el subcultivo de tejidos de 45-50 días de edad en un medio de acondicionamiento que contenga los siguientes componentes: sales orgánicas MS a la mitad de la concentración (con excepción de nitrato de potasio cuya concentración se duplicó), sacarosa 58.4 mM, KIM 2.5 Um, y ANA 0.5 Um.

El tejido embriogénico origina embriones somáticos y finalmente plántulas. La cantidad producida de tejido embriogénico varía pero, en promedio, grupos de este tejido desarrollan de 100-200 embriones somáticos. Con el fin de acelerar este proceso y aumentar el porcentaje de plántulas totalmente desarrolladas, se aconseja aislar el tejido embriogénico y cultivarlos con luz a 26° C en 5-10 ml de medio basal líquido desprovisto de reguladores de crecimiento, durante 4-6 semanas (Etapa de aislamiento del embrión). Después de este período, los embriones somáticos en forma de torpedo y las plántulas jóvenes se colocan en cajas petri, en un medio de cultivo sólido que contenga sacarosa 0.015 M a 0.03 M, en presencia de luz (Etapa de germinación del embrión).

Las plántulas individuales que presenten una raíz primaria desarrollada se extraen del medio de cultivo, se lavan cuidadosamente y se trasplantan inmediatamente a pequeñas macetas dentro de una cámara húmeda. Después de un período de fortalecimiento de un mes, pueden exponerse a la humedad atmosférica normal y transferirse al invernadero.

Estos frascos se exponen a la luz solar en una sección sombreada del invernadero; generalmente se les protege con mallas de plásticos que filtran de 60-80% de los rayos solares. Después de 2 meses, aproximadamente, las plántulas exhiben un buen desarrollo foliar y radicular y pueden ser trasplantadas a pequeños tubetes que contengan suelo.

4.7 En el café se pueden reconocer las siguientes fases de la ESAF:

1. Medio de inducción (División celular y redeterminación).
2. Medio de acondicionamiento (Diferenciación).
3. Rescate del embrión (Aislamiento).
4. Germinación del embrión (Crecimiento del brote y de la raíz).

5. Fortalecimiento de la plántula.
6. Transferencia al suelo.

4.8 Enfermedades de suelo:

4.8.1 *Rhizoctonia* spp. según McCarter, (2001):

Las enfermedades causadas por *Rhizoctonia* predominan en todo el mundo. El patógeno produce varias enfermedades tales como: podredumbre de raíz, podredumbre de la base del tallo, chancro del tallo, podredumbre del fruto e incluso la muerte de la plántula.

4.8.1.1 Síntomas:

El patógeno puede atacar el ápice radical en crecimiento o producir lesiones de coloración marrón, pardo rojiza o casi negros en el hipocotilo cerca de la línea del suelo. La necrosis de los tejidos en la base del tallo joven hace que éstos se ablanden, pierdan capacidad de soporte y como consecuencia la planta se dobla y muere.

En cultivos in vitro *Rhizoctonia* puede formar esclerocios marrones o negros de forma dispersa en el cultivo.

4.8.1.2 Ciclo de la enfermedad:

Rhizoctonia es un habitante común de la mayoría de los suelos y sobrevive como micelio en crecimiento activo, micelio inactivo o en ocasiones mediante esclerocios.

Factores del suelo tales como la temperatura, la humedad, el pH y la actividad competitiva de microorganismos asociados influyen en su supervivencia.

El hongo penetra muy bien a través de las heridas pero, también es capaz de invadir tejido joven y succulento de forma directa. Además genera masa de micelios que mejoran su capacidad de penetrar el tejido vegetal. Tras la invasión del tejido se produce una rápida destrucción del mismo debido a la fuerte acción enzimática del patógeno.

4.8.2 *Pythium* spp. según McCarter, (2001):

El ataque de este hongo puede causar grandes pérdidas, estas pueden ser tanto en invernaderos como en cultivos al aire libre.

4.8.2.1 Síntomas:

Una lesión castaña oscura o negra e hidrótica que se desarrolla rápidamente y afecta a toda la plántula. Cuando esta lesión oscura y blanda se desarrolla alrededor de una porción grande o la totalidad del tallo la plántula se dobla, marchita y muere.

4.8.2.2 Ciclo de la enfermedad:

El crecimiento de *Pythium* puede ser influido por diversos factores tales como la naturaleza de la base nutritiva, temperatura, Ph, humedad y la actividad de microorganismos asociados. El crecimiento vegetativo miceliar, así como la reproducción asexual, son estimulados por la humedad en el suelo, cercana a la saturación. Las hifas infectivas son capaces de penetrar directamente, pero la existencia de heridas incrementa la penetración e infección.

4.8.3 *Fusarium* spp. según Jones, (2001):

El ataque de este hongo causa grandes pérdidas en la plantación, debido a la muerte de las plántulas infectadas.

4.8.3.1 Síntomas:

Las plántulas infectadas alcanzan escaso desarrollo.

Las hojas se vuelven flácidas.

Las hojas se curvan hacia abajo.

El tejido vascular toma coloración castaño oscuro, se ensancha la base de los tallos afectados y normalmente las plantas se marchitan y mueren.

4.8.3.2 Ciclo de la enfermedad:

Fusarium es una enfermedad de climas cálidos y prevalece en suelos ácidos y arenosos. El agente que lo produce es un patógeno de suelo y permanece en suelos infestados durante

varios años. El hongo crece en el suelo infestando hasta invadir a través de heridas que existen en la raíz. Los factores que favorecen el desarrollo de la marchitez son en general, una temperatura del suelo y del aire de 28° C, una humedad de suelo óptima para el crecimiento vegetal.

