

MANEJO DE LA LLAGA NEGRA DEL CAFETO¹

René Alejandro Gutiérrez-González*; Bertha Lucía Castro-Caicedo**;
Carlos Alberto Rivillas Osorio**

RESUMEN

GUTIÉRREZ G., R.A.; CASTRO C., B.L. ; RIVILLAS O., C. Manejo de la llaga negra del café. Cenicafé 57(4):299-311.2006.

Para recuperar sitios después de la extracción de plantas infectadas con *Rosellinia bunodes*, se evaluaron prácticas de manejo antes de la siembra de nuevas plantas, bajo dos modalidades: con y sin solarización de los sitios, combinadas con los tratamientos: siembra inmediata, aplicación de *Trichoderma koningii*(Tk), inoculación previa con micorriza arbuscular (MA) *Glomus manihotis*, aplicación del fungicida Topsin® y siembra de plantas en sitios sin patógeno. Se sembraron cafetos variedad Colombia y se empleó un diseño aleatorio, con arreglo factorial 4x2+1, con 25 repeticiones. En las plantas se registraron las variables de crecimiento durante los primeros ocho meses y se calificó la presencia del patógeno en las raíces, y el peso seco de éstas y de la parte aérea de las plantas. En almácigo y en el lote se evaluó la población nativa de MA y de *Trichoderma* spp. Durante 30 meses se evaluó el desarrollo de las plantas para determinar el ataque del patógeno. Se observaron diferencias en el peso seco de la parte aérea en los tratamientos solarización+MA y solarización+Tk. En almácigo hubo diferencias en la población y colonización de las raíces tratadas con MA, predominando los géneros *Acaulospora* y *Glomus*, y en el lote se identificaron *Acaulospora foveata*, *A. myriocarpa*, *A. mellea*, *Sclerocystis* spp. y *Gigaspora* spp.; también se aisló *Trichoderma* nativo. No hubo presencia del patógeno en los tratamientos, por tanto, la principal labor para impedir el ataque de *R. bunodes* en plantas sembradas en sitios infestados es la extracción de residuos de raíces infectadas.

Palabras clave: Café, llagas radicales, *Rosellinia bunodes*, manejo integrado de enfermedades, control biológico.

ABSTRACT

In order to recover field sites after the extraction of plants infected with *Rosellinia bunodes*, several practices were evaluated before planting new nursery plants under two modalities: field sites with and without solarization, combined with the following treatments: immediate planting, application of *Trichoderma koningii* (Tk), previous inoculation with the arbuscular mycorrhiza (AM) *Glomus manihotis*, application of the fungicide Topsin® and planting in pathogen-free sites. Coffee plants of the Colombia variety were planted in a completely randomized design organized as a 4x2+1 factorial array with 25 repetitions. The growth variables were registered in the plants during the first 8 months and the presence of the pathogen in the roots as well as their dry weight and the aerial parts of the plants were measured. The native population of *Trichoderma* spp. and of AM was evaluated in the plantlets substrate and the field sites. During 30 months the development of the plants was assessed with the purpose of determining the attack of the pathogen. Some differences regarding the dry weight of the aerial part in the treatments solarization + MA and solarization + Tk were observed. Under nursery conditions, there were significant differences in spores population and colonization of the roots treated with AM, with predominance of the genera *Acaulospora* and *Glomus*, and in the field *Acaulospora foveata*, *A. myriocarpa*, *A. mellea*, *Sclerocystis* spp. and *Gigaspora* spp. were identified; native *Trichoderma* was also isolated. The pathogen was not present in any treatment. Therefore, the main practice to prevent *Rosellinia bunodes* attacks in plants sown in infested sites is the extraction of infected roots residuals.

Keywords: Coffee, root rots, *Rosellinia bunodes*, disease integrated management, biological control.

¹ Fragmento de la tesis "Manejo de la Llagas negras *Rosellinia bunodes* Berk. y Br en árboles de café", presentada a la Universidad de Caldas para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

* Estudiante Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de Agronomía, Universidad de Caldas.

