

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

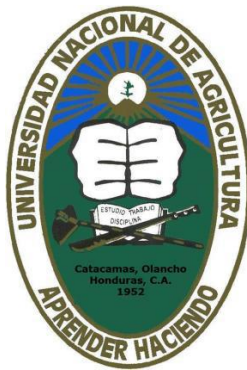
**EFFECTIVIDAD DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS, BOTÁNICOS Y QUÍMICOS
CONTRA *Fusarium* sp EN VIVEROS DE CAFÉ**

POR

CRISTIAN OBED VÁSQUEZ GUTIÉRREZ

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C. A.

JUNIO 2016

EFFECTIVIDAD DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS, BOTÁNICOS Y QUÍMICOS
CONTRA *Fusarium* sp EN VIVEROS DE CAFÉ

POR

CRISTIAN OBED VÁSQUEZ GUTIÉRREZ

ROY DONALD MENJIVAR Ph. D.

Asesor principal UNA

ING. OSMAR NAPOLEÓN MATUTE

Asesor principal IHCAFE

TESIS

PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C. A.

JUNIO 2016

ACTA DE SUSTENTACIÓN

DEDICATORIA

A **DIOS** todopoderoso, porque toda la gloria y la honra son para él.

A mi abuelo **VICENTE MONTES** (Q.D.D.G.) porque fue el quien me encamino en esta grata profesión.

A mis padres **RODOLFO VÁSQUEZ** y **SABINA GUTIÉRREZ** por haberme enseñado a poner mi fe en Dios y que con su ejemplo de trabajo y sacrificio me inspiraron a seguir adelante y cumplir mis objetivos.

A mis hermanos **ZAYRA, SAID** y **ANTHONY VÁSQUEZ**, por estar siempre a mi lado, para alegrar mi vida y brindarme su apoyo, llenándome de valor y fuerza cada día para afrontar este desafío.

A mi **MAMI LETY** por su apoyo incansable e incondicional que ha proporcionado en el transcurso de mi vida y por los consejos sabios que me han guiado por el camino correcto, por impulsar día tras día mi formación.

AGRADECIMIENTO

A **DIOS** todo poderoso por darme la fuerza y la sabiduría necesaria para alcanzar este logro.

A mi **FAMILIA** por su sacrificio, sus consejos, sus palabras de aliento y sus oraciones.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA**, por haberme formado con capacidades técnico científicas e inculcarme a través de sus educadores valores éticos imperecederos.

A mis asesores de tesis **Ph. D ROY DONALD MENJIVAR, M. Sc. ADÁN RAMÍREZ y M. Sc. RAÚL ISAÍAS MUÑOZ**, por sus consejos, aporte de sus conocimientos para llevar a cabo este trabajo y por su interés en el buen desarrollo del mismo, por darme la oportunidad de realizar este trabajo. Mis más sinceros agradecimientos.

A el **IHCAFE**, por darme la oportunidad de realizar mi tesis en gran prestigiosa institución. Específicamente a **ING. OSMAR NAPOLEÓN MATUTE, ING. HEDMAN DANIEL MENDOZA** y al **Dr. ANDRÉS ORTIZ**. Por ser parte de este trabajo de investigación por todo el apoyo que me brindaron, su atención y tiempo que dedicaron.

Al personal del **CIC-LAS LAGUNAS** a **ISMAEL, ANA, JOSIER y DAVID** por su ayuda y por su valiosa amistad.

A **CAFÉ ORGÁNICO MARCALA S.A.** por financiar parte de mis estudios.

A mis amigos de la clase **JETZODIAM**: Selvin, Sergio, Allan, Omar, Fonseca, Franklin, Kevin, Jenrry, Manuel, Delvin, Sindy, Aarón, Delmis y Cinthia porque fue con ellos con quienes compartí durante 4 años, momentos inolvidables.

CONTENIDO

	pág.
ACTA DE SUSTENTACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
CONTENIDO	v
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ANEXOS	x
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1. General	2
2.2. Específicos	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1. Importancia económica del cultivo.....	3
3.2. Origen	3
3.3. <i>Fusarium</i> sp	3
3.4. Control físico	4
3.5. Control cultural	5
3.6. Control químico	5
3.6.1. Metalaxil y Oxiclورو de Cobre.....	5
3.6.2. Propamocarb y Fosetyl-Al.....	6
3.6.3. Benzotiazol	6

3.7.	Control botánico	6
3.7.1.	<i>Ageratum conyzoides</i>	6
3.7.2.	<i>Mimosa tenuiflora</i>	7
3.8.	Control biológico	8
3.8.1.	<i>Trichoderma harzianum</i>	8
3.8.2.	<i>Bacillus subtilis</i>	9
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1.	Ubicación de la investigación	11
4.2.	Materiales y equipo	11
4.3.	Manejo del experimento	12
4.3.1.	Preparación del sustrato	12
4.3.2.	Control de calidad del sustrato y chapola	12
4.3.3.	Determinación de la viabilidad de los productos biológicos	13
4.3.4.	Llenado de las bolsa	16
4.3.5.	Inoculación del sustrato con <i>Fusarium</i> sp	16
4.3.6.	Trasplante de chapolas de café	17
4.3.7.	Riego	17
4.3.8.	Control de malezas	18
4.3.9.	Control de plagas	18
4.3.10.	Control de enfermedades	18
4.3.11.	Fertilización	18
4.4.	Descripción de tratamientos	19
4.5.	Aplicación de los tratamientos	20
4.6.	Evaluación de los tratamientos	21
4.7.	Variables evaluadas	21

4.7.1.	Incidencia del <i>Fusarium</i> sp	21
4.7.2.	Altura de planta	22
4.7.3.	Diámetro de tallo	22
4.7.4.	Volumen de raíz.....	22
4.7.5.	Peso fresco.....	22
4.8.	Diseño experimental	23
4.8.1.	Modelo estadístico.....	23
4.9.	Análisis estadístico	23
4.10.	Análisis económico.....	24
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5.1.	Incidencia del <i>Fusarium</i> sp.....	25
5.2.	Altura de planta.....	33
5.3.	Diámetro de tallo	33
5.4.	Volumen de raíz.....	34
5.5.	Peso fresco raíz	34
5.6.	Peso fresco tallo y hojas.....	34
5.7.	Análisis económico.....	35
VI.	CONCLUSIONES	37
VII.	RECOMENDACIONES	39
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXOS		48

LISTA DE CUADROS

	pág.
1. Concentraciones de los productos comerciales formulados a partir de <i>Trichoderma harzianum</i>	14
2. Viabilidad de conidias de los productos comerciales formulados a partir de <i>Trichoderma harzianum</i>	15
3. Viabilidad de productos comerciales formulados a partir de <i>Bacillus subtilis</i>	16
4. Descripción de los tratamientos usados en el estudio.	19

LISTA DE FIGURAS

	pág.
1. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium</i> encontrado en el primer muestreo (15 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $n + 1$	26
2. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium</i> encontrado en el segundo muestreo (30 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $n + 1$	28
3. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium</i> encontrado en el tercer muestreo (45 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $n + 1$	31
4. Rentabilidad de los tratamientos que fueron eficientes en el control de <i>Fusarium</i> sp.	36

LISTA DE ANEXOS

	pág.
1. Distribución de los tratamientos.....	49
2. Croquis de parcela útil.....	50
3. Hoja de toma de datos.	51
4. Cálculos de fertilización de viveros.....	52
5. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el primer muestreo.....	52
6. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el segundo muestreo.	53
7. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el tercer muestreo.	53
8. ANAVA para la variable altura en el primer muestreo.	54
9. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el primer muestreo.	54
10. ANAVA para la variable volumen de raíz en el primer muestreo.	55
11. ANAVA para la variable peso de raíz en el primer muestreo.	55
12. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el primer muestreo.	55
13. ANAVA para la variable altura en el segundo muestreo.	55
14. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el segundo muestreo.	56
15. ANAVA para la variable volumen de raíz en el segundo muestreo.....	56
16. ANAVA para la variable peso de raíz en el segundo muestreo.	56
17. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el segundo muestreo.....	57
18. ANAVA para la variable altura en el tercer muestreo.....	57
19. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el tercer muestreo.....	57
20. ANAVA para la variable volumen de raíz en el tercer muestreo.	57
21. ANAVA para la variable peso de raíz en el tercer muestreo.....	58
22. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el tercer muestreo.	58

Vásquez Gutiérrez, CO. 2016. Efectividad de productos biológicos, botánicos y químicos contra *Fusarium* sp en viveros de café. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, HN. 71 p.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de fungicidas biológicos, botánicos y químicos contra *Fusarium* sp en viveros de café, se utilizó el DBCA con 14 tratamientos y cuatro repeticiones. Los fungicidas y dosis evaluadas en gramos/mililitros de i.a por litro fueron: Trichozam10 WP (0.12 g/l), Tricho-D 7.5 SP (0.3 g/l), Biotrizium, SubtiZam, Serenade 1.34 SC (0.09514 ml/l), M.E 17.4 SP (0.696 g/l), extracto de *A. conyzoides* (4.8 ml/l), extracto de *M. tenuiflora* (4.8 ml/l), Metalaxil-oxiclورو de cobre (4.25 g/l), Propamocarb-Fosetyl (2.1 ml/l), Benzotiazol (1.705 ml/l), Testigo vaporización, Testigo relativo y Testigo absoluto. El sustrato se esterilizó y se inoculó con *Fusarium* sp 10 días antes del trasplante a una concentración de 1×10^7 conidias/ml. Se aplicaron los tratamientos al trasplante, realizándose tres muestreos cada 15 días. Las variables evaluadas fueron: incidencia, altura, diámetro tallo, volumen raíz, peso foliar y peso radical. Los ANAVA en los muestreos para incidencia encontraron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) entre los tratamientos. En el primer muestreo M.E 17.4SP y Metalaxil-oxiclورو de cobre, presentaron la menor incidencia con 1 % cada uno, aunque no difieren del resto de los tratamientos que mostraron eficiencia contra *Fusarium* sp. Para el segundo muestreo se incrementó considerable la incidencia de la mayoría de los tratamientos, se encontró que Tricho-D 7.5 SP obtuvo la menor incidencia con 2.54%, mismo valor que en el primer muestreo, siendo el único con este comportamiento. En el tercer muestreo TrichoZam 10 WP, Tricho-D 7.5 SP, M.E 17.4 SP y Testigo Relativo, presentaron la menor incidencia con 2.54% cada uno. Los análisis de varianza no encontraron diferencias significativas para las variables de crecimiento. Tricho-D 7.5 SP mostró tener el mejor manejo de *Fusarium* sp hasta los 45 días después del trasplante manteniendo la incidencia en valores aceptables sin embargo fue TrichoZam 10 WP el que presentó la mejor relación beneficio-costeo.

Palabras clave: Viveros, raíz, fungicida, control, *Trichoderma*, *Bacillus*, *Ageratum*, *Mimosa*, Metalaxil, Oxiclورو de Cobre, Propamocarb, Fosetyl-Al, Benzotiazol.

I. INTRODUCCIÓN

En Honduras, el café es uno de los rubros agrícolas de mayor importancia económica, debido a su fuerte aporte en la generación de divisas, es el principal producto agrícola de exportación, representa el 8% del PIB nacional y casi el 30% del PIB agrícola (IHCAFE 2007). Las exportaciones para la cosecha 2015/16 al mes de mayo asedian a los 4.99 millones de sacos de 46 kg generando así unos 623 millones de dólares estadounidenses (IHCAFE 2016). Este tiene participación relevante en la industria, alimentación e investigación, además constituye una fuente de empleos directos e indirectos.

En nuestro país uno de los factores determinantes en la producción de este cultivo es su manejo, siendo el período de vivero uno de los más trascendentales. Actualmente existen enfermedades que atacan el cultivo de café en esta etapa, siendo una de las medidas de control, la desinfección del sustrato utilizado por los caficultores, quienes recurren a productos químicos; sin embargo, el uso de estos productos en la caficultura es cada vez más restringido de parte de los países compradores de café.

Esto ha motivado la concientización del uso racional de los productos químicos y la búsqueda de otros métodos efectivos para combatir patógenos de plantas; como la utilización de microorganismos que son antagonistas de los agentes infecciosos y que desplazan a éstos de una manera natural (Perdomo *et al.* 2007) y el uso de extractos de plantas con acción fúngica.

Esta investigación se hizo con el propósito de evaluar el efecto de productos comerciales para reducir la incidencia de *Fusarium* sp en viveros de café y poder brindarle al productor de café, métodos de control que sean eficientes y que cumplan con las actuales exigencias que establecen los mercados. Buscando principalmente lograr el empoderamiento de una caficultura económicamente rentable, socialmente responsable y ecológicamente respetuosa.

II. OBJETIVOS

2.1. General

- Evaluar el efecto de fungicidas biológicos, botánicos y químicos aplicados al sustrato como métodos de control de *Fusarium* sp en viveros de café.