4.9 *Trichoderma harzianum*:

4.9.1 Taxonomía según Noyd, (2000):

División: Eumycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Trichoderma*

Especie: *harzianum*

4.9.2 Características generales:

Este organismo posee excelentes cualidades para el control biológico de algunas enfermedades fúngicas y para la estimulación natural del crecimiento de plantas jóvenes. Se comporta como agente de control biológico, disminuyendo o eliminando la necesidad de tratar con fungicidas químicos. *Trichoderma harzianum* compete y coloniza las raíces de las plantas impidiendo de esta manera la presencia de otro hongo patógeno, además de estimular el crecimiento de raíces fuertes y sanas, debido a la secreción de fitohormonas que ayudan al incremento de la masa radicular, asimilación de nutrientes y toma de humedad (Tronsmo, 1996).

4.9.3 Sobrevivencia:

Trichoderma harzianum es un hongo antagonista de patógenos vegetales y se encuentra presente en la mayoría de los suelos. Su crecimiento se ve favorecido por la presencia de raíces de plantas, a las cuales coloniza rápidamente.

Su aplicación es fácil, pues puede añadirse directamente a las semillas o al suelo, semilleros, trasplantes, bandejas y plantas de maceta, empleando cualquier método convencional.

Trichoderma harzianum tiene excelentes propiedades para el control biológico, siendo especialmente efectiva contra *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. y *Pythium* spp. A su vez, es un excelente estimulador del crecimiento radicular (Tronsmo, 1996).

4.9.4 Las condiciones adecuadas para el género *Trichoderma* son las siguientes:

1. La temperatura de crecimiento óptima es de 25° C, si bien el rango de crecimiento está entre 15 y 35° C, por debajo o encima de esta temperatura, *Trichoderma* sp. se caracteriza por producir formas de resistencia.
2. Las condiciones de humedad adecuadas están entorno al 70% de la capacidad de retención hídrica, si bien es capaz de crecer entre el 20-80%.
3. Es un microorganismo anaeróbico facultativo, lo que le confiere la capacidad de actuar tanto en condiciones de aerobiosis (suelos muy porosos), cuyas condiciones son óptimas para su crecimiento. *Trichoderma* también puede crecer en medios con elevada actividad microbiana, puntualmente deficientes en oxígeno.
4. El pH adecuado para el desarrollo de *Trichoderma* sp. se sitúa entre 6 y 6.5, si bien puede vivir en rangos superiores, pues la mayor parte de las especies de *Trichoderma* tiene la capacidad de acidificar el pH de su entorno edafológico mediante la liberación de ácidos orgánicos.
5. La fuente de carbono principal para su desarrollo metabólico es la celulosa o lignocelulosa.
6. El contenido de nitrógeno en suelo es un factor limitante, siendo la dosis adecuada el de 100 mg de nitrógeno por kg de suelo, pudiendo sobrevivir en concentraciones menores.

La forma que mejor asimila el nitrógeno es en forma orgánica, aunque también tolera la forma mineral como es la amoniacal, no tolerando la presencia de nitrógeno nítrico.

7. El contenido en fósforo varía según la especie, estando entorno a 2 mg de fósforo por kg de suelo. Este microorganismo tiene la capacidad de asimilar nitrógeno mineral en forma de fosfato, si bien también puede mineralizarlo de forma orgánica, facilitando su absorción por parte de la planta.

8. El contenido en micronutrientes y oligoelementos son necesarios para el crecimiento de *Trichoderma* sp., si bien no necesita de aportes adicionales pues estos se encuentran suficientemente representados en el suelo.

9. En general *Trihoderma* sp., es tolerante a la aplicación de pesticidas químicos, aunque su crecimiento se ve reducido por los metales pesados presentes en los pesticidas.

10. La presencia en el medio a inocular de una elevada actividad microbiana dificulta también el establecimiento y supervivencia de *Trichoderma* sp. (Norte, s.f.).

4.9.5 Reproducción:

Trichoderma harzianum pertenece a la clase Deuteromycete la cual se caracteriza por reproducirse de manera asexual. Su reproducción consiste en la producción de estructuras reproductivas llamadas conidias las cuales son formadas en un conidióforo simple. Las conidias son redondas, transparentes y abundantes las cuales son liberadas fácilmente por el viento o cualquier movimiento que sufra el conidióforo (Tronsmo, 1996).

4.9.6 Modo de acción:

Trichoderma sp posee tres modos de acción reconocidos:

4.9.6.1 Antibiosis:

Ocurre cuando *Trichoderma* produce metabolitos tóxicos o antibióticos los cuales tienen un efecto directo sobre otro organismo, usualmente estos

metabólitos son liberados por *Trichoderma* con el propósito de atacar hongos fitopatógenos en la rizósfera de las plantas.

4.9.6.2 Competencia:

Esta se presenta cuando dos ó más organismos compiten por el mismo recurso en un ambiente dado. En algunos casos *Trichoderma* compite con agentes patógenos por espacios en la superficie de las raíces. En la medida en que *Trichoderma* logre colonizar las heridas de una raíz antes que un hongo fitopatógeno en esa misma medida impedirá que el hongo fitopatógeno colonice esta raíz.

4.9.6.3 Hiperparasitismo:

Es el proceso mediante el cual un hongo parásita a otro hongo; existen cuatro etapas de Hiperparasitismo.

- Atracción química: Es cuando un estímulo químico del patógeno atrae al hiperparásito, las hifas del hiperparásito crecen de una forma atípica dirigiéndose directamente hacia el lugar donde el fitopatógeno se encuentra. Este proceso permite al hongo hiperparásito encontrar con mayor facilidad a los hongos fitopatógenos.
- Reconocimiento: Consiste en que el hongo hiperparásito reconoce al fitopatógeno que va a parasitar, esto significa que *Trichoderma* es selectivo a la hora de parasitar a sus presas.
- Adhesión: La hifa de *Trichoderma* posee una sustancia mucilaginosa que le permite adherirse a la hifa de su presa o enrollarse alrededor de ella.
- Degradación de la pared celular del hospedero: Esto se debe a que *Trichoderma* libera enzimas que degradan la quitina de las células de los hongos fitopatógenos (Tronsmo, 1996).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Ubicación del estudio

El estudio fue realizado en el vivero de aclimatación de plántulas de café clonado, propiedad de Esteben Comercializadora- Centro de Investigación y Desarrollo Rural en Agroforestería (ECOM-CIRAD), cuenta con 4 túneles conteniendo cada uno 10 microtúneles para una capacidad de producción de 280,000 plántulas. En el presente estudio se utilizó el túnel número dos, mesa cinco.