** Investigador Científico II e Investigador Científico III, respectivamente. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

Entre los patógenos que afectan la raíz del cafeto se encuentran las especies del género *Rosellinia*, causantes de enfermedades conocidas como llagas radicales, llaga negra o podredumbre negra, llaga estrellada, lamparón, rosellinia, mal de los cuatro años, roseliniosis, pudrición de raíces o mal de Aracuara (11, 12, 13, 18, 22). La primera referencia de la enfermedad data del año 1870 cuando fue observada por Berkeley y Broome sobre fragmentos de raíces podridas provenientes de cafetos de Ceilán (22). En 1902, Zimmerman constató la presencia de *R. bunodes* sobre raíces de cafetos, en la isla de Java, y Fawcett y Matz fueron los primeros en registrar la enfermedad en cafetales en Puerto Rico (22). El género *Rosellinia* comprende en su mayoría especies habitantes del suelo que causan pudrición de raíces y del cuello en plantas leñosas, árboles y arbustos, así como en tubérculos de otros cultivos (22). En general, son patógenos importantes en el trópico y en las zonas templadas (15) y están ampliamente distribuidas tanto en América tropical como en la República Centroafricana y en India, Indonesia, Malasia, Filipinas, Sri Lanka y Zaire.

En Colombia, la enfermedad se registró por primera vez en 1931, en los departamentos de Antioquia, Caldas, Cundinamarca, Santander y Valle del Cauca (11); y se han identificado las especies *R. bunodes* Berk y Br. causante de la llaga negra y *R. pepo* que ocasiona la llaga estrellada (5, 13). Actualmente, *Rosellinia* spp. se encuentra en todos los departamentos cafeteros de Colombia y afecta además, cultivos perennes asociados al café como cítricos, macadamia, cacao y forestales. En café, las llagas radicales se observan generalmente en focos aislados, en plantas recién sembradas o de mayor edad, establecidas en zonas recién desmontadas o donde existen troncos de árboles en descomposición (5, 8, 12, 13).

Los síntomas secundarios de las plantas son un amarillamiento general, seguido de un marchitamiento y secamiento completo del follaje; generalmente, se observan las hojas adheridas a la planta (5). En el cuello y las raíces los síntomas primarios se evidencian como una pudrición de la corteza, debajo de la cual se observan puntos y rayas negras entre los tejidos (*R. bunodes*), correspondientes a masas de micelio (14), o en el caso de *R. pepo*, el micelio forma abanicos o estrellas (13). Ibarra *et al.* (14), afirman que en el almácigo, las plántulas pueden mostrar los síntomas secundarios e invasión de raíces por el hongo en un período de 50 días, después de la inoculación de *R. bunodes*; mientras que en el campo, dichos síntomas pueden observarse después de 1 a 3 años de haberse iniciado el proceso infectivo, y de acuerdo con la edad de las plantas (12, 18). Aranzazu (2) y Castro *et al.* (8), observaron la asociación de focos de infección de *R. bunodes* y *R. pepo* en lotes con antecedentes de siembra de yuca, debido a la cantidad de residuos de esta última que quedan en el suelo, los cuales son fuente de nutrimentos para el patógeno (13).

El impacto económico de las llagas radicales en café se traduce en la disminución progresiva del número de árboles productivos, los costos directos de un manejo integrado de la enfermedad, la eliminación de árboles enfermos y muchas veces, el precio de no poder sembrar café en los suelos contaminados por el patógeno (8). De igual forma, el alcance del problema abarca la inutilización de áreas para otros cultivos, debido al amplio rango de hospedantes que tiene este patógeno (22).

En Colombia, los casos frecuentes de focos de infección de llagas radicales, tanto en café como en otros cultivos, han motivado el desarrollo de trabajos de investigación en el laboratorio, el invernadero y el campo,

a partir de los cuales se han generado resultados promisorios en el manejo del problema (3, 6, 7, 9, 10, 19). El objetivo del presente trabajo fue disminuir el avance de la enfermedad entre plantas de café, recuperar áreas afectadas y garantizar la supervivencia de las plantas sembradas, bajo condiciones de una infección natural de *R. bunodes*. Para ello se evaluaron estrategias de manejo y su posible impacto sobre las plantas y/o microorganismos del suelo, con el fin de entregar soluciones efectivas, económicamente viables y ambientalmente sostenibles a los caficultores y agricultores en general, afectados por este tipo de problemas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se realizó en la finca Manila, ubicada en el municipio de Palestina (Caldas), a 1.230m de altitud y con un promedio de temperatura de 22°C. El experimento se estableció en un lote conformado por 700 árboles de café de la variedad Colombia de 5 años de edad, en

un terreno con topografía plana, suelo de textura franco arcillosa, pH 5,4 y 8,5% de materia orgánica.