2.2. Específicos

- Comparar la efectividad de productos biológicos, botánicos y químicos en el control de *Fusarium* sp.
- Determinar la potencialidad de *T. harzianum* y *B. subtilis* como inductores de crecimiento.
- Realizar una relación beneficio costo de los tratamientos evaluados.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Importancia económica del cultivo

El café actualmente constituye uno de los productos primarios más valiosos del comercio mundial (ICO 2007). El área ocupada por el cultivo de café en todo el planeta es de aproximadamente 13.2 millones de km² (Onzima *et al.* 2002 citados por Cárdenas 2007), de los cuales, el 75% es cultivado en pequeñas fincas de unas 10 ha, principalmente manejados por el grupo familiar (Jeffrey 2003). Se cultiva en 15 de los 18 departamentos y son más de 120 mil productores con unas 270,000 hectáreas sembradas. El cultivo genera más de 1 millón de empleos directos e indirectos es decir más del 8% de la generación de empleos del país, lo que significa la generación del 22% de empleos en zona rural (IHCAFE 2007).

3.2. Origen

El lugar de origen del *Coffea arábica* es Etiopía, país donde se inició su cultivo, siendo la especie de café más antigua, conocida y difundida a nivel mundial. En esa región existe una amplia variedad de tipos de café que han sido trasladados a numerosos países (Anthony *et al.* 1999 citados por Cárdenas 2007).

3.3. *Fusarium* sp

Perteneciente a los Deuteromicetes cuyo estado Teleomorfo es *Gibberella* spp (Ascomycota) (Arauz 1998). *Fusarium* sp, produce un micelio hialino, pálido y tres tipos de esporas como microconidios, macroconidios y clamidosporas (Perdomo *et al.* 2007). Se encuentra ampliamente distribuidas por todo el mundo y ocasiona pérdidas considerables al

disminuir las poblaciones, el crecimiento y la producción de las plantas infectadas (Agrios 1996).

En el caso de las pudriciones de la raíz, principalmente de las plantas jóvenes, muestran al principio una mancha ligeramente rojiza, que más tarde adquiere una tonalidad que va de rojo oscuro a pardo y que se extiende hasta cubrir más o menos la raíz principal y la porción del tallo que se encuentra por debajo de la superficie del suelo. En la raíz principal aparecen fisuras longitudinales, en tanto que las pequeñas raíces laterales son destruidas (Agrios 1996).

El hongo sobrevive sobre materia en descomposición en forma de micelio o de esporas asexuales de pared gruesa denominadas clamidosporas (Salazar 1991).

3.4. Control físico

Tronconi (2001) recomienda exponer el suelo a la luz solar removiendo la tierra semanalmente por un periodo de 30 días, uso de plásticos (solarización) y el uso de agua hirviendo, aunque con este último Castro *et al.* (2008) no recomiendan este tipo de manejo debido a que los hongos patógenos tienen estructuras de resistencia como; esclerocios o clamidosporas, que les permiten soportar grandes temperaturas.

La solarización se ha usado como un método de desinfección de suelo para reducir poblaciones de patógenos, malezas y artrópodos (Katan *et al.* 1976 citados por Muñoz *et al.* 2001). Para Muñoz *et al.* (2001) esta potencia la acción de los organismos de control biológico por la reducción de los microorganismos nativos en el sustrato donde se aplican.

Mientras que la vaporización según la FAO (2003) es la introducción de vapor de agua dentro del suelo, para aumentar la temperatura del suelo a niveles letales a las plagas del mismo. La temperatura del suelo y la duración del tratamiento térmico determina si la eliminación de la flora del suelo es total (esterilización: pocos minutos a 90-100°C), o si ocurre solamente parcialmente (pasteurización: mezcla de vapor y aire a 70-80°C). La vaporización a presión

negativa es una alternativa prometedora más rápida y eficiente desde el punto de vista energético.

3.5. Control cultural

Utilizar semilla y plántulas libre de enfermedades, debidamente tratada, retirar las plantas con signo de enfermedad, controlar la calidad y cantidad del agua de riego, procurando buen drenaje para evitar que se inunde y se debe mantener una vigilancia constante (Cordero 2013).

3.6. Control químico

En Honduras los caficultores aplican principalmente fungicidas preventivos. Sin embargo el manejo actual en la agricultura, busca preservar el medio ambiente y evitar en lo posible todo tipo de contaminación mediante el empleo de tecnologías limpias que limitan el uso de productos químicos (Castro *et al.* 2008).

3.6.1. Metalaxil y Oxicloruro de Cobre

Es un fungicida que es absorbido a través de las hojas, tallos y raíces con translocación acropetal. Inhibe el crecimiento micelial en el interior de la planta e impide la esporulación. Su acción primaria es la interferencia en la biosíntesis de ácidos nucleicos. Actúa en forma curativa debido al Metalaxil-M y en forma protectora o de contacto debido a la acción del cobre. Está formado por la mezcla de dos sustancias Metalaxil-M y Oxicloruro de cobre, que proporcionan protección dentro y fuera de la planta. Su uso se ha limitado a control de enfermedades causadas por hongos Oomycetes del orden Peronosporales (Syngenta s.f).

3.6.2. Propamocarb y Fosetyl-Al

El modo de acción de cada ingrediente activo en esta formulación está basado en la inhibición en múltiples sitios del metabolismo del hongo (acción multisitio). Consecuentemente, el riesgo que se desarrolle resistencia en esta formulación es muy bajo, ofrece sinergismo al combinar una acción fúngica con una resistencia sistémica adquirida por la planta (Bayer s.f).

3.6.3. Benzotiazol

Es un fungicida/bactericida perteneciente al grupo de los Benzotiazoles. Actúa por contacto en el tratamiento de semillas y suelos. Es de aplicación directa en forma preventiva para una mejor efectividad en el control de un amplio espectro de hongos, bacterias, por acción de contacto. Es un producto biodegradable. Este producto ha sido un sustituto eficiente para el Arseniato de Plomo, usado anteriormente para el control de Ojo de Gallo y sustituto general para el control de algunas especies de *Mycosphaerella* (Buckman s.f).

3.7. Control botánico

Los plaguicidas botánicos son sustancias derivadas de las plantas que tienen propiedades para controlar o repeler plagas y enfermedades (Ríos y Baca 2002).

3.7.1. *Ageratum conyzoides*

A. conyzoides, es una hierba anual con una larga historia de usos tradicionales en muchos países del mundo, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales. Una amplia gama de compuestos químicos, incluyendo alcaloides, flavonoides, crómenos, benzofuranos y terpenoides han sido aisladas de esta especie (Okunade 2002).

Es muy eficaz contra la mayoría de los hongos y bacterias fitopatógenos, inhibiendo su crecimiento sistémicamente y prevención de las enfermedades más relacionados con frutas y

verduras frescos del mercado. Detiene la formación de metabolitos esenciales en hongos y bacterias, desnaturaliza las enzimas, generando una ruptura de la membrana completa, causando la muerte del microorganismo y por lo tanto la prevención de su ciclo reproductivo (Chemexc s.f).

Fiori *et al.* (2000) demostraron que esta especie posee actividades antibacteriana y antifúngica contra 22 bacterias, incluyendo Cocos Gram-positivos y bacillos Gram-negativas y 12 hongos (tres levaduriformes y nueve filamentosos) mostró que el aceite inhibió 20 bacterias y cuatro hongos. Pattnaik *et al.* (1996) registraron la inhibición total de crecimiento des cuatro hongos, *Candida albicans* SP-14, *Cryptococcus neoformas* SP-16, *Sclerotium rolfsii* SP-5 y *Trichophyton mentagrophytes* SP-12. Rao *et al.* (1996) informaron de que el aceite de *A. conyzoides* inhibió la crecimiento de cinco bacterias, así como 10 especies de hongos y que el componente principal del aceite era demethoxyageratochromene.

3.7.2. *Mimosa tenuiflora*

El extracto de *M. tenuiflora* que también es conocida común mente como carbón negro, tepezcohuite, jurema preta o catinga, tiene como ingredientes activos los taninos y bioflavonoides. El extracto de *M. tenuiflora* es efectivo contra la mayoría de hongos y bacterias fitopatógenos, inhibiendo el crecimiento y desarrollo de éstos (Guerra y Welchez 2013).

Actúa sistemáticamente en forma curativa o preventiva, detiene la formación de metabolitos esenciales para los patógenos, mediante una desnaturalización de las enzimas lo que genera una ruptura en la membrana que causa un vaciado de su contenido y muerte del microorganismo. Posee efectos estimulantes de crecimiento vegetativo y cicatrizante de heridas. Su uso se recomienda en una gran cantidad de cultivos y para el control de diversos hongos y bacterias como; *Pseudomonas* sp, *Rhizoctonia solani*, *Hemileia vastatrix*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* sp, *Alternaria* sp y *Erwinia* sp (Chemexc s.f).

3.8. Control biológico

Actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Phythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* entre otros (Stefanova *et al.* 1999). Este medio de combate ofrece perspectivas para disminuir las poblaciones de patógenos, sin agudizar los diversos problemas que amenazan el balance ecológico. Dentro de estas alternativas esta la utilización de microorganismos antagónicos de patógenos fúngicos del suelo, tales como *Trichoderma* y *Bacillus* (Flores *et al.* 2012).

3.8.1. *Trichoderma harzianum*

El hongo *T. harzianum* pertenece a la clase: Deuteromicetes; Orden: Moniliales en la clasificación asexual, la mayoría de las cepas de *Trichoderma* no tienen etapas sexuales (Barman 2000 citado por Mora 2001). Las habilidades antifúngicas de *Trichoderma* se reconoce desde los años 1930's; sin embargo, hasta hace poco tiempo se empiezan a usar comercialmente (Rebolledo *et al.* 2002).

La utilización de cepas fúngicas del género *Trichoderma* para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos es una de las alternativas más prometedoras al empleo de fungicidas químicos (Rey *et al.* 2000), por su facilidad para el aislamiento y rápido crecimiento en un gran número de sustratos (Perdomo *et al.* 2007) y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos (Fernández 2001).

Trichoderma se puede utilizar en muchas maneras, incluyendo: el tratamiento de semillas, aplicado directa al suelo antes de la siembra y se añade a los fertilizantes orgánicos (Tran 2010), aunque existe la falsa creencia de que lo natural permite cualquier abuso “a fin que no pasa nada”, se ha abusado del uso de muchos microorganismos como *Trichoderma* provocando desbalances en la microbiología del suelo. Por eso no está de más de hacer hincapié en la necesidad de aplicar los microorganismos en forma diversa (Simón 2009).

Los Mecanismos demostrados recientemente, con los cuales *Trichoderma* actúa como biocontrolador y como colonizador de las raíces son: Micoparasitismo, antibiosis, competición por nutrientes, espacio y desactivación de las enzimas de los patógenos (Menjivar 2005).

Al poseer varios modos de acción, reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno (Álvarez y Sivila 2013). Estos mecanismos no son excluyentes sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos (Rey *et al.* 2000).

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta (Harman 2004 citado por Espinoza 2013). Cepas de *Trichoderma* colonizan y penetran los tejidos de la raíz de la planta y ponen en marcha una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en la planta, que se consideran parte de la respuesta de defensa de la planta, que al final conduce a la resistencia sistémica inducida en toda la planta (Saba *et al.* 2012).

Conjuntamente a la acción supresora de patógenos, numerosos estudios señalan a *Trichoderma*, como promotor o estimulador del crecimiento de plantas (Menjivar 2005, Ramos 2006). Harman (1998) encontró que *Trichoderma* aumenta el número de incluso raíces profundas (en tanto como un metro por debajo de la superficie del suelo). Estas raíces profundas causan a cultivos, como el maíz, y plantas ornamentales, como el césped, ser más resistentes a la sequía.

3.8.2. *Bacillus subtilis*

Los estudios con bacterias para el control biológico de enfermedades y la estimulación del crecimiento vegetal se han enfocado a especies rizosféricas, principalmente de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* (Compat *et al.* 2005 citados por Orbera *et al.* 2014).

Para la clasificación de las especies del género *Bacillus* se tienen en cuenta cuatro características fundamentales: el crecimiento aerobio, la respuesta positiva a la tinción de Gram, la forma bacilar y la formación de endospora (Tejera *et al.* 2011).

Las bacterias del género *Bacillus* se encuentran ampliamente distribuidas en los más diversos hábitats (Tejera *et al.* 2011) principalmente en suelos agrícolas, raíces de las plantas, en el tracto gastrointestinal de los animales, en agua dulce y salada, materia vegetal en descomposición y desiertos (Layton *et al.* 2011).

Tres aspectos fundamentales quedan por revelar de la fisiología de *B. subtilis*: Sus propiedades inductoras, mediante la activación de los mecanismos de resistencia inducida en plantas, su capacidad para colonizar el ambiente rizosférico y endófitico de los cultivos vegetales (rizocompetitividad) y la efectividad in vivo de la bacteria en el control biológico de enfermedades, las cuales se derivan de las complejas relaciones que establece (Orbera *et al.* 2014).