Las dimensiones de cada túnel son: 55 m de largo, 12 m de ancho y 5 m de altura, cubierto con malla sarán 80 (80% sombra) y cada microtúnel mide 1.20 m de ancho, 25 m de largo, 1 m de alto; este microtúnel está cubierto con plástico número 41890 el cual refracta los rayos ultravioleta y ayuda a la difusión de luz dentro del microtúnel (UVA+AF DIFFUSED).

Este vivero está ubicado en la hacienda La Cumplida en el departamento de Matagalpa (Municipio San Ramón) en el km 147 carretera Tuma La Dalia; propiedad del señor Clemente Poncon y Oswaldo Lacayo.

La hacienda cuenta con una extensión territorial de 2800 m² en la cual 1050 m² son para el cultivo de café; presentando alturas de 680-1050 msnm, precipitación anual de 2400-2800 mm, la temperatura oscila entre los 20-30° C, presentando suelo franco arcilloso.

5.2. Establecimiento del ensayo:

5.2.1. Obtención de las plántulas: Las plántulas provienen del laboratorio de ECOM-CIRAD, en donde pasan las primeras cuatro fases.

5.2.2. Elaboración de los sustratos:

Se utilizó 24.5 libras de Pro mix, 70.5 libras de arena, 0.75 libras de Osmocote, y 25 gramos de *Trichoderma harzianum* en 20 litros de agua, todos estos se mezclaron hasta obtener una apariencia homogénea.

En el caso del tratamiento Benomilo, se utilizó 24.5 libras de Pro mix, 70.5 libras de arena, 0.75 libras de Osmocote, y se le agrego 20 litros de agua, mezclándolo hasta obtener una apariencia homogénea; el Benomilo se le aplicó a las plántulas al momento de la siembra a razón de 2 g/lit de H₂O.

5.2.3. Llenado de tubetes: Se llenaron con el sustrato de cada tratamiento para la siembra de las plántulas.

5.2.4. Siembra de Plántula: Se coloca una plántula por tubete.

5.2.5. Muestreos:

Los muestreos se realizaron cada siete días.

Este trabajo de investigación estuvo enfocado en el control de enfermedades fungosas en fase 5 (Fortalecimiento de las plántulas de café clonado), dichas plántulas fueron divididas en 2 tratamientos que se detallan a continuación:

1. Biológico (*Trichoderma harzianum*).
2. Químico (Benomilo).

Cada tratamiento constó de 6 bandejas de 54 tubetes, cada bandeja mide 35 cm de ancho y 55 cm de largo, los tubetes son de forma cónica midiendo 13 cm de alto y 5 cm de diámetro.

Se utilizaron 12 bandejas para una población total de 648 plántulas, 324 plántulas por tratamiento, de estas el total de plántulas muestreadas fueron 65 plántulas (20%), luego fueron colocadas dentro de los túneles de aclimatación manteniendo una humedad relativa de 60-90% y una temperatura de 28-32° C.

La variedad de café utilizada fue Centroamericano (H1), el cual es el resultado del cruce de Etiope y Rema Sudan.

5.3 Operacionalización de las variables

5.3.1. Altura de la plántula: Esta medición fue tomada en centímetros (cm), utilizando cinta métrica, se midió desde la base del tallo hasta la yema terminal.

5.3.2. Diámetro del tallo: Se realizó la medición 1 centímetro por encima de la base del tallo, estos datos fueron tomados en milímetros (mm) con el pie de rey.

5.3.3. Número de hojas: Se cuantificó el número de hojas 1 vez por semana.

5.3.4. Peso: Se tomó el peso de las plántulas en 2 momentos (antes de la siembra y 8 semanas después), haciendo uso de una balanza digital estos datos fueron medidos en gramos (g).

5.3.5. Número de plántulas sanas: Se realizó el conteo de plántulas sanas tomando en cuenta todas aquellas que no presentaron signos de enfermedades fungosas.

5.3.6. Número de plántulas enfermas: Se realizó el conteo de plantas enfermas tomando en cuenta todas aquellas que presentaron signos de enfermedades fungosas.

5.3.7. Número de plántulas muertas: Se realizó el conteo de plántulas muertas en cada tratamiento por enfermedades fungosas.

5.3.8. Costo de producción por tratamiento: Se cuantificó los costos variables y fijos en cada tratamiento.

5.4. Análisis estadístico

Se realizó una comparación de muestras independientes, con el fin de comparar 2 muestras aleatorias del Benomilo y *Trichoderma* sp.

5.5. Análisis económico

Consistió en un análisis de costos variables y fijos, en cada tratamiento, obteniendo así el costo de cada tratamiento.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Efecto de *Trichoderma* sp. sobre el desarrollo fenológico de plántulas de café clonado.

6.1.1. Efecto de *Trichoderma* sp. sobre la altura de las plántulas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable altura de las plántulas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que no existen diferencias significativas entre los promedios de altura de ambas poblaciones comparadas. La significancia obtenida fue de 0.557 el cual es mayor que 0.05 por lo que no existen diferencias significativas y las muestras son estadísticamente iguales.

Los promedios en cuanto a la altura de plántulas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. oscilaron entre 2.00 cm y 5.83 cm con promedios de 2.98 cm. En el caso de Benomilo los promedios oscilaron entre 1.83 cm y 5.83 cm con promedios de 3.06 cm. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente no fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio no presentaron diferencias sustanciales en cuanto a altura en centímetros.

No existen diferencias significativas en la altura de las plántulas, dentro de los tratamientos Benomilo y el tratamiento *Trichoderma*. Estos resultados no coinciden con lo reportado por Henis et al, 1978; Elad et al, 1980, 1981; Harman et al, 1980, 1989; Kloper y Schroth, 1981; Lewis y Papavizas, 1985. Estos autores reportan que *Trichoderma* es enemigo natural de varios organismos patógenos de suelo y además tiene efecto como promotor de crecimiento de las plantas.