Se constató la presencia de aproximadamente 400 árboles de café afectados por llaga negra (*R. bunodes*), mediante la identificación de árboles con síntomas secundarios de amarillamiento, árboles muertos y residuos de árboles (tocones), así como la verificación en el cuello del tallo de la presencia de signos del hongo, como masas de micelio que forman rayas y puntos negros, de acuerdo con lo descrito por Ibarra *et al.* (14). Se marcó cada planta para asignarlas aleatoriamente a las prácticas de manejo o tratamientos a evaluar (Tabla 1), bajo un diseño experimental completamente aleatorio en arreglo factorial 4 x 2 +1 (4 tratamientos y 2 modalidades: con y sin solarización), siendo la unidad experimental, la planta, con 25 repeticiones. Como testigo de referencia (Tratamiento 9), sitios libres del patógeno, se seleccionaron plantas sanas, aledañas al foco de infección, verificando la ausencia del patógeno.

Tabla 1. Descripción de las prácticas de manejo de la llaga negra (*R. bunodes*).

| SIN SOLARIZACIÓN | CON SOLARIZACIÓN |
|--|---|
| 1. Siembra de las plantas inmediatamente después de la erradicación de las plantas enfermas. | 2. Siembra de las plantas después de la solarización de los sitios dejados por plantas enfermas. |
| 3. Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de las plantas | 4. Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> posterior a la solarización y la siembra de las plantas |
| 5. Siembra de las plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> . | 6. Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> después de la solarización |
| 7. Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de las plantas | 8. Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) posterior a la solarización y la siembra de las plantas. |
| 9. Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos | |

Prácticas de manejo. Las prácticas de manejo (Tabla 1) se aplicaron de la siguiente forma: para la modalidad con solarización, se erradicaron las plantas afectadas y posteriormente se ahoyó el suelo a una profundidad de 40cm x 50cm de ancho; alrededor del hoyo se distribuyó el suelo, en una capa delgada, para que recibiera los rayos del sol. Cada sitio se cubrió con un plástico negro con el fin de incrementar la temperatura del suelo y evitar posibles problemas de erosión. Cada 30 días se hicieron volteos del suelo manteniendo el sitio completamente libre de arvenses, durante seis meses. Para la modalidad sin solarización, las plantas seleccionadas se erradicaron después de los seis meses de realizar la anterior práctica, para hacer la aplicación de los tratamientos y la siembra de las plantas en la misma fecha de la modalidad con solarización.

En todos los casos se realizó la extracción del árbol (sitio o unidad experimental), con su sistema radical, y la eliminación rigurosa de los residuos de raíces. En cada planta se calificó la severidad del daño por *R. bunodes*, de acuerdo con la escala de Castro (6).

Al momento de la siembra se aplicaron los tratamientos de *Trichoderma koningii* y el fungicida Topsin[®]. Se utilizó un aislamiento de *T. koningii* previamente seleccionado por López y Castro (17), multiplicado en un sustrato de arroz molido, a concentración de 1×10^8 esporas/g. Al momento de la siembra se aplicaron 50g de dicho sustrato en el fondo y las paredes de cada hoyo. Con el fungicida se preparó una mezcla de 2,0cc.L⁻¹ de agua, y con una regadera manual se aplicaron 2L de la mezcla por cada sitio, remojando las paredes y el fondo del hueco. Igualmente se sembraron las plantas previamente asociadas a la micorriza arbuscular (MA) *Glomus manihotis*.

Preparación del almácigo. En el sustrato suelo:pulpa de café (relación 3:1), en bolsas de 17 x 23cm, se sembraron chapolas de café de la variedad Colombia de 60 días de germinadas. Para prevenir el ataque de nematodos se aplicó 1g de carbofuran (Furadán[®]) a todas las plantas, excepto en aquellas inoculadas con MA. La multiplicación de *Glomus manihotis* se realizó utilizando el método de Castro *et al.* (9) y Castro (10) sobre plantas de *Bracharia decumbens*. Se aplicaron 25g/planta