B. subtilis actúa directamente en el enfrentamiento de organismos fitopatógenos, mediante la producción extracelular de antibióticos, toxinas, enzimas hidrolasas y lipopéptidos antimicrobianos (Orbera *et al.* 2014). De forma general existen diversas informaciones del efecto antifúngico in vitro de cepas del género *Bacillus* frente a hongos fitopatógenos, entre los que se encuentran *Fusarium solani*, *Alternaria solani*, *Phythium ultimum* y *R. solani* (Fernández 2001).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación de la investigación

La investigación se llevó a cabo entre los meses de octubre y febrero, en las instalaciones del Centro de Investigación y Capacitación “Las Lagunas” del Instituto Hondureño del Café (IHCAFE), ubicado en la comunidad de La Florida, perteneciente al municipio de San José, departamento de La Paz, Honduras, situado a una altura de 1,440 msnm. La zona presenta una precipitación anual de 1800 mm, con temperaturas promedio de 26.6 °C máximas y mínimas de 12.6 °C (Matute 2014). Según la clasificación de Holdridge (1962) citado por Padilla (2003), pertenece al tipo de bosque húmedo subtropical.

En el Laboratorio de Fitoprotección del Instituto Hondureño del Café (IHCAFE), instalado en el Centro de Investigación y Capacitación “Jesús Aguilar Paz” ubicado en la aldea de la Fe, municipio de Ilama, en el departamento de Santa Bárbara, se encuentra a una altura de 750 msnm con precipitación promedio de 2800 mm al año, su temperatura oscila entre 20 °C y 25 °C (Duarte 2011).

4.2. Materiales y equipo

Materiales y equipo de laboratorio: Dos cepas de *Fusarium* sp, placas petri, bisturí, cámara de flujo laminar, incubadora, red de inmersión, microscopio, autoclave, calentador, balanza de precisión, mechero, papel toalla, medio de cultivo PDA (Papa dextrosa agar CRITERION), TSA (Tryptic soy agar CRITERION), Agar extracto de malta, tubos de ensayo, probeta, pipetas, micropipeta, matraz, beaker, ansa, espátula, ácido tartárico, plato reloj, azul de lacto fenol, agua destilada estéril, Tween 80 al 20% (surfactante), cloro al 1.4%, alcohol 70% y cámara de Neubauer.

Materiales de vivero: 1120 chapolas de café variedad Lempira, pie de rey, balanza de precisión, bolsas de polietileno de 5x6 pulgadas, baldes plásticos, sustrato, yodo al 5%, una caldera tipo cantarranas, bomba de mochila y probeta.

4.3. Manejo del experimento

4.3.1. Preparación del sustrato

Se preparó el sustrato necesario para llenar 1120 bolsas de 5x6 pulgadas, en una proporción 70/30, para ello se ocuparon 0.98 metros cúbicos de suelo fértil y 0.42 metros cúbicos de materia orgánica (Bocashi).

El sustrato se esterilizo antes del llenado de las bolsas usando una caldera tipo Cantarranas; esta consiste en dos barriles metálicos de 200 litros unidos por un tubo de hierro galvanizado de ½ pulgada de diámetro. Uno de los barriles (con agua hasta la mitad) se coloca horizontalmente y este es el que se ubica sobre el fuego para lograr que el vapor se conduzca por el tubo hacia el barril que esta verticalmente y con el sustrato dentro del mismo (Lardizábal y Miselem 2006).

El barril vertical se llenó con sustrato hasta la mitad, se cubrió con un plástico y se expuso al vapor durante 2 horas y se movió cada 30 minutos para que la esterilización fuera homogénea. Cabe resaltar que el barril vertical debe tener una cámara de unas 4 pulgadas de alto, separada por un metal perforado que permita que el vapor pase a el suelo.

4.3.2. Control de calidad del sustrato y chapola

4.3.2.1. Sustrato

Se tomaron muestras del sustrato antes y después de esterilizado y se procesaron para determinar la presencia o no de *Fusarium* sp u otros agentes. Para esto se diluyeron 10

gramos de suelo en 90 ml de agua destilada, con ayuda de una ansa se tomó parte de la solución y se realizó un estriado en 2 placas petri con medio de cultivo PDA para cada una de las muestras. Estas se incubaron a una temperatura de 30 °C ($\pm$) 2 °C durante 72 horas.

En el aislamiento realizado a partir de la muestra de suelo esterilizado, no se encontraron crecimientos de hongos patógenos, solamente de hongos ambientales, lo que indica la efectividad del método usado para esterilizar el suelo. Mientras que en el aislamiento realizado a partir del suelo sin esterilizar, se encontró una gran diversidad de microorganismos, resaltando más *Fusarium* sp, *Penicillium* sp y *Trichoderma* sp, debido a que cubrían más área dentro de las placas. La presencia de *Trichoderma* sp, explica por qué el lugar de donde se extrajo el suelo no tiene antecedentes de patologías radiculares.

4.3.2.2. Chapola (plántulas provenientes del semillero)

Se tomó una muestra al azar de 10 chapolas. Para su aislamiento se cortaron pequeños trozos de 50 mm de longitud, del hipocótilo y la raíz, estos se sumergieron durante 30 segundos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 % y luego un minuto en dos beaker con agua estéril respectivamente. Se les hizo un corte longitudinal para acelerar el proceso de colonización. Mediante pinzas esterilizadas a la llama, se transfirieron a dos placas petri con PDA cinco trozos a cada una, formando un cuadrado con un trozo de tejido en el centro. Las placas se colocaron en la incubadora a una temperatura de 30 °C ($\pm$) 2 °C durante 72 horas. (French y Hebert 1980). Después de tres días de incubación, no se observó el crecimiento de ningún tipo de microorganismo.

4.3.3. Determinación de la viabilidad de los productos biológicos

El control de calidad del producto comercial se realizó mediante la evaluación de la concentración en número de conidias por gramo o mililitro de producto y la viabilidad de estas (porcentaje de germinación). Se consideró buena aquella concentración que no fuera

inferior al rendimiento promedio de la cepa y que la viabilidad no sea menor al 95 % (FUNICA 2011).

4.3.3.1. Hongo (*T. harzianum*)

- En primer lugar se confirmó la concentración de conidias de cada producto comercial utilizando una Cámara de Neubauer (Cuadro 1). Se hizo la solución madre para cada producto, tomando 1 g o un 1 ml dependiendo la formulación y se diluyeron en 200 ml de agua destilada y 1ml de Tween al 20%. Posteriormente se realizaron cuatro diluciones más, para facilitar el conteo de conidias. Esto se hizo tomando 1 ml de la solución anterior y diluyéndolo en 9 ml de agua estéril, este procedimiento se repitió cuatro veces.
- Se realizó el conteo de los cinco cuadrantes grandes y para conocer la concentración de los productos, se utilizó la formula descrita por (Salvador 2004).

Concentracion conidias/ml de producto

$$= \bar{X} (\text{Prom UFC contadas}) \times 1 \times 10^4 (\text{Cons}) \times 1 \times 10^2 (\text{Dilucion madre}) \times 1 \times 10^n (\text{Dil. realizadas})$$

Cuadro 1. Concentraciones de los productos comerciales formulados a partir de *Trichoderma harzianum*.

Producto	Código Laboratorio	Concentración producto	Concentración leída
Biotrizium	Bio1	1.3×10^6 conidias/ml	1.4×10^9
Tricho-D	Bio2	N.D	6.3×10^8
Microrganismos Efectivos	Bio3	N.D	1.1×10^9
TrichoZam	Bio5	1.3×10^9 conidias/g	1.7×10^9

N.D. No disponible

- Determinada la concentración de conidias que posee cada producto, se continuó con evaluar si las conidias eran viables. Los productos evaluados fueron diluidos todos a una misma concentración de 2×10^1 conidias/ml.
- Se realizó la siembra usando la suspensión de esporas descrita anteriormente. Con ayuda de una pipeta se tomó 1ml y se colocó en el centro de la placa, luego se vertió medio de cultivo PDA (Papa dextrosa agar) fundido y acidificado con ácido tartárico, para evitar el crecimiento de bacterias. Esto se hizo por duplicado para cada producto. Las placas se incubaron a $30\text{ }^{\circ}\text{C} (\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C})$ durante 72 horas. De acuerdo a la suspensión preparada, debería haber 20 conidias por plato, entonces de acuerdo con la germinación de las conidias se determinó la viabilidad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Viabilidad de conidias de los productos comerciales formulados a partir de *Trichoderma harzianum*.

Producto	Código Laboratorio	Promedio de N° de conidias germinadas	Viabilidad (%)
Biotrizium	Bio1	16	80
Tricho-D	Bio2	20	100
Microrganismos Efectivos	Bio3	19.5	97.5
TrichoZam	Bio5	18	90

4.3.3.2. Bacterias

La determinación de la viabilidad de los productos a base de bacterias, se hizo igual que para los productos a base de hongos, con la diferencia de que no se hizo conteo de unidades formadores de colonia en la Cámara de Neubauer.

- Se tomó 1 g o un 1 ml dependiendo la formulación del producto y se diluyeron en 200 ml de agua destilada y 1ml de Tween al 20%. Posteriormente se realizaron 7 diluciones más, para facilitar el conteo de las unidades formadoras de colonia.
- Se realizó la siembra, con ayuda de una pipeta se tomó 1ml y se colocó en el centro de la placa, luego se vertió medio de cultivo TSA (Tryptic soy agar). Esto se hizo por duplicado para las dos últimas diluciones de cada producto comercial. Las placas se incubaron a 37 °C ($\pm$ 1 °C) durante 24 horas.

Cuadro 3. Viabilidad de productos comerciales formulados a partir de *Bacillus subtilis*.

Producto	Código Laboratorio	Concentración	Colonias contadas	Viabilidad (%)
Microrganismos Efectivos	Bio3	N.D		
SubtiZam	Bio4	PNC		
Serenade	Bio6	1.3x10 ⁹ UFC/ml	15	75

N.D. No disponible. PNC: Producto no comercial, información de concentración restringida por el fabricante.

4.3.4. Llenado de las bolsa

Se utilizaron bolsas de polietileno negro, con dimensiones de 5x6 pulgadas, se llenaron teniendo cuidado de hacerlo de forma compacta y firme, ya que esto permite un buen desarrollo radicular de las plántulas.

4.3.5. Inoculación del sustrato con *Fusarium* sp

Previo al trasplante se inoculo el sustrato con el hongo *Fusarium* sp. Esto se hizo bolsa por bolsa, con el objetivo de asegurar la presencia del agente patógeno y evitar al máximo la pérdida de la solución.

La preparación del inóculo se hizo a través de cepas del hongo patógeno en medio de cultivo Agar extracto de malta (Elaboración y componentes sujetos a restricción por el Laboratorio de Fitoprotección del Instituto Hondureño del Café.) en cinco matraces de 200 ml. Mediante una micropipeta se extrajo una alícuota de la solución y se hizo un conteo del número de conidias utilizando una cámara de Neubauer y un microscopio con magnificación de 40X. Se realizaron dos lecturas para establecer un promedio de conidias y resultó de 4.5×10^7 conidias/ml. El inóculo se llevó a una concentración de 1×10^7 conidias/ml.

Previo a la inoculación se regó el sustrato hasta dejarlo a capacidad de campo, para tener una humedad apropiada. La inoculación se hizo en horas de la mañana para evitar la pérdida de conidias por causa de los rayos solares. Con ayuda de un beaker se aplicaron 50 ml de solución por bolsa. A partir de la inoculación se contabilizaron 10 días para el trasplante y la aplicación de los tratamientos, con el fin de permitirle al hongo establecerse en el sustrato.

4.3.6. Trasplante de chapolas de café

Se utilizaron chapolas listas para trasplantar, de unos 75 días de edad desde la siembra. Un día antes del trasplante se realizara un riego profundo con la intención de facilitar la extracción de las chapolas del semillero. El trasplante de la chapola a las bolsas de vivero se hizo cuando estaba completamente desarrollada (dos hojas cotilédones y el tallo con por lo menos tres centímetros de altura) estas se seleccionaran por calidad de raíz y tallo y la ausencia de enfermedades.

4.3.7. Riego

El riego se hizo periódicamente, según las necesidades hídricas de las plántulas, evitando el déficit y los excesos de agua.

4.3.8. Control de malezas

El control de malezas se hizo de forma manual, se observó una baja incidencia de estas, durante el tiempo que duro el ensayo, debido a que el método de esterilización de sustrato (vaporización) utilizado tuvo una efectividad no solo sobre la microbiología del suelo, sino también sobre las semillas de diferentes especies de malezas. Por lo que la presencia de estas se limitó a el tratamiento que no se expuso a la vaporización.