El hecho de que *Trichoderma* sp. no haya mostrado efecto sobre la altura de las plántulas se podría deber a que ambos productos controlaron eficientemente los patógenos de suelo permitiendo condiciones favorables en ambos casos para el desarrollo de las plántulas.

Tabla 1. Prueba de muestras independientes para la variable altura de plántulas de café clonado.

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ALTURA	Equal variances assumed	,932	,336	-,589	128	,557	-,0834	,14150	-,36336	,19659
	Equal variances not assumed			-,589	127,531	,557	-,0834	,14150	-,36337	,19660

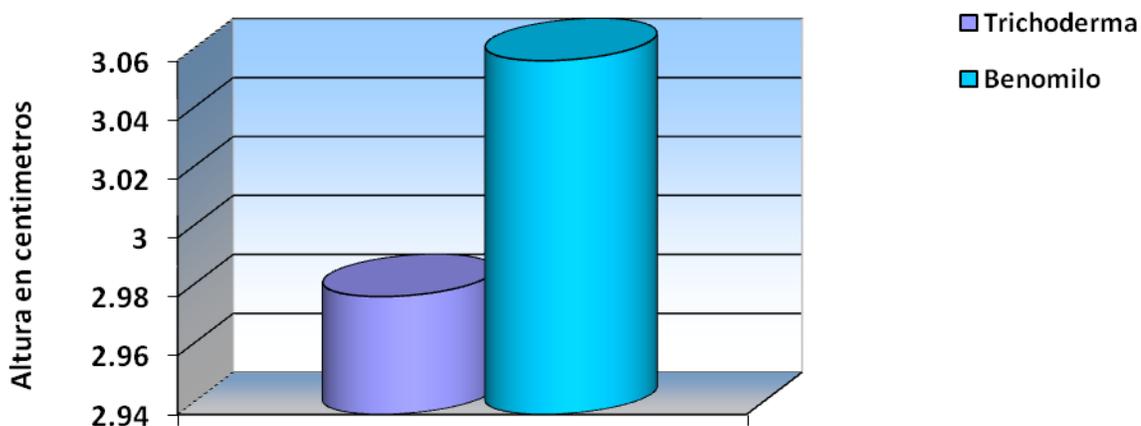


Grafico 1. Altura de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (*Trichoderma* sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.1.2. Efecto de *Trichoderma* sp. sobre el diámetro de plántulas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable diámetro de las plántulas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que no existen diferencias significativas entre los promedios del diámetro de ambas poblaciones comparadas. La significancia obtenida fue de 0.546 el cual es mayor que 0.05 por lo que no existen diferencias significativas y las muestras son estadísticamente iguales.

Los promedios en cuanto al diámetro de las plántulas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. oscilaron entre 2.2 mm y 2.9 mm con promedios de 2.53 mm. En el caso de Benomilo los promedios oscilaron entre 2.20 mm y 2.89 mm con promedios de 2.55 mm. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente no fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio no presentaron diferencias sustanciales en cuanto al diámetro.

En nuestro estudio *Trichoderma harzianum* y Benomilo no lograron obtener diferencias significativas en el diámetro de las plántulas de café. Estos resultados no coinciden con lo reportado por Chang et al, 1986 quienes indican que todos los mecanismos de acción de *Trichoderma harzianum* se basan en el principal papel como promotor de crecimiento vegetal, el cual se manifiesta desde las primeras fases de las plántulas.

Tabla 2. Prueba de muestras independientes para la variable diámetro de plántulas de café clonado.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
DIAMETRO	Equal variances assumed	2,119	,148	-,605	128	,546	-,0180	,02973	-,07683	,04083
	Equal variances not assumed			-,605	127,035	,546	-,0180	,02973	-,07683	,04083

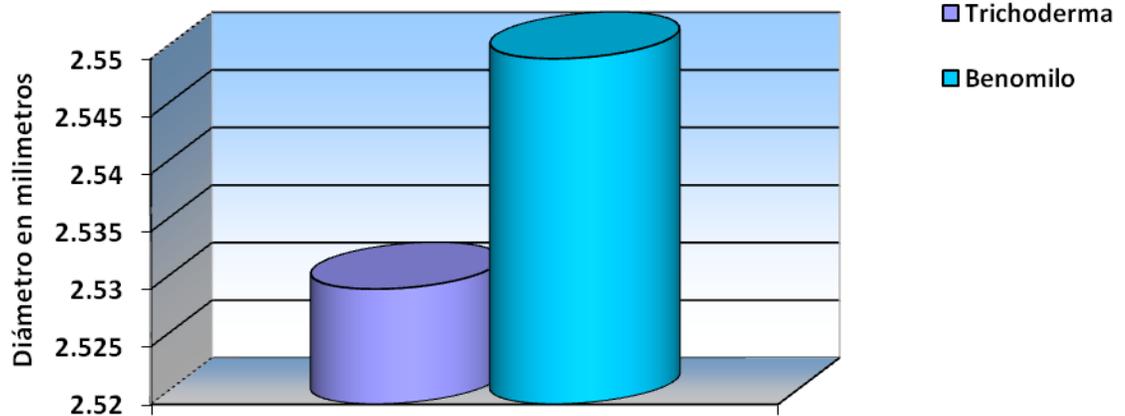


Grafico 2. Diámetro de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (Trichoderma sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.1.3 Efecto de *Trichoderma* sp. sobre el número de hojas de las plántulas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable número de hoja de las plántulas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que no existen diferencias significativas entre los promedios del número de hoja de ambas poblaciones comparadas. La significancia obtenida fue de 0.732 el cual es mayor que 0.05 por lo que no existen diferencias significativas y las muestras son estadísticamente iguales.

Los promedios en cuanto al número de hojas de las plántulas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. oscilaron entre 5.44 y 11.33 con promedios de 8.86 hojas. En el caso de Benomilo los promedios oscilaron entre 5.60 y 11.56 con promedios de 8.78 hojas. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente no fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio no presentaron diferencias sustanciales en cuanto al número de hojas.