4.3.9. Control de plagas

Se mantuvo un monitoreo constante del vivero. Durante esto no se observó la presencia de ningún tipo de plaga, por lo que fue innecesario la implementación de métodos de control.

4.3.10. Control de enfermedades

Dentro del control de enfermedades se tomó en cuenta especialmente la Mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*), influenciada por desequilibrios nutricionales; principalmente nitrógeno (Barrera 2013) y Derrite (*Phoma* sp) favorecida por la presencia de altas humedades relativas (Gaitán *et al.* 2011). Para las cuales se hicieron muestreos continuos del vivero, en los que se observó una baja incidencia de Mancha de hierro y la total ausencia de *Phoma* sp, debido a esto fue innecesaria la aplicación de algún tipo de control.

4.3.11. Fertilización

La fertilización en el vivero fue igual para todos los tratamientos utilizando NITRAMON + DAP (18-46-0) a una relación de 1:1 (34:34 gramos/l de agua). La frecuencia de aplicación se hizo cada 25 días aplicadas al drench a una dosis de 25 ml/planta en la primera y 40 ml/planta a partir de la segunda aplicación.

4.4. Descripción de tratamientos

En el estudio se evaluaron un total de 14 tratamientos (Cuadro 4), de los cuales tres son a base de *Trichoderma harzianum* (TrichoZam10 WP, Tricho-D 7.5 SP, y Biotrizium), dos de *Bacillus subtilis* (SubtiZam y Serenade 1.34 SC), un producto a base de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cereviceae* (Microorganismos Efectivos 17.4 SP), un extracto botánico de *Ageratum conyzoides* (Fungosin 80 EC), uno de *Mimosa tenuiflora* (Revancha 80 SL), tres fungicidas químicos (Ridomil Gold Plus 42.5 WP, Prevalor 84 SL y Busan 34.1 EC), testigo de vaporización (no se inoculo con *Fusarium* sp pero se esterilizo), el testigo relativo (este no se esterilizo, no se inoculo con el hongo patógeno y no se le aplico ningún producto, ya que este represento dentro del ensayo las condiciones en las que el productor utiliza su sustrato) y el testigo absoluto al que no se le aplico ningún tratamiento pero si se esterilizo con la caldera cantarranas y se inoculo con *Fusarium* sp.

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos usados en el estudio.

Trat	Nombre comercial	Ingrediente activo	Dosis por litro		ml/bolsa
			Comercial	Ingrediente activo	
1	TrichoZam 10 WP	<i>Trichoderma harzianum</i>	1.2 g	0.12 g	50
2	Tricho-D 7.5 SP	<i>Trichoderma harzianum</i>	4 g	0.3 g	50
3	Biotrizium	<i>Trichoderma harzianum</i>	5 ml		50
4	SubtiZam	<i>Bacillus subtilis</i>	6 ml		50
5	Microorganismos Efectivos 17.4 SP	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Saccharomyces cereviceae</i>	4 g	0.696 g	50
6	Serenade 1.34 SC	<i>Bacillus subtilis</i>	7.1 ml	0.09514 ml	50

7	Fungosin 80 EC	<i>Ageratum conyzoides</i>	6 ml	4.8 ml		50
8	Revancha 80 SL	<i>Mimosa tenuiflora</i>	6 ml	4.8 ml		50
9	Ridomil Gold Plus 42.5 WP	Metalaxil 40% y Oxicloruro de Cobre 2.5%	10 g	4 g	0.25 g	50
10	Prevalor 84 SL	Propamocarb 53% y Fosetyl-Al 31%	2.5 ml	1.324 ml	0.775 ml	50
11	Busan 34.1 EC	Benzotiazol	5 ml	1.705 ml		50
12	Testigo vaporización	--	--	--		--
13	Testigo relativo	--	--	--		--
14	Testigo absoluto	--	--	--		--

*Las dosis antes mencionadas se ha considerado en base a lo recomendado por cada casa comercial.

4.5. Aplicación de los tratamientos

La aplicación de los tratamientos se realizó al momento del trasplante de la chapola. Los tratamientos se aplicaron según la dosis recomendada por el fabricante (Cuadro 4). Previo a la aplicación de los tratamientos se rotulo e identifico cada parcela con su respectivo tratamiento y repetición; la aplicación se hizo siguiendo un orden lógico, primero se aplicaron los biológicos y luego los productos químicos, con el fin de evitar algún tipo de contaminación.

Se hizo en horas de la mañana, ya que los tratamientos biológicos podían verse afectados por la radiación solar, lo que conllevaría a la reducción de su potencial de control. Se tuvo en cuenta medir los parámetros de pH y dureza del agua que se utilizó para diluir los tratamientos, de acuerdo a los requerimientos establecidos por los fabricantes.

Para los tratamientos uno, dos y cinco por ser formulación WP (polvos mojable), se tuvo el cuidado al momento de preparar la solución, abrir la bolsa dentro del recipiente con el propósito de evitar la pérdida de conidias.

4.6. Evaluación de los tratamientos

Se realizó cada 15 días iniciando después de la aplicación. Esta evaluación se realizó bajo el método de destrucción, se seleccionaron ocho plantas al azar, por tratamiento es decir dos por unidad experimental, a las que se les tomó las variables de crecimiento, luego se llevaron al laboratorio debidamente rotuladas por tratamiento y por repetición, para evaluar el efecto de estos sobre *Fusarium* sp. Se hicieron un total de tres muestreos.

4.7. Variables evaluadas

4.7.1. Incidencia del *Fusarium* sp

Definida como el número de plantas infectadas y expresadas en porcentaje del total de plantas evaluadas y para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Numero de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas muestreadas}} \times 100$$

La determinación de la incidencia de *Fusarium* sp se hizo de forma visual, contando las plántulas que presentaban síntomas de la enfermedad como los describe Agrios (1996), las raíces principales de las plantas jóvenes muestran al principio una mancha ligeramente rojiza, que más tarde adquiere una tonalidad que va de rojo oscuro a pardo y que se extiende hasta cubrir más o menos la raíz principal y la porción del tallo que se encuentra por debajo de la superficie del suelo, o bien aparece en forma de rayas que se extienden por arriba de ella.

En la raíz principal aparecen fisuras longitudinales, en tanto que las pequeñas raíces laterales son destruidas. Por lo general, el crecimiento de la planta se retarda y cuando el clima es seco las hojas pueden tomarse amarillas e incluso desprenderse de la planta.

Estos resultados fueron verificados a través de aislamiento del hongo patógeno en laboratorio, lo que permitió establecer con seguridad la pérdida de plantas por *Fusarium* sp.

4.7.2. Altura de planta

Se midió con la ayuda de una regla graduada en centímetros, a partir de la zona de diferenciación entre la raíz y el tallo hasta el cogollo más alto de la planta.

4.7.3. Diámetro de tallo

Este se midió con la ayuda de un pie de rey graduado, la medida se tomó en milímetros un centímetro arriba de la zona de diferenciación entre la raíz y el tallo.

4.7.4. Volumen de raíz

Con el propósito de evitar el daño del sistema radicular, se rompió la bolsa longitudinalmente y el pilón se introdujo en un recipiente con agua para facilitar la extracción del sustrato y no dañar la raíz. Se obtuvo el volumen utilizando la técnica de desplazamiento de fluidos (Montoro 2011) donde se tomó todo el sistema radicular y se lo colocó en una probeta y el aumento del volumen de agua mostrado en la probeta se determinó como el volumen de las raíces.

4.7.5. Peso fresco

Se determinó el peso fresco de raíz y tallo y hojas por separado. El peso fresco se tomó en un lugar bajo techo, ya que el viento podía afectar las mediciones. Una balanza electrónica para registrar el peso como indicador del desarrollo del tejido vegetal en los diferentes tratamientos (Mora 2001).

4.8. Diseño experimental

Se usó el diseño de bloques completos al azar (DBCA), con 14 tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento, haciendo un total de 56 unidades experimentales; cada unidad experimental consto de 20 plantas, ordenadas con el sistema doble alterno (Matute 2014) (Ver anexo 2) y se consideró como parcela útil las 10 plantas centrales, dejando cinco plantas de cada extremo.

4.8.1. Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}.$$

Para $i = 1, \dots, k$

$j = 1, \dots, r$

Dónde:

Y_{ij} = Variable aleatoria observable

μ = Media general.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

B_j = Efecto del j -ésimo bloque

E_{ij} = Error asociado a la ij -ésima unidad experimental.

Supuesto $\epsilon_{ij} \sim NID(0, \sigma^2)$ = No existe interacción entre bloque y tratamiento (*).

(*) Significa que un tratamiento no debe modificar su acción (o efecto) por estar en uno u otro bloque.

4.9. Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANAVA) se hizo utilizando el programa estadístico INFOSTAT, para encontrar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con un nivel de

significancia del 5%. Una vez que el ANAVA mostrara significancia, se realizó la prueba de medias por el método de LSD Fisher con un nivel de significancia de 0.05, para diferenciar los tratamientos estadísticamente.

4.10. Análisis económico

Se realizó un análisis de relación beneficio costo por tratamiento considerando los costos que difieren entre los distintos tratamientos. $\text{Relación Beneficio / costo} = \text{Ingreso} / \text{Costos por tratamiento}$.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el efecto de fungicidas biológicos, botánicos y químicos aplicados al sustrato como métodos de manejo de *Fusarium* sp en viveros de café, para esto se hicieron un total de tres muestreos a intervalos de 15 días. También se evaluó la potencialidad de *T. harzianum* y *B. subtilis* como inductores de crecimiento. Para el análisis y discusión de resultados solamente se evaluarán aquellos muestreos en los cuales el ANAVA obtuvo diferencias estadísticas significativas

5.1. Incidencia del *Fusarium* sp

Esta fue la variable más importante para determinar la eficiencia de los fungicidas comerciales contra *Fusarium* sp. Los datos de incidencia en el ensayo muestran que la inoculación con el hongo patógeno incrementó esta variable considerablemente en el primer muestreo (Figura 1), indicándonos que las cepas usadas, presentaron una alta patogenicidad y virulencia a los 25 días después de la inoculación y 15 días después de del trasplante de las chapolas.

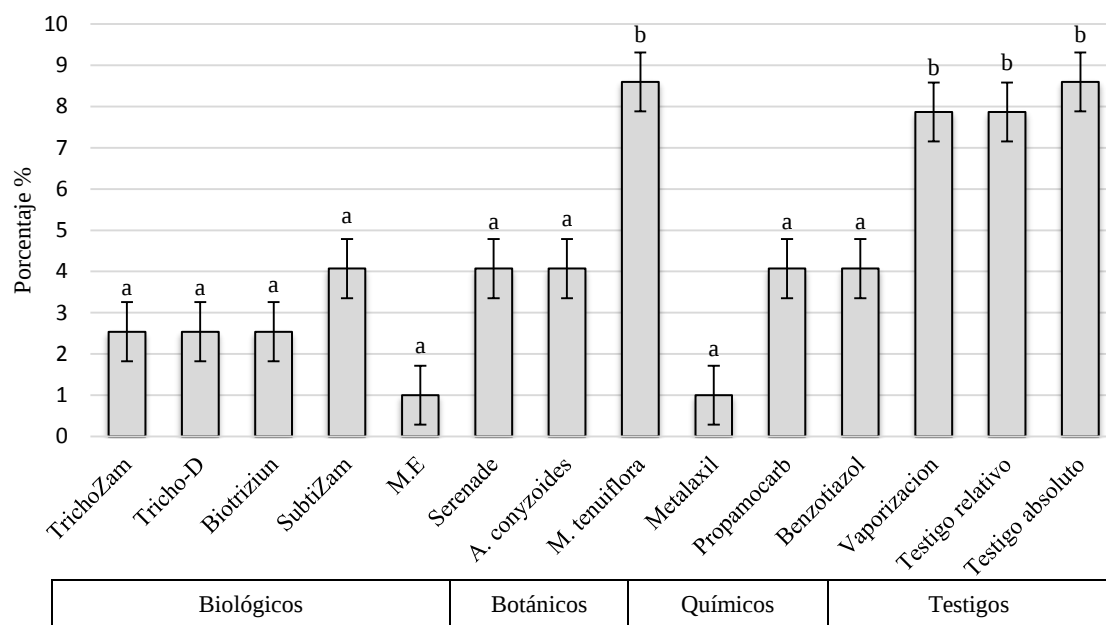


Figura 1. Porcentaje de incidencia de *Fusarium* encontrado en el primer muestreo (15 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $\sqrt{n + 1}$.

El análisis de varianza para el primer muestreo, 15 días después del trasplante, (Anexo 5) encontró diferencias altamente significativas ($p\text{-valor} = 0.0001$) entre los tratamientos evaluados. Se pudo observar que la mayoría de los tratamientos superaron estadísticamente al Testigo absoluto, excepto T13 (Testigo Relativo), T12 (Vaporización) y T8 (*M. tenuiflora*); siendo los T5 (M.E 17.4 SP) y T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre), los que presentaron la menor incidencia del hongo con un 1 % cada uno, aunque no difieren estadísticamente por la prueba de LSD Fisher del resto de los tratamiento que mostraron un manejo del patógeno.