En el presente estudio no se pudo obtener diferencias significativas en cuanto al número de hojas de las plántulas inoculadas con *Trichoderma harzianum* y plántulas tratadas con Benomilo. Estos resultados no coinciden con lo reportado por Windham *et al*, 1986; Andreú *et al*, 1992 los cuales citan que el uso de *Trichoderma* se justifica por las relaciones antagonistas que establece fundamentalmente, con los hongos fitopatógenos que viven en el suelo, además de la influencia que ejerce sobre el crecimiento vegetativo de plantas de café y que promueve el desarrollo foliar.

Tabla 3. Prueba de muestras independientes para la variable número de hojas en plántulas de café clonado.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
NOHOJAS	Equal variances assumed	,141	,708	,344	128	,732	,0822	,23915	-,39104	,55534
	Equal variances not assumed			,344	127,939	,732	,0822	,23915	-,39104	,55535

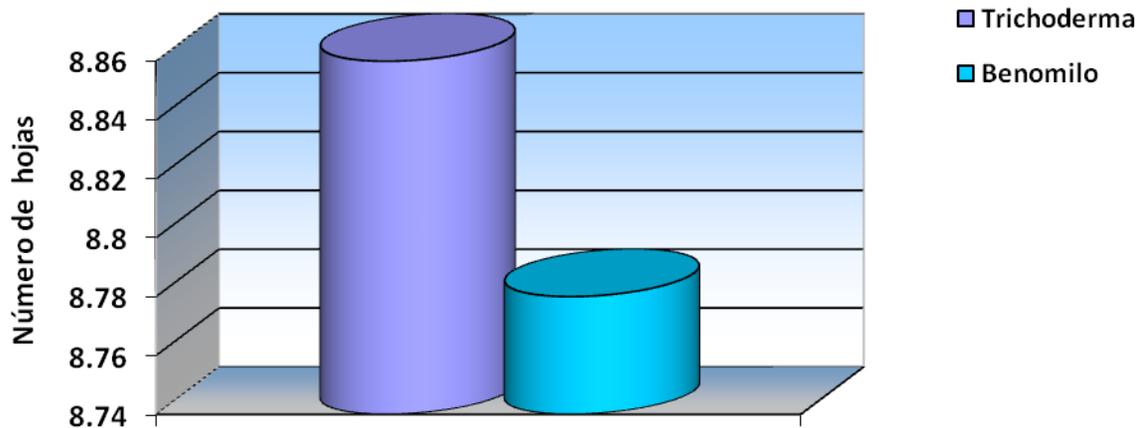


Grafico 3. Número de hojas en plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (Trichoderma sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.1.4 Efecto de *Trichoderma* sp. sobre el peso de plántulas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable peso de las plántulas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que existen diferencias significativas entre los promedios de peso de ambas poblaciones comparadas. La significancia obtenida fue de 0.000 el cual es menor que 0.05 por lo que existen diferencias significativas.

Los promedios de peso de plántulas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. al inicio oscilaron entre 0.25 g y 0.47 g con promedios de 0.29 g y al final oscilaron entre 1.53 g y 2.10 g con promedios de 1.78 g. En el caso de Benomilo al inicio los promedios oscilaron entre 0.34 g y 0.43 g con promedios de 0.39 g y al final oscilaron entre 1 g y 1.43 g con promedios de 1.22 g. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio presentaron diferencias sustanciales en cuanto a peso en gramos.

Existen diferencias significativas en el peso de las plántulas, dentro de los tratamientos *Trichoderma* y el tratamiento Benomilo. Estos resultados coinciden con lo reportado por Palazuelos, 1997 el cual cita, que plántulas tratadas con *Trichoderma harzianum* presentan diferencias en el peso en relación con aquellas no fueron tratadas con este organismo

Tabla 4. Prueba de muestras independientes para la variable peso de plántulas de café clonado.

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
PESO	Equal variances assumed	,863	,355	31,427	128	,000	,2342	,00745	,21941	,24890
	Equal variances not assumed			31,427	125,896	,000	,2342	,00745	,21941	,24890

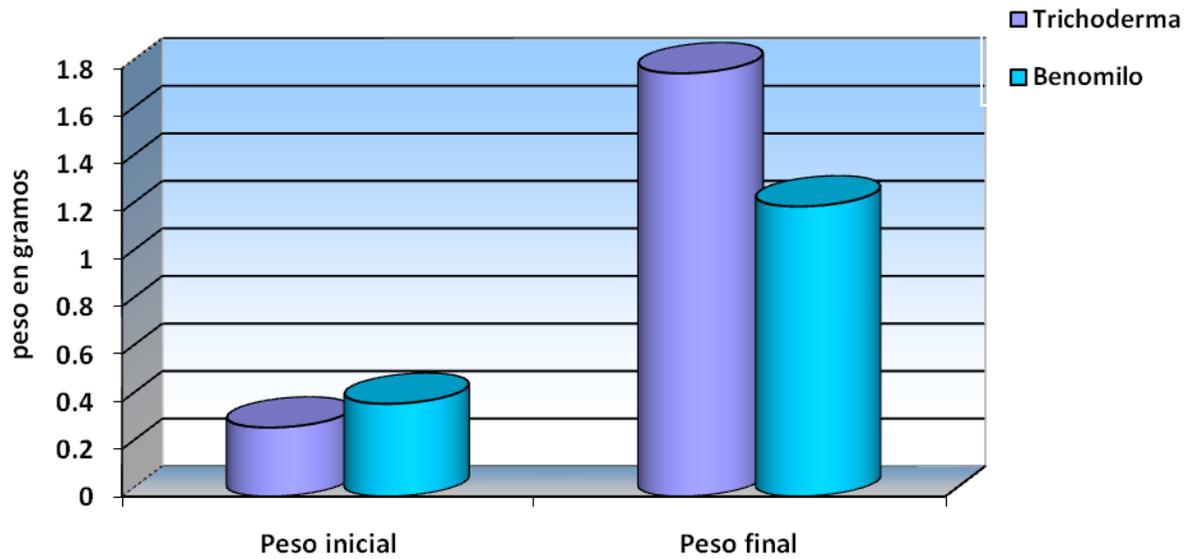


Grafico 4: Peso de las plántulas de café clonado bajo el tratamiento biológico (*Trichoderma* sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.2 Efecto de *Trichoderma* sp. sobre la incidencia de enfermedades de suelo en plántulas de café clonado.