Para el caso del T5 (M.E 17.4 SP) formulado a partir de *T. harzianum* y *B. subtilis*; para explicar estos resultados se hace mención de los atributos de estos microorganismos a través de una serie de mecanismos demostrados anteriormente que les permiten actuar como biocontroladores y como colonizadores de las raíces tal como lo explica (Hannan 2001),

quien asevera que aparte de su facilidad para colonizar las raíces de las plantas, estos ha desarrollado mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos y así, aprovechar una fuente nutricional adicional.

Para el tratamiento T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre), su actividad antifúngica se basa en que impide la biosíntesis de las proteínas en los hongos sensibles, interfiriendo la síntesis del ARN ribosomático y entre su campo de hongos sensibles está el grupo al que pertenece *Fusarium* sp (Terralia 2010).

Los tres tratamientos formulados a partir de *Trichoderma* obtuvieron el mismo nivel de incidencia con 2.54 %. Los formulados a partir de *B. subtilis* ambos obtuvieron un 4.07 % de incidencia. En este muestreo pudo verse una superioridad de *T. harzianum* en el control de *Fusarium* sp sobre *B. subtilis*. Los resultados de control de *Fusarium* sp en este muestreo concuerdan con los obtenidos por (Córdova 2003, Espinoza 2013 y Flores *et al.* 2012), quienes a través del uso de *T. harzianum* obtuvieron los menores porcentajes de incidencia frente a este hongo patógeno.

El T5 (M.E 17.4 SP), tratamiento formulado a partir de ambos microorganismos (*T. harzianum* y *B. subtilis*), fue superior a los tratamientos anteriores, esto concuerda con lo dicho por Ali *et al.* (2002), quienes aseveran que una mezcla de varios agentes de control biológico introducidas en el suelo, puede imitar la situación natural y por lo tanto, podría ampliar el espectro de actividad de estos organismos. Ramamoorthy *et al.* (2001) afirman que mezclas de antagonistas microbiales, pueden tener un comportamiento similar al logrado por elevadas poblaciones de un único antagonista.

Entre los tratamientos botánicos el T7 (*A. conyzoides*) con un nivel de incidencia de 4.07% fue estadísticamente superior al T8 (*M. tenuiflora*), con una incidencia del 8.6%. Mientras que los tratamientos químicos fueron estadísticamente iguales, resaltando el tratamiento T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre).

Es importante mencionar que a pesar de que algunos tratamientos mostraron incidencia del hongo patógeno, la severidad de este fue mínima, el diagnóstico visual no fue del todo exacto y fue hasta el aislamiento de las muestras de laboratorio que se constató los tratamientos con presencia o ausencia de *Fusarium*.

Para el segundo muestreo se observó un considerable incremento en la incidencia de la mayoría de los tratamientos (Figura 2), producto quizá de una baja residualidad para los tratamientos botánicos y químicos y una baja colonización para algunos biológicos.

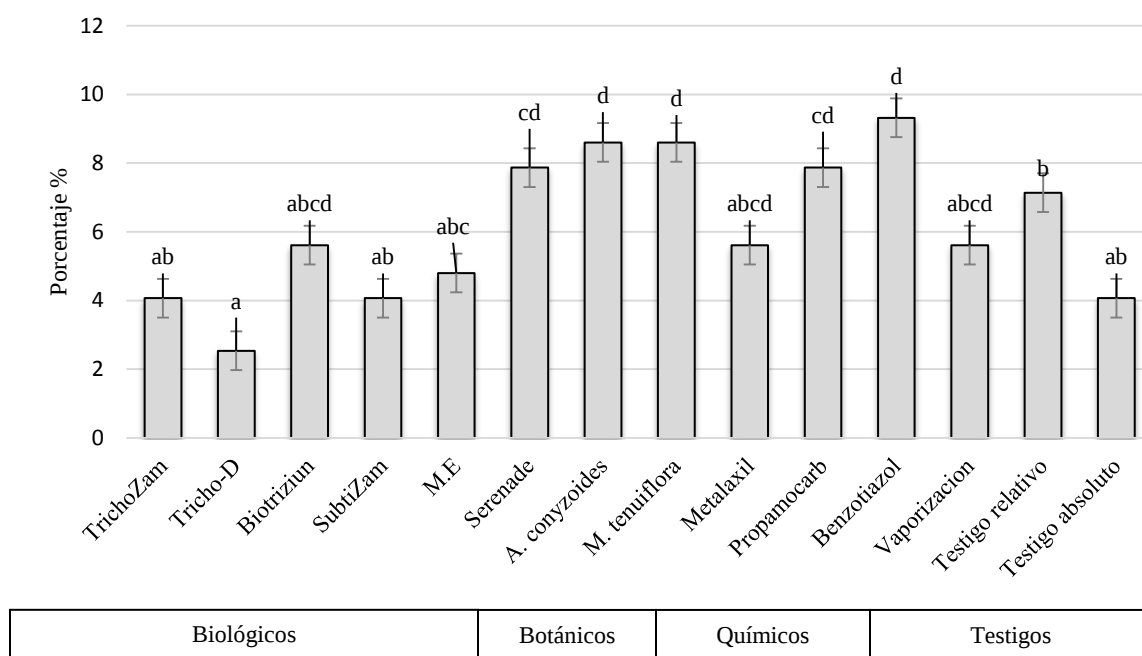


Figura 2. Porcentaje de incidencia de *Fusarium* encontrado en el segundo muestreo (30 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $\sqrt{n+1}$.

El análisis de varianza para el segundo muestreo, 30 días después del trasplante (Anexo 6) encontró diferencias significativas (p -valor = 0.0117). En este muestreo se encontró que el

tratamiento que obtuvo la menor incidencia fue el T2 (Tricho-D 7.5 SP) con un nivel de incidencia del 2.54%, manteniendo así el mismo valor que en el primer muestreo.

Siendo el único con este comportamiento, López *et al* (2011), hacen referencia al antagonismo de *Trichoderma* relacionado con la expresión de genes y su respectiva actividad enzimática, ellos aseveran que existen cepas que muestran una mayor actividad de enzimas como: N-acetilglucosaminidasa, quitinasa y proteasa. Esta alta actividad enzimática muestra el gran potencial micoparasítico de algunas cepas de *Trichoderma* contra *Fusarium* siendo una estrategia conveniente para manejar enfermedades fitopatógenas causadas por este hongo.

En base a los resultados, se puede inferir que el T2 (Tricho-D 7.5 SP) es capaz de efectuar reducción de la incidencia únicamente después de realizada la primera aplicación, hasta 30 días después (Figura 2). Según a Bustamante (2015) el control biológico brinda un manejo sostenible y persistente debido a que el hongo se establece en el sustrato y protege las raíces de la planta de futuros ataques, por lo que no cabe el termino residualidad al hablar de productos biológicos.

Los tratamientos, T5 (M.E 17.4 SP) y T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre) que ejercieron el mayor control en el primer muestreo, obtuvieron un valor de incidencia del 4.8% respectivamente, mostrando así un abrupto aumento de esta. Para el T9 pudo deberse a una baja residualidad.

Sin embargo para el T5 la causa probable es una baja capacidad de adaptación de las cepas, ya que la eficacia de este tipo de microorganismos depende sensiblemente de los factores ambientales y de su nicho ecológico. Hoyos (2007), menciona que algunos microorganismos antagonistas muestran una gran variabilidad metabólica y morfológica, que puede explicar la amplia distribución en diversos hábitats y su comportamiento en los distintos suelos donde se estén utilizando, ya que existe especificidad de cepas y modos de acción, además de niveles de adaptación a ambientes particulares.

Se observó la particularidad en el T14 (Testigo absoluto) en el cual se inoculó con el hongo patógeno y no le aplicó ningún tratamiento presentó resultados más eficientes sobre el control de *Fusarium* sp que algunos tratamientos (Figura 2), probablemente se debió a factores externos como ser: baja concentración del inóculo en dicho tratamiento o a condiciones rizosféricas que afectaron el establecimiento de hongo patógeno.

Entre los tratamientos formulados a partir de *T. harzianum* el T2 (Tricho-D 7.5 SP) resultó ser el tratamiento con el nivel de incidencia más bajo, mostrando una mejor persistencia que los tratamientos T1 (TrichoZam 10 WP) y T3 (Biotrizium). Para los tratamientos formulados a partir de *B. subtilis* el T4 (SubtiZam) con un nivel de incidencia de 4.07% fue estadísticamente diferente al T6 (Serenade 1.34 SC) con 7.87 %.

Los tratamientos botánicos T7 (*A. conyzoides*) y T8 (*M. tenuiflora*) presentaron el mismo nivel de incidencia, siendo estadísticamente iguales. No así para los tratamientos químicos donde el T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre) con 5.61% y el T10 (Propamocarb-Fosetyl-Al) con 7.87% de incidencia fueron estadísticamente diferentes al T11 (Benzotiazol) con 9.32% y estadísticamente iguales entre ellos.

El análisis de varianza para el tercer muestreo 45 días después del trasplante (Anexo 7) encontró diferencias altamente significativas ($p\text{-valor} = 0.0001$). En este muestreo se pudo observar que la mayoría de los tratamientos superaron estadísticamente al Testigo absoluto excepto T11 (Benzotiazol) y T7 (*A. conyzoides*); siendo los tratamientos T1 (TrichoZam 10 WP), T2 (Tricho-D 7.5 SP), T5 (M.E 17.4 SP) y T13 (Testigo Relativo), los que presentaron la menor incidencia del hongo (Figura 3).

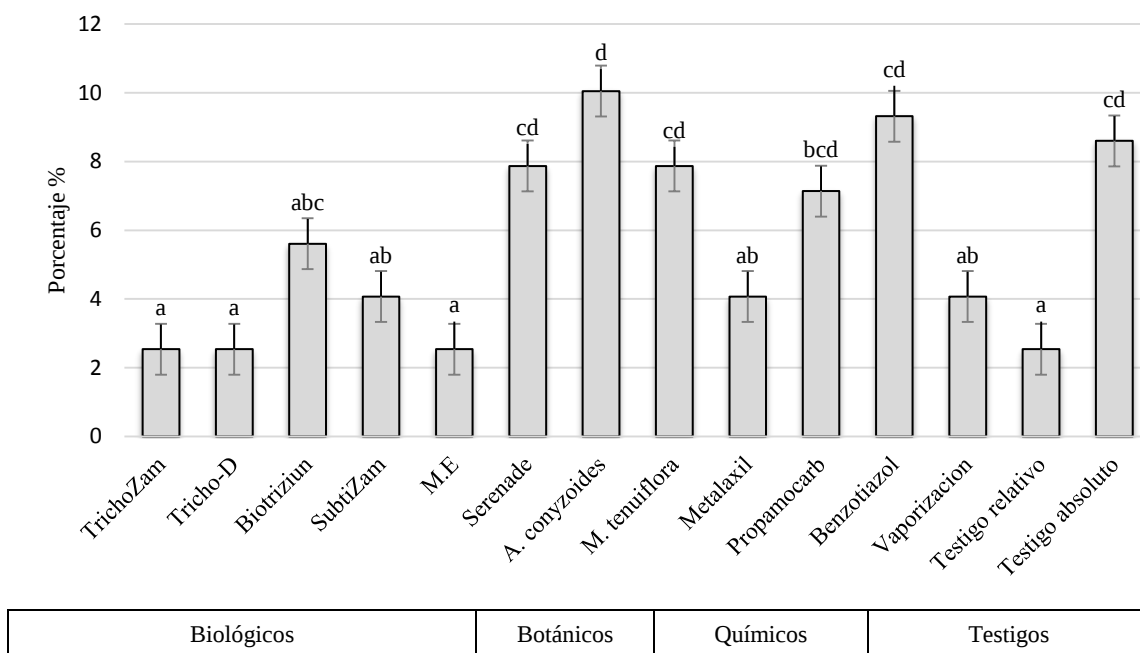


Figura 3. Porcentaje de incidencia de *Fusarium* encontrado en el tercer muestreo (45 días después del trasplante). Tratamientos con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$) por LSD Fisher. Barras indican desviación estándar. Valores transformados por $\sqrt{n + 1}$.

Los tratamientos anteriores demuestran ser los tratamientos con tendencia a ser mejores, debido a lo explicado anteriormente para los formulados a partir de *T. harzianum*, ya que este hongo tiene la capacidad de colonizar el sustrato y establecerse de manera que hacen un control persistente de los hongos patógenos.

Por consiguiente, se puede aseverar que los *Trichoderma* pueden reemplazar el uso de fungicidas químicos, sin afectar el sistema de manejo del hongo patógeno.