6.2.1 Efecto de *Trichoderma* sobre la incidencia de plántulas enfermas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable plántulas enfermas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que no existen diferencias significativas entre los promedios de plántulas enfermas en ambas poblaciones comparadas. La significancia obtenida fue de 0.160 el cual es mayor que 0.05 por lo que no existen diferencias significativas y las muestras son estadísticamente iguales.

Los promedios de la incidencia de plántulas enfermas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. oscilaron entre 1 y 2 plántulas con promedios de 0.4 plántula. En el caso de Benomilo los promedios oscilaron entre 1 y 2 plántulas con promedios de 1 plántula. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente no fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio no presentaron diferencias sustanciales en cuanto al número de plántulas enfermas.

No existen diferencias significativas en número de plántulas enfermas, dentro de los tratamientos Benomilo y el tratamiento *Trichoderma*. Estos resultados coinciden con lo reportado por Papavizas et al, 1980, el cual indica que el género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas, causadas por patógenos fúngicos del suelo principalmente los del género *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros.

Este alto nivel de control de las enfermedades de suelo, reportado para *Trichoderma* puede sugerir que es buen fungicida, eficiente y similar a Benomilo en el control de las enfermedades antes mencionadas en el cultivo de café.

Tabla 5. Prueba de muestras independientes para la variable incidencia de plántulas enfermas de café clonado.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ENFBETRI	Equal variances assumed	,129	,724	-1,474	16	,160	-,5556	,37680	-1,35433	,24322
	Equal variances not assumed			-1,474	15,530	,160	-,5556	,37680	-1,35630	,24518

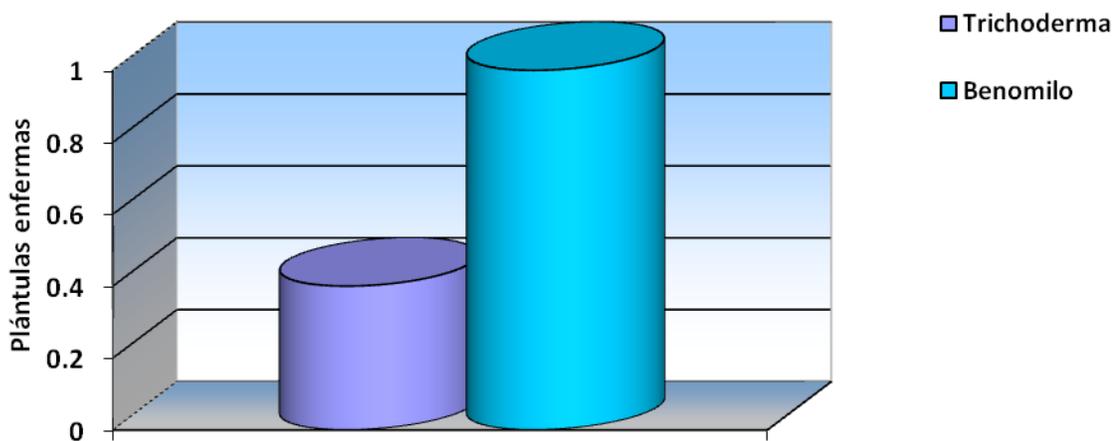


Grafico 5. Incidencia de plántulas enfermas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (Trichoderma sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.2.2 Efecto de *Trichoderma* sp. sobre la mortalidad de las plántulas de café clonado.

El análisis estadístico realizado a la variable plántulas muertas fue pruebas independientes con T de student. Este análisis indica que no existen diferencias significativas entre los promedios de mortalidad de ambas poblaciones estudiadas. La significancia obtenida fue de 0.289 la cual es mayor que 0.05 por lo que no existen diferencias significativas y las muestras son estadísticamente iguales.

Los promedios sobre la mortalidad de las plántulas de café bajo el efecto de *Trichoderma* sp. oscilaron entre 4 y 5 plántulas con promedios de 2 plántulas. En el caso de Benomilo los promedios oscilaron entre 6 y 12 plántulas con promedios de 4 plántulas. Estas diferencias numéricas una vez analizadas estadísticamente no fueron significativas, lo que indica que ambos tratamientos en el estudio no presentaron diferencias sustanciales en cuanto a mortalidad de las plántulas.

En nuestro estudio las plántulas de café inoculadas con *Trichoderma harzianum* y las plántulas tratadas con Benomilo no presentaron diferencias significativas en la mortalidad de estas, por lo tanto *Trichoderma* y Benomilo ejercen igual influencia en la reducción de la mortalidad de la plantas de café. Estos resultados coinciden con lo reportado por Soares de Melo, 1989, el cual indica que la utilización de *Trichoderma harzianum* en plántulas disminuye la mortalidad, esto se atribuye a la producción de compuestos antibióticos que causan la degradación de la pared celular de los hongos fitopatógenos facilitando la penetración de las hifas parasitas de *Trichoderma*.