Uno de los aspectos que potencio el control de *Fusarium* y por ende el establecimiento de *T. harzianum* (T1 (TrichoZam 10 WP), T2 (Tricho-D 7.5 SP) y T5 (M.E 17.4 SP)) fue el alto contenido de materia orgánica presente el sustrato, Mora (2012) señala que este hongo se desarrolla mejor en una variedad de suelos ricos en materia orgánica. Además las

condiciones presentes durante el desarrollo de la investigación (25 °C) influyeron positivamente ya que el rango de temperatura para el crecimiento de *T. harzianum* oscila entre 15 y 30°C, con un óptimo de 25°C, temperaturas mayores a 30°C limitan el crecimiento y desarrollo del hongo, e inicia la formación de clamidosporas (Castro y Rivillas 2012).

Contrario a *Fusarium* ya que los ataques por este hongo son mucho más comunes y destructivos en las regiones templadas más cálidas y en los trópicos y subtrópicos llegando a ser menos dañinos o raros en climas más fríos Agrios (1996), es decir que las condiciones del ensayo pudo haber reducido la virulencia del hongo patógeno y potencializado el efecto de microorganismos antagonistas inclusive por encima de los tratamientos químicos y botánicos.

El nivel de incidencia encontrado en el T13 (Testigo relativo) no tiene mayor discusión ya que este no se inoculó con el hongo patógeno y la presencia de este en el sustrato se limita a una contaminación posiblemente por una volatilización de esporas o por salpique debido a la lluvia.

Los tratamientos formulados a partir de *T. harzianum* fueron estadísticamente iguales entre sí, sin embargo aritméticamente los tratamientos T1 (TrichoZam 10 WP) y T2 (Tricho-D 7.5 SP) fueron superiores al T3 (Biotrizium). Para los formulados a partir de *B. subtilis* el T4 (SubtiZam) fue superior al T6 (Serenade 1.34 SC) una vez más, siendo estadísticamente diferentes. Por su parte el T5 (M.E 17.4 SP) resultó ser estadísticamente igual a los formulados a partir de *T. harzianum* y al T4 (SubtiZam).

Para los tratamientos botánicos el T8 (*M. tenuiflora*) con un nivel de incidencia de 7.87% fue superior y estadísticamente diferente al T7 (*A. conyzoides*), quien resultó ser el tratamiento con el nivel de incidencia más alto durante el ensayo, sin embargo su uso se recomienda para la prevención de las enfermedades más relacionadas con frutas y verduras frescas del mercado.

El T9 (Metalaxil-Oxicloruro de cobre) se utilizó dentro del ensayo como un testigo químico sin embargo presentó una superioridad en el control de *Fusarium* sp frente a los demás tratamientos químicos.

Se pudo observar durante la investigación que los tratamientos que no fueron inoculados con las cepas de *Fusarium* sp (T12 (Vaporización) y T13 (Testigo Relativo)) presentaron la enfermedad. Esto se puede explicar por una contaminación posiblemente como se dijo anteriormente producto posiblemente de una volatilización de esporas o salpique del hongo patógeno por la lluvia (Mora 2001).

Para el caso del T12 (Vaporización) una cosa importante a tomar en cuenta es que al esterilizar un medio, independientemente del método utilizado, este quedará prácticamente sin microorganismos vivos en su ambiente haciéndolo más propenso a la colonización por agentes patógenos debido a la falta de competencia en el microambiente, esto se debe a que los microorganismos benéficos son más lentos en su reproducción que los patógenos (Lardizábal y Miselem 2006).

5.2. Altura de planta

La variable se evaluó a los 15, 30 y 45 días después del trasplante para determinar si las plantas de café se favorecían con la presencia de los microorganismos biológicos (*T. harzianum* y *B. subtilis*). Los análisis de varianza realizado para esta variable no encontraron diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos (Anexo 8, 13 y 18), esto indica que los tratamientos se comportaron de manera similar no promoviendo ni limitando la altura de las plantas.

5.3. Diámetro de tallo

La variable se evaluó a los 15, 30 y 45 días después del trasplante. Los análisis de varianza realizado para esta variable no encontraron diferencia estadística significativa entre los

diferentes tratamientos (Anexo 9, 14 y 19), esto indica que los tratamientos se comportaron de manera similar no promoviendo ni limitando el diámetro de las plantas.

5.4. Volumen de raíz

El volumen de la raíz en promedio fue mayor en los tratamientos sin *Fusarium*. Pudiéndose decir que la inoculación de *Fusarium* afectó el crecimiento de la raíz iniciándose la infección en la raíz principal como lo indica Agrios (1996).

Esta variable se evaluó a los 15, 30 y 45 días después del trasplante para determinar si las plantas de café se favorecían con la presencia de los microorganismos biológicos (*T. harzianum* y *B. subtilis*). Los análisis de varianza realizado para esta variable no encontraron diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos (Anexo 10, 15 y 20), esto indica que los tratamientos se comportaron de manera similar no promoviendo ni limitando el volumen radical de las plantas.

5.5. Peso fresco raíz

Esta variable se evaluó a los 15, 30 y 45 días después del trasplante para determinar si las plantas de café se favorecían con la presencia de los microorganismos biológicos (*T. harzianum* y *B. subtilis*). Los análisis de varianza realizado para esta variable no encontraron diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos (Anexo 11, 16 y 21), esto indica que los tratamientos se comportaron de manera similar no promoviendo ni limitando el peso fresco de la raíz de las plantas.

5.6. Peso fresco tallo y hojas

Esta variable se evaluó a los 15, 30 y 45 días después del trasplante para determinar si las plantas de café se favorecían con la presencia de los microorganismos biológicos (*T. harzianum* y *B. subtilis*). Los análisis de varianza realizado para esta variable no encontraron

diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos (Anexo 12, 17 y 22), esto indica que los tratamientos se comportaron de manera similar no promoviendo ni limitando el peso fresco foliar de las plantas.

Se pudo observar que los tratamientos formulados a partir de microorganismos *T. harzianum* y *B. subtilis* según el análisis de varianza no fueron estadísticamente diferentes a los demás tratamientos con respecto a las variables de inducción de crecimiento. Pero a pesar de eso, mostraron valores superiores de inducción de crecimiento en la mayoría de tomas de datos para los tratamientos que no fueron inoculados directamente con el hongo patógeno o aquellos formulados a partir de microorganismos.

Lo que indica una relación positiva del crecimiento y desarrollo de la planta con dos aspectos: el uso de microorganismos y una baja incidencia y severidad de *Fusarium* sp.

5.7. Análisis económico.

El análisis económico se hizo solo para los tratamientos que fueron eficientes en el manejo del *Fusarium* sp. Se puede apreciar que solo el tratamiento T1 (TrichoZam 10 WP) arrojó índices de B/C superiores a 1, lo que significó que los ingresos netos fueron superiores a los egresos netos, en otras palabras, los beneficios (ingresos) fueron mayores a la inversión realizada (egresos).

El tratamiento T2 (Tricho-D) a pesar de ser el tratamiento con los valores más bajos de incidencia en el ensayo resultó ser el segundo más rentable debido a que a pesar de ser de bajo costo la dosis es alta, con respecto a la presentación comercial. Los demás tratamientos también mostraron valores inferiores a 1, esto a consecuencia de lo alto de los costos variables.

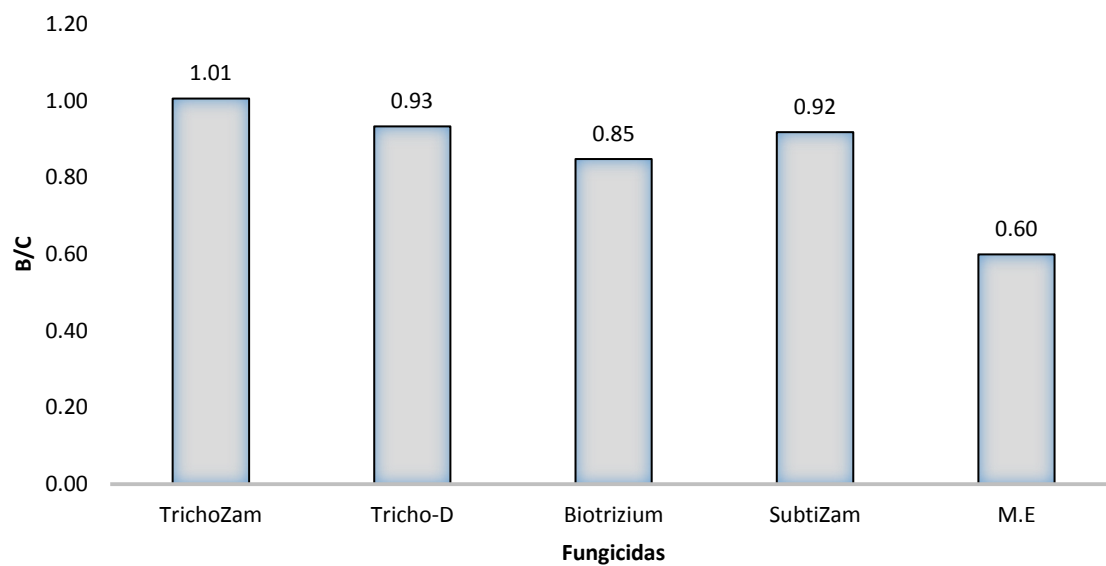


Figura 4. Rentabilidad de los tratamientos que fueron eficientes en el control de *Fusarium* sp.

VI. CONCLUSIONES

Únicamente la variable incidencia contribuyó a la diferenciación de los tratamientos evaluados.

Los fungicidas que mejor efecto presentaron sobre la reducción de la incidencia de *Fusarium* sp fueron los tratamientos TrichoZam 10 WP (0.12 g de i.a/l), Tricho-D 7.5 SP (0.3 g de i.a/l), Biotrizium, SubtiZam y M.E 17.4 SP (0.696 g de i.a/l) entre los biológicos y entre los químicos Metalaxil-oxicloruro de cobre (4.25 g de i.a/l).

Únicamente los tratamientos TrichoZam 10 WP (0.12 g de i.a/l), Tricho-D 7.5 SP (0.3 g de i.a/l) y SubtiZam mantuvieron valores constantes de incidencia bajos en los tres muestreos.

Los fungicidas Serenade 1.34 EC (0.09514 ml/l de i.a), extracto de *Mimosa tenuiflora* (4.8 ml/l de i.a), extracto de *Ageratum conyzoides* (4.8 ml/l de i.a), Propamocarb-Fosetyl (2.1 ml de i.a/l) y Benzotiazol (1.705 ml de i.a/l) en las dosis estudiadas no mostraron tener un buen efecto sobre la incidencia de *Fusarium* sp.

En la presente investigación Tricho-D 7.5 SP (0.3 g de i.a/l) mostró tener el mejor manejo de *Fusarium* sp con un efecto que se vio hasta los 45 días después del trasplante manteniendo la incidencia en valores bajos,

El uso de altos contenidos de materia orgánica junto con microorganismos antagonistas como *Trichoderma harzianum* o *Bacillus subtilis* permite un manejo sostenible de los patógenos del suelo.

Ninguno de los tratamientos mostro diferencias estadísticas significativas para las variables de inducción de crecimiento.

El análisis económico mostro que TrichoZam 10 WP fue el único tratamiento en el que los beneficios (ingresos) fueron mayores a la inversión realizada (egresos).

VII. RECOMENDACIONES

Para el manejo de *Fusarium* sp, se recomienda realizar dos aplicaciones de Tricho-D a razón de 0.3 g de i.a/litro, o TrichoZam 10 WP 7.5 SP a razón de 0.12 g de i.a/litro a intervalos de 15 días ya que con esta dosis se obtendrá un buen efecto sobre el hongo y se minimiza el daño ambiental.

Validar la información obtenida con investigaciones futuras que impliquen el estudio de cada uno de los tratamientos evaluados, en dosis diferentes y con una segunda aplicación.

En futuros ensayos considerar como variable de respuesta la severidad del ataque de *Fusarium* sp, además se debe incrementar el número de plantas muestreadas a cuatro o cinco.

Se pueden incluir como tratamientos en futuras investigaciones para el control de *Fusarium* sp, cepas de hongos endófitos del genero *Trichoderma* sp y *Fusarium oxysporum* procedentes del laboratorio de control biológico de la Universidad Nacional de Agricultura.

Se debe ajustar la dosis de los tratamientos biológicos al porcentaje de viabilidad de las conidias de estos, para no desfavorecer de la acción de los microorganismos.

A través de capacitaciones el IHCAFE debe continuar concientizando a los productores, pues la mayoría de ellos no realiza eficientemente los diferentes métodos de control preventivos y curativos de *Fusarium*.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G. 1996. Fitopatología. Enfermedades de plantas causadas por hongos. 2 ed. MX. Limusa. p. 256-512.

Ali, NI; Siddiqui, IA; Zaki, MJ; Anzari, MA. 2002. Variation between strains of *Pseudomonas bacterium*. 1. Effects on root-infecting fungi. Pakistán Journal of Biological Sciences, Vol. 4:17-19.

Álvarez, S; Sivila, N. 2013. Producción artesanal de *Trichoderma*. 1 ed. Jujuy, AR. Universidad Nacional de Jujuy. 48 p.

Arauz, L. 1998. Fitopatología, un enfoque agroecológico: Hongos fitopatógenos. MR Murillo. 1 ed. San José, CR. Universidad de Costa Rica. p. 105-129.

Barrera, J. 2013. Problemas fitosanitarios del café. En: Seminario Capacitación y divulgación de acciones para la contención de la roya del cafeto en México. Tapachula, Chiapas. 44 p.

Bustamante Salgado, MR. 2015. Obtención y evaluación in vitro de metabolitos secundarios de dos cepas de *Bacillus subtilis* contra el hongo fitopatógeno *Fusarium* spp. Proyecto Especial de Graduación de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 27 p.

Cárdenas, SE. 2007. Caracterización morfológica y agronómica de la colección núcleo de café (*Coffea arabica*) del CATIE. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 117 p.

Castro, M; Rivillas, A. 2012. *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. SM Marín. Chinchiná, Caldas, CO. CENICAFÉ. (Boletín técnico CENICAFÉ N° 38). 33 p.

Castro, M; Rivillas, A; Serna, C; Mejía, C. 2008. Germinadores de café. Construcción, manejo de *Rhizoctonia solani* y costos. SM Marín. Chinchiná, Caldas, CO. CENICAFÉ. (Avances técnicos N° 368). 12 p.

CHEMEXC. Products (en línea). Tegucigalpa, HN. Consultado 30 ene. 2016. Disponible en <http://www.chemexc.com/fungosin.html>

Cordero, M. 2013. Como controlar los hongos que causan mal de talluelo. San Salvador, ES. Asociación el Bálsamo. (Cuadernillos de Agricultura Agroecológica). 16 p

Córdova Zapata, MI. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por TrichoZam (*Trichoderma harzianum*) y Mycoral (micorriza vesículo arbuscular) en el cultivo de tomate. Proyecto Especial de Graduación de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 30 p.

Duarte López, HD. 2011. Comparación de tres productos enraizadores aplicados al café (*Coffea arábica*) en la etapa de vivero. Tesis Ing. Agr. Catacamas, Honduras. Universidad Nacional de Agricultura. 56 p.

Espinoza Lozano, RF. 2013. Evaluación de tres cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa*). Tesis Ing. Agr. EC. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. 80 p.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2003. Alternativas al bromuro de metilo para la fumigación de suelos. 79 p.

Fernández, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Revista Manejo Integrado de Plagas. no. 62:96-100.

Fiori, A; Schwan-Estrada, F; Stangarlin, J; Vida, J; Scapim, C; Cruz, M; Pascholati, S. 2000. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. J. Phytopathol. 148:483-487

Flores, Y; López, F; Villanueva, J. 2012. Efecto de los microorganismos eficaces y *Trichoderma* sp sobre la incidencia de *Fusarium* y *Sclerotium rolfsii* en una siembra experimental de pimentón. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. 13 p.

French, E; Hebert, T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. MM de la Cruz. San José, CR. IICA (Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas). (Libros y materiales educativos N° 43). p. 188-191

FUNICA (Fundación para el desarrollo tecnológico agropecuario y forestal en Nicaragua). 2011. Producción y uso de hongos entomopatógenos. A Monzón. Managua, NI. 63 p.

Gaitán, A; Villegas, C; Rivillas, C; Hincapié, E; Arcila, J. 2011. Almacigos de café. Calidad fitosanitaria, manejo y siembra en el campo. CENICAFÉ. SM Marín. Chinchiná, Caldas, CO. (Avances técnicos N° 404). 8 p.

Guerra Burgos, JO; Welchez Arita, JA. 2013. Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya *Hemileia vastatrix*. Programa Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, HN. 30 p.

Guilcapi Pacheco, ED. 2009. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viridae* en la producción de plantas de café (*Coffea arabica*) variedad caturra a nivel de vivero. Tesis Ing. Agr. Riobamba, EC. Escuela superior politécnica de Chimborazo. 80 p.

Hannan, G. E. 2001. *Trichoderma* spp., Including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification system) (en línea). Consultado el 25 de junio del 2016. Disponible en: <http://www.birdhybrids.com/t-22.htm>.

Harman, E. 1998. *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycota: Moniliales) (en línea). Cornell University, Geneva, NY. Consultado el 3 agosto del 2015. Disponible en: <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

Hoyos, M. Diversidad de aislamientos neotropicales de *Trichoderma* spp y su potencial en estimulación de crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de grado para optar el grado de doctora en Biología. Medellín, CO. Universidad de Antioquia. 120 p

ICO (International Coffee Organization). 2007. The history of coffee (en línea). Londres, GB. Consultado 26 jul. 2015. Disponible en http://www.ico.org/coffee_story.asp

IHCAFE (Instituto Hondureño del Café). 2007. Información general de café de Honduras (en línea). Tegucigalpa MDC. Consultado el 24 de julio. 2015. Disponible en: http://www.ihcafe.hn/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=8:generalidades-cafe&id=1:area-tecnica&Itemid=143

_____ (Instituto Hondureño del Café). 2016. Información Estadística al 31 de mayo del 2016. Cosecha 2015-2016 (en línea) Tegucigalpa MDC, HN. Consultado el 31 may. 2016. Disponible en: <http://www.ihcafe.hn/images/Boletin%2031-05-16.pdf>

Jeffrey, P. 2003. Depressed coffee prices yield suffering in poor countries (en línea). National Catholic Reporter. Consultado el 12 ago. 2015. Disponible en: <http://www.globalexchange.org/news/depressed-coffee-prices-yield-suffering-poor-countries-0>

Lardizábal, R; Miselem, J. 2006. Manual práctico para la producción de cultivos. La Lima, HN. USAID-RED. p. 37-38

Layton, C; Maldonado, E; Monroy, L; Corrales, L; Sánchez, L. 2011. *Bacillus* spp perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. Revista en ciencias biomédicas. 9(15):113-214

López, M; Ros, M.; Pascual, J. 2011. Mycoparasitism-related genes expression of *Trichoderma harzianum* isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. Biological Control 56:59-66.

Matute, O. 2014. Cuatro Buenas Prácticas Agrícolas en semilleros y viveros de café (diapositivas). IHCAFE (Instituto Hondureño del café). San José, La Paz, HN. 28 diapositivas.

Meneses, A. 2003. Utilización de hongos específicos para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 67 p.

Menjivar Barahona R. 2005. Estudio del potencial antagonista de hongos endófitos para el biocontrol del nematodo barrenador *Radopholus similis* en plantaciones de banano en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 81 p.

Montoro, A. 2011. Caracterización y análisis del desplazamiento de fluidos no miscibles en medios porosos. Tesis. Ph. D. Córdoba, AR. Universidad de Córdoba. 54 p.

Mora Castillo, JR. 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorrizas y *Trichoderma harzianum*. Programa Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, HN. 42 p.

Muñoz, C; Virgen, G; Herrera, A; Olalde, V. 2001. Introducción de agentes de control biológico de *Rhizoctonia solani* en suelos solarizados o encalados en condiciones de invernadero. Revista Manejo Integrado de Plagas. no. 59:10-14.

Okunade, A. 2002. *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. Fitoterapia. 73:1-2

Orbera, T; Serrat, M; Ortega, E. 2014. Potencialidades de la cepa SR/B-16 de *Bacillus subtilis* para el control de enfermedades causadas por hongos en cultivos de interés agrícola. Revista Biotecnología Aplicada. 31(1):9-19

Padilla, E. 2003. Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques de Honduras. En: Taller Regional sobre los Recursos Genéticos Forestales de Centroamérica, Cuba y México CATIE, Turrialba, CR, 24 al 29 de noviembre 2002. 47 p

Pattnaik, S; Subramanyam, V; Kole, C. 1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. Microbioscience. 86(349):237-46

Perdomo, M; Peña, J; Guedez, C; Castillo, C; Cásales, L. 2007. *Trichoderma harzianum* para el control de la enfermedad “sancocho” en semilleros de tomate (*Lycopersicum sculentum* Mill). Revista Academia. 6(12):52-61

Pocasangre, L. 2002. Mejoramiento biológico de vitro-plantas de banano mediante la utilización de hongos endófitos para el control del nematodo barrenador *Radopholus similis*. CATIE, Turrialba, CR. p. 33-39

Ramamoorthy, V; Raguchander, T; Samiyappan, R. 2001. Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*. Plant and Soil, Vol. 239:55-68

Ramos Martínez, LM. 2006. Efecto de hongos endófitos sobre promoción de crecimiento in vitro plantas de banano y piña. Proyecto Especial del programa de Ingeniero Agrónomo de la carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 29 p

Rao, J; Riechst; Aromen; Koerperpflegem. 1976. Biological activities of the ethanol extract of *Ageratum conyzoides*. 26:50.

Rebolledo, O; Lezama, R; Michel, A; Molina, J; López, M; Galindo, E; Pescador, A. 2002. El uso del hongo *Trichoderma* como una alternativa en el control de enfermedades. En: Memoria 2002 Simposio de Control biológico. Tecomán, MX. 117-120.

Rey, M; Delgado, J; Rincón, A; Limón, M y Benítez, T. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. Revista Iberoamericana de micología. 17: 31-36.

Ríos, F; Baca, P. 2002. Control de plagas y enfermedades de los cultivos. Pitty, A. 1 ed. Managua, NI. Instituto Nacional Tecnológico. 4 p.

Saba, H; Vibhash, D; Manisha, M; Prashant, K; Farhan, H; Tauseef, A 2012. *Trichoderma* a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. Mycosphere 3(4):524–531

Salazar, R. 1991. Plagas y enfermedades forestales en América Central: Mal de talluelo. Turrialba, CR. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). (Manual técnico N° 4). p. 205-219

Salvador, G. 2004. Evaluación de tres productos de control biológico comerciales a base de *Trichoderma* spp y un aislamiento de *Trichoderma* sp. In vitro con énfasis en pruebas de control de calidad. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 18 p.

Simón, J. 2009. Manual de microbiología y remineralización de suelos en manos campesinas. Uruapan, MX. GAIA Orgánicos. 76 p.

Stefanova, M; Leiva, A; Larrinaga, L; Coronado, M. 1999. Metabolic activity of *Trichoderma* spp isolates for a control of soilborne phytopathogenic fungi. Revista Luz. no. 16:509-516

Tejera, B; Rojas, M.; Heydrich, M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 42(3):131-138

Terralia, 2010. Metalaxil (en línea). Madrid, ESP. Consultado el 16 jun. 2016. Disponible en: http://www.terralia.com/vademecum_de_productos_fitosanitarios_y_nutricionales/index.php?proceso=registro&numero=858

Tran, H. 2010. Using *Trichoderma* species for biological control of Plant pathogens in Vietnam. (Hanoi). Journal ISSAAS. 16(1):17-21

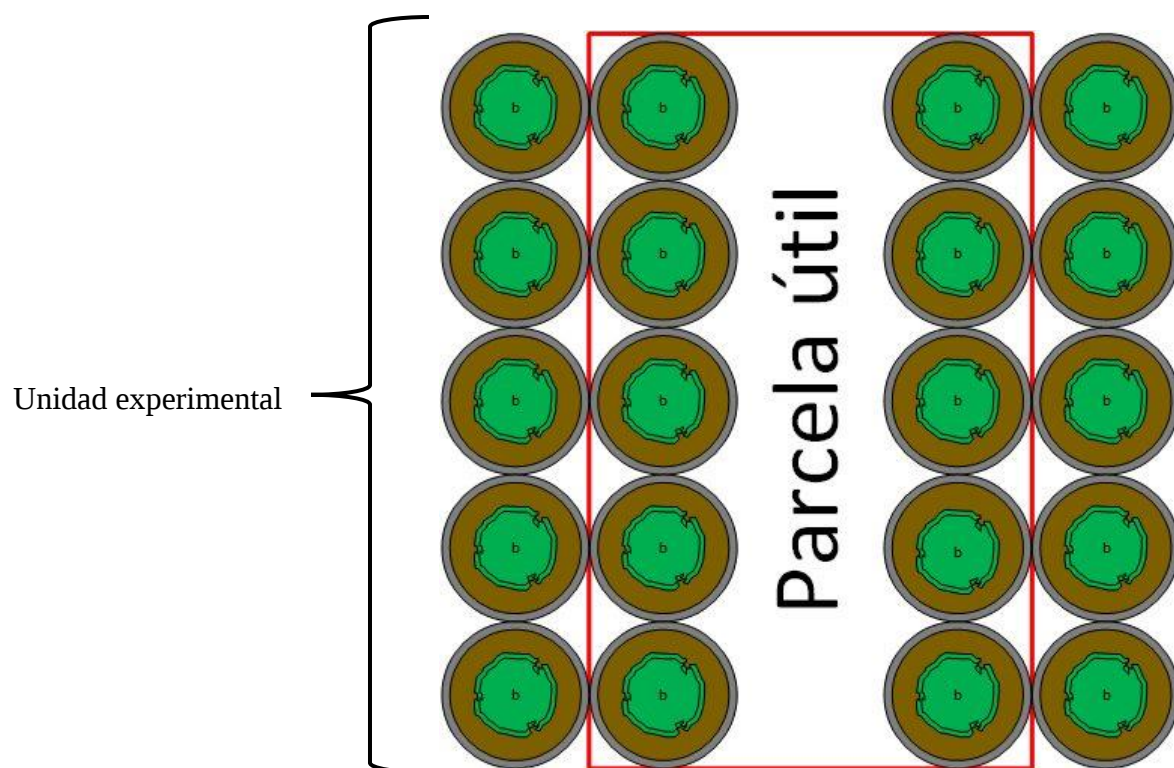
Tronconi, N. 2001. Principales enfermedades del cultivo del cafeto (en línea). Tegucigalpa. HN. IHCAFE (Instituto Hondureño del Café). Consultado el 18 jun. 2015. Disponible en: http://www.ihcafe.hn/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=24:tec-guia-enfermedades&id=1:area-tecnica&Itemid=143&start=20

ANEXOS

Anexo 1. Distribución de los tratamientos.