Tabla 6. Prueba de muestras independientes para la variable mortalidad de plántulas de café clonado.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
MUERTA	Equal variances assumed	11,432	,004	-1,097	16	,289	-2,1111	1,92530	-6,19257	1,97035
	Equal variances not assumed			-1,097	11,193	,296	-2,1111	1,92530	-6,33975	2,11753

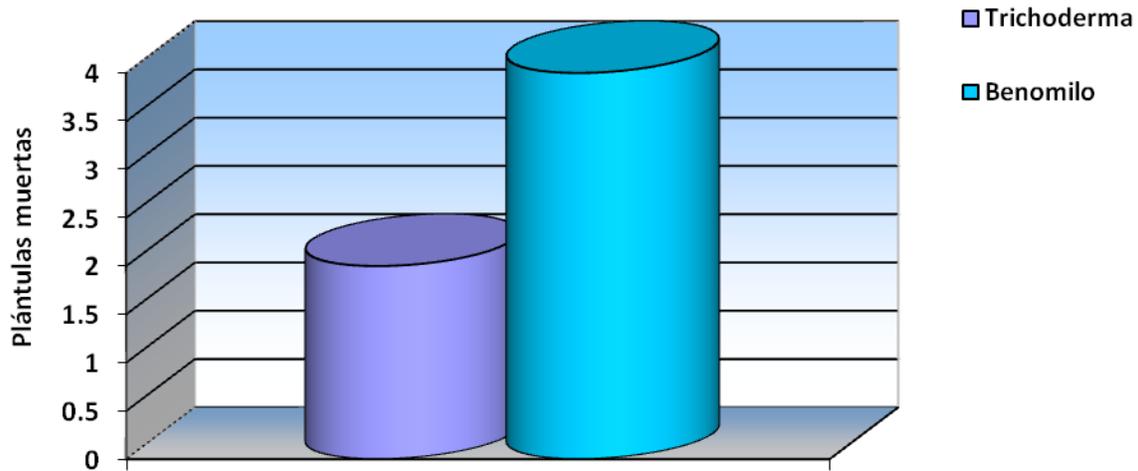


Grafico 6. Mortalidad de plántulas de café clonado bajo el tratamiento Biológico (Trichoderma sp) y el tratamiento químico (Benomilo).

6.3. Análisis económico del cultivo de café clonado bajo cada tratamiento (*Trichoderma harzianum* y Benomilo).

Los únicos costos que variaron en el estudio fueron los precios de los fungicidas *Trichoderma harzianum* y Benomilo usados en cada tratamiento, así como la mano de obra invertida en cada aplicación.

Con el tratamiento *Trichoderma* el gasto en la compra del producto es más alto teniendo un precio de C\$ 266.5, mientras que Benomilo cuesta C\$ 222, pero con la desventaja que en el tratamiento con Benomilo se incurre en mayores gastos en mano de obra, teniendo este un costo de C\$ 43.38 por las constantes aplicaciones de dicho producto y en *Trichoderma* estos gastos se reducen considerablemente gastando en este C\$ 24.10 ya que *Trichoderma* es aplicado una sola vez.

El costo de producción de las 324 plántulas de café clonado utilizadas para ser inoculadas con *Trichoderma* fue C\$ 2854.79 y el costo de las 324 plántulas tratadas con Benomilo fue C\$ 2851.86

Costo de producción de plántulas de café clonado con el tratamiento <i>Trichoderma harzianum</i>					
Descripción	U de M	Cantidad	Precio unitario C\$	Total en C\$	Total en US \$
Insumos de siembra					
Plántulas	Plántula	324	6	1944	96.71
Bandejas	Bandeja	6	21	126	6.26
Tubetes	Tubete	324	1.1	356.4	17.73
Pro mix	Bolsa de 70 lb	24.5 lb	717.5	251.12	12.49
Arena	Metro	0.0375 m	500	18.75	0.93
Mano de obra	8 h/día	1 h	77.15	9.64	0.47
Insumos Fitosanitario					
<i>Trichoderma</i>	Bolsa de 250 g	25 g	266.5	26.65	1.32
Mano de obra	8 h/día	0.25 h	77.15	2.41	0.11
Fertilizantes Foliar					
4-17-17	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Crop up	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Multimineral	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Mano de obra	8 h/día	0.75 h	77.15	7.23	0.35
Fertilizante Edáfico					
Osmocote	Bolsa de 49.5 lb	0.75 lb	1886	28.57	1.42
Mano de obra	8 h/día	0.5 h	77.15	4.82	0.23
Total				2854.79	141.95

Costo de producción de plántulas de café clonado con el tratamiento Benomilo					
Descripción	U de M	Cantidad	Precio unitario C\$	Total en C\$	Total en US \$
Insumos de siembra					
Plántula	Plántula	324	6	1944	96.71
Bandejas	Bandeja	6	21	126	6.26
Tubeles	Tubele	324	1.1	356.4	17.73
Pro mix	Bolsa de 70 lb	24.5 lb	717.5	251.12	12.49
Arena	Metro	0.0375 m	500	18.75	0.93
Mano de obra	8 h/día	1 h	77.15	9.64	0.47
Insumos Fitosanitario					
Benomilo	Bolsa de 900 g	18 g	222	4.44	0.22
Mano de obra	8 h/día	2.25 h	77.15	21.69	1.07
Fertilizantes Foliar					
4-17-17	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Crop up	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Multimineral	Litro	0.08 lt	330	26.4	1.31
Mano de obra	8 h/día	0.75 h	77.15	7.23	0.35
Fertilizante Edáfico					
Osmocote	Bolsa de 49.5 lb	0.75 lb	1886	28.57	1.42
Mano de obra	8 h/día	0.5 h	77.15	4.82	0.23
Total				2851.86	141.81

VII. CONCLUSIONES

1. El desarrollo fenológico de las plántulas de café clonado tratadas con *Trichoderma harzianum* y Benomilo no obtuvieron diferencias significativas entre si, en el caso de las plántulas tratadas con *Trichoderma* presentaron una altura promedio de 2.98 cm, diámetro 2.53 mm, número de hojas 8.86. Las plántulas tratadas con Benomilo presentaron una altura promedio de 3.06 cm, diámetro 2.55 mm, número de hojas 8.78, se encontraron diferencias significativas en el peso de ambos tratamientos, 1.78 g para *Trichoderma* y 1.22 g para Benomilo.
2. Las diferencias que *Trichoderma harzianum* y Benomilo lograron sobre la incidencia de enfermedades de suelo en las plántulas de café clonado indican que no existen diferencias significativas entre los promedios de plántulas enfermas en ambas poblaciones estudiadas teniendo *Trichoderma* un promedio de 0.4 plántula enfermas y 1 plántula enferma para Benomilo.
3. Los costos de producción de las plántulas de café clonado con los tratamientos de *Trichoderma* y Benomilo fueron casi similares obteniendo *Trichoderma* un costo de C\$ 2854.79 y con Benomilo un costo de C\$ 2851.86.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Utilizar *Trichoderma harzianum* en la producción de plántulas de café debido a que nos brinda los mismos resultados que el tratamiento químico (Benomilo), en cuanto a desarrollo fenológico del cultivo, además nos brinda beneficios ambientales.
2. Utilizar *Trichoderma harzianum* en la producción de plántulas de café para el control de enfermedades de suelo ya que presenta los mismos resultados que Benomilo, en cuanto al control de dichas enfermedades.
3. Incrementar el período de estudio para evaluar a largo plazo el efecto que *Trichoderma harzianum* ejerce sobre el desarrollo fenológico en las plántulas de café.

IX. BIBLIOGRAFIA

Andréu C.M., Cupull R.S., Mayea S.S., 1992. Relaciones antagónicas sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* Soraver, por *Trichoderma* spp. y *Verticillium* spp. Centro Agrícola, 19(2-3):114-116.

Chang Y. C. Baker, R., Kleifeld, O. y Chet, I. 1986. Efecto de *Trichoderma harzianum* rifai (cepa t-22) sobre cultivos hortícolas. (En línea). Consultado el 22 de septiembre de 2009. Disponible en:

http://www.koppert.es/fileadmin/user_upload/Overig/Koppert/Koppert.nl/PDF/ES/trianum/HORTICOLAS_SEMILLEROS.pdf

Guharay F., Monterrey J., Monterroso D., Staver C., 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo de café. 1^{era} edición. Managua: CATIE, 272 p.

Henis, Y; Graffar, A; Baker, R. 1978., Elad, Y; Chet, Y; Katan, J. 1980,1981, Harman GE; Chet, Y; Baker, R. 1980, 1989, Klover y Schroth 1981, Lewis y Papavizas, 1985. Material compostado y *Trichoderma harzianum* como supresores de *Rhizoctonia solani* y promotores del crecimiento de la lechuga. (En línea). Consultado el 11 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1972E/A1972E.PDF>

Howard W. 1998. Manual de caficultura. 3^{era} edición. ANACAFE. Guatemala. 318 pp.

Howell C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts, *Plant Dis*, 87, 4-10.

Jones J.P. 2001. Plagas y enfermedades del tomate. España. Ediciones Mundi-Prensa 73 Pag.

Levy, Pablo. 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo del café. Manual técnico N°44, Managua, Nicaragua. 267 Pag.

McCarter S. M. 2001. Plagas y enfermedades del tomate. España. Ediciones Mundi-Prensa 73 Pag.

Mohammed Ezziyyani, Consuelo Pérez Sánchez, Ahmed Sid Ahmed, María Emilia Requena y María Emilia Candela. 2004. *Trichoderma harzianum* como Biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). (En línea) España. Consultado el 22 de Septiembre del 2009. Disponible en: <http://revistas.um.es/analesbio/article/view/30441/29631>

Monroig M, s.f., Manual para la propagación del cafeto. (En línea). Consultado 10 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id48.htm>

Murashige, T. y Skoog. F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473

Norte A.; sf. *Trichoderma* (En línea). Consultado 11 de Septiembre del 2009. Disponible en: http://www.spainbonsai.com/tricho_es.html

Noyd, R. 2000. Mycology Reference Cards. The American Phytopathological Society. 4 ed.

Palazuelos, P. 1997. Precto Control Biológico CET-CLADES. (En línea). Consusltado el 8 de septiembre del 2009. Disponible en <http://www.clades.org/r13-art1.htm>

Papavizas, GC y Lewis JA y 1980 Abd-Elmoity TH.1982. Evaluation of new biotype of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. Phytopathology 72: 126-132.

Rivas, Cristian. 2008. El café en Nicaragua. (En línea). Consultado el 11 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos-pdf/café-nicaragua/cafe-nicaragua.shtml>

Soares de Melo, I. 1989. Obtencao de novos biotipos de *Trichoderma viride* por irradiacao con luz ultravioleta, antagonico a Sclerotinia minor. Brasileira de Pequisa Agropecuaria. 17 p.

Sondahl, M. R. y Sharp, W. R. (1979). High frequency induction of somatic embryos in cultura leaf explants of Coffea arabica L. Z. Pflanzenphysiol. 81:395-408

Tronsmo A. 1996. *Trichoderma harzianun* in biological control of fungal disease. In Principles and practice of managing soilborne plant phathogens. Editor Robert Hall. American Phytopathological Society Press

Windham M.T., Elod Y., Baker R., 1986., Andreu C. M., Cupull R.S., Mayea S.S., 1992. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizósfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. (En línea). Consultado el 12 de septiembre del 2009. Disponible en: http://www.inia.es/gcontrec/pub/24.C.H.GONZALEZ_1048157333343.pdf

Zamora, L. 1998. Manual de reconocimiento para el cultivo de café. 1^{era} ed. Heredia, Costa Rica. Guilá Imprenta Litografía, S.A., 195p

AneXOS

Foto 1: Túneles de aclimatación de plántulas de café clonado.



Foto 2: Microtúnel de aclimatación de plántulas de café clonado.



Foto 3: Siembra de plántulas de café clonado.



Foto 4: Plántulas de café clonado enfermas.



Foto 5: Plántulas de café clonado enfermas.



Foto 6: Plántulas de café clonado etiquetadas para recolección de datos.



Foto 7: Medición de altura de las plántulas de café clonado.



Foto 8: Medición del diámetro de las plántulas de café clonado.



Foto 9: Lavado de plántulas de café clonado para toma del peso.



Foto10: Plántulas de café clonado a raíz desnuda lista para toma del peso final.