I	II	III	IV
T2	T9	T11	T10
T12	T1	T5	T7
T14	T6	T2	T13
T4	T8	T12	T9
T10	T3	T14	T1
T7	T11	T4	T6
T13	T5	T10	T8
T9	T2	T7	T3
T1	T12	T13	T11
T6	T14	T9	T5
T8	T4	T1	T2
T3	T10	T6	T12
T11	T7	T8	T14
T5	T13	T3	T4

Anexo 2. Croquis de parcela útil



Anexo 3. Hoja de toma de datos.

EFFECTIVIDAD DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS, BOTÁNICOS Y QUÍMICOS PARA EL CONTROL DE *Fusarium* sp EN VIVEROS DE CAFÉ

Fecha: _____ Muestreo N°: _____

N° Bloq	N° Trat	Planta	Altura (cm)	Diam tallo (mm)	Presencia de <i>Fusarium</i> (si/no)	Vol raíz (ml)	Peso de tallo y hojas (g)	Peso de raíz (g)
	1	1						
		2						
	2	1						
		2						
	3	1						
		2						
	4	1						
		2						
	5	1						
		2						
	6	1						
		2						
	7	1						
		2						
	8	1						
		2						
	9	1						
		2						
	10	1						
		2						

Anexo 4. Cálculos de fertilización de viveros.

1^{ra} aplicación

$$\frac{1120 \text{ plantas} \times 25 \text{ ml/planta}}{1000} = 28 \text{ litros de solución}$$

Entonces:

$$\frac{34 \text{ gramos}}{1 \text{ Litro}} = \frac{x}{28 \text{ Litros}}$$

$$x = 952 \text{ gramos} \rightarrow \mathbf{2.1 \text{ Libras}} \text{ de cada fertilizante}$$

2^{da} aplicación en adelante

$$\frac{1120 \text{ plantas} \times 40 \text{ ml/planta}}{1000} = 44.8 \text{ litros de solución}$$

Entonces:

$$\frac{34 \text{ gramos}}{1 \text{ Litro}} = \frac{x}{44.8 \text{ Litros}}$$

$$x = 1523.2 \text{ gramos} \rightarrow \mathbf{3.36 \text{ Libras}} \text{ de cada fertilizante}$$

Anexo 5. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el primer muestreo.

Variable N R² R² Aj CV
Incidencia 56 0.64 0.50 55.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

	F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	435.63	16	27.23	4.42	0.0001	
Tratamiento	372.90	13	28.68	4.66	0.0001	
Bloque	62.73	3	20.91	3.39	0.0272	
Error	240.23	39	6.16			
Total	675.86	55				

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.54974

Error: 6.1598 gl: 39

Tratamiento Medias n E.E.

9	1.00	4	1.24	A
5	1.00	4	1.24	A
2	2.54	4	1.24	A
1	2.54	4	1.24	A
3	2.54	4	1.24	A

11	4.07	4	1.24	A
10	4.07	4	1.24	A
6	4.07	4	1.24	A
7	4.07	4	1.24	A
4	4.07	4	1.24	A
12	7.87	4	1.24	B
13	7.87	4	1.24	B
8	8.60	4	1.24	B
14	8.60	4	1.24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 6. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el segundo muestreo.

Variable N R² R² Aj CV
incidencia 56 0.51 0.31 42.98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	284.50	16	17.78	2.57	0.0083
Bloque	53.86	3	17.95	2.59	0.0665
Tratamiento	230.64	13	17.74	2.56	0.0117
Error	270.24	39	6.93		
Total	554.74	55			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.76496

Error: 6.9293 gl: 39

Tratamiento Medias n E.E.

2	2.54	4	1.32	A
14	4.07	4	1.32	A B
1	4.07	4	1.32	A B
4	4.07	4	1.32	A B
5	4.80	4	1.32	A B C
9	5.61	4	1.32	A B C D
3	5.61	4	1.32	A B C D
12	5.61	4	1.32	A B C D
13	7.14	4	1.32	B C D
10	7.87	4	1.32	C D
6	7.87	4	1.32	C D
8	8.60	4	1.32	D
7	8.60	4	1.32	D
11	9.32	4	1.32	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 7. ANAVA y prueba de medias para el nivel de incidencia en el tercer muestreo.

Variable N R² R² Aj CV
Incidencia 56 0.60 0.44 46.70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
-------------	-----------	-----------	-----------	----------	----------------

Modelo.	412.03	16	25.75	3.73	0.0004
Bloque	12.54	3	4.18	0.60	0.6157
Tratamiento	399.49	13	30.73	4.45	0.0001
Error	269.45	39	6.91		
<u>Total</u>	<u>681.48</u>	<u>55</u>			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.75945

Error: 6.9091 gl: 39

Tratamiento Medias n E.E.

2	2.54	4	1.31	A
13	2.54	4	1.31	A
1	2.54	4	1.31	A
5	2.54	4	1.31	A
9	4.07	4	1.31	A B
12	4.07	4	1.31	A B
4	4.07	4	1.31	A B
3	5.61	4	1.31	A B C
10	7.14	4	1.31	B C D
8	7.87	4	1.31	C D
6	7.87	4	1.31	C D
14	8.60	4	1.31	C D
11	9.32	4	1.31	C D
<u>7</u>	<u>10.05</u>	<u>4</u>	<u>1.31</u>	<u>D</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 8. ANAVA para la variable altura en el primer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Altura (cm)	56	0.32	0.04	20.99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	37.92	16	2.37	1.14	0.3546
Tratamiento	34.60	13	2.66	1.28	0.2648
Bloque	3.32	3	1.11	0.53	0.6629
Error	80.99	39	2.08		
<u>Total</u>	<u>118.90</u>	<u>55</u>			

Anexo 9. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el primer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Diámetro de tallo (mm)	56	0.34	0.07	18.65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	1.39	16	0.09	1.26	0.2690
Tratamiento	1.24	13	0.10	1.39	0.2081
Bloque	0.15	3	0.05	0.71	0.5527
Error	2.68	39	0.07		
<u>Total</u>	<u>4.07</u>	<u>55</u>			

Anexo 10. ANAVA para la variable volumen de raíz en el primer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Vol. Raiz (ml)	56	0.41	0.17	25.65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.53	16	0.03	1.70	0.0890
Tratamiento	0.24	13	0.02	0.96	0.5087
Bloque	0.29	3	0.10	4.91	0.0055
Error	0.76	39	0.02		
Total	1.28	55			

Anexo 11. ANAVA para la variable peso de raíz en el primer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
P.F raíz (g)	56	0.33	0.06	21.51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.04	16	2.6E-03	1.20	0.3075
Tratamiento	0.04	13	2.7E-03	1.27	0.2707
Bloque	0.01	3	2.0E-03	0.91	0.4434
Error	0.08	39	2.1E-03		
Total	0.12	55			

Anexo 12. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el primer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
P.F tallo y hojas (g)	56	0.49	0.28	23.22

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.80	16	0.05	2.31	0.0167
Tratamiento	0.51	13	0.04	1.82	0.0746
Bloque	0.29	3	0.10	4.44	0.0089
Error	0.84	39	0.02		
Total	1.64	55			

Anexo 13. ANAVA para la variable altura en el segundo muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Altura (cm)	56	0.24	0.00	22.35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	41.01	16	2.56	0.76	0.7200
Bloque	8.26	3	2.75	0.81	0.4938
Tratamiento	32.74	13	2.52	0.74	0.7096
Error	131.95	39	3.38		
<u>Total</u>	<u>172.96</u>	<u>55</u>			

Anexo 14. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el segundo muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
<u>Diametro de tallo (mm)</u>	<u>56</u>	<u>0.96</u>	<u>0.95</u>	<u>19.88</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	42.20	16	2.64	62.23	<0.0001
Bloque	41.46	3	13.82	326.13	<0.0001
Tratamiento	0.73	13	0.06	1.33	0.2396
Error	1.65	39	0.04		
<u>Total</u>	<u>43.85</u>	<u>55</u>			

Anexo 15. ANAVA para la variable volumen de raíz en el segundo muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
<u>Vol. Raiz (ml)</u>	<u>56</u>	<u>0.17</u>	<u>0.00</u>	<u>22.00</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.06	16	3.7E-03	0.49	0.9366
Bloque	0.02	3	0.01	0.70	0.5563
Tratamiento	0.04	13	3.3E-03	0.44	0.9427
Error	0.29	39	0.01		
<u>Total</u>	<u>0.35</u>	<u>55</u>			

Anexo 16. ANAVA para la variable peso de raíz en el segundo muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
<u>P.F raiz (g)</u>	<u>56</u>	<u>0.33</u>	<u>0.06</u>	<u>36.27</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.07	16	4.2E-03	1.21	0.3022
Bloque	0.01	3	2.9E-03	0.83	0.4863
Tratamiento	0.06	13	4.5E-03	1.30	0.2540
Error	0.14	39	3.5E-03		
<u>Total</u>	<u>0.20</u>	<u>55</u>			

Anexo 17. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el segundo muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
P.F tallo y hojas (g)	56	0.33	0.06	41.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.91	16	0.06	1.20	0.3091
Bloque	0.12	3	0.04	0.88	0.4609
Tratamiento	0.79	13	0.06	1.28	0.2675
Error	1.84	39	0.05		
Total	2.75	55			

Anexo 18. ANAVA para la variable altura en el tercer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Altura (cm)	56	0.19	0.00	17.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	21.46	16	1.34	0.56	0.8947
Bloque	2.07	3	0.69	0.29	0.8343
Tratamiento	19.39	13	1.49	0.62	0.8209
Error	93.52	39	2.40		
Total	114.97	55			

Anexo 19. ANAVA para la variable diámetro de tallo en el tercer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Diametro de tallo (mm)	56	0.32	0.04	20.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	1.86	16	0.12	1.15	0.3503
Bloque	0.94	3	0.31	3.07	0.0389
Tratamiento	0.93	13	0.07	0.70	0.7489
Error	3.96	39	0.10		
Total	5.83	55			

Anexo 20. ANAVA para la variable volumen de raíz en el tercer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Vol. Raiz (ml)	56	0.54	0.36	45.92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.74	16	0.05	2.91	0.0033
Bloque	0.20	3	0.07	4.12	0.0124
Tratamiento	0.55	13	0.04	2.62	0.0100
Error	0.62	39	0.02		
<u>Total</u>	<u>1.37</u>	<u>55</u>			

Anexo 21. ANAVA para la variable peso de raíz en el tercer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
<u>P.F raíz (g)</u>	<u>56</u>	<u>0.45</u>	<u>0.23</u>	<u>48.11</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0.54	16	0.03	2.03	0.0360
Bloque	0.30	3	0.10	6.07	0.0017
Tratamiento	0.24	13	0.02	1.10	0.3890
Error	0.65	39	0.02		
<u>Total</u>	<u>1.19</u>	<u>55</u>			

Anexo 22. ANAVA para la variable peso de tallo y hojas en el tercer muestreo.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
<u>P.F tallo y hojas (g)</u>	<u>56</u>	<u>0.44</u>	<u>0.21</u>	<u>47.24</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	2.71	16	0.17	1.90	0.0513
Bloque	0.43	3	0.14	1.59	0.2062
Tratamiento	2.28	13	0.18	1.97	0.0511
Error	3.47	39	0.09		
<u>Total</u>	<u>6.18</u>	<u>55</u>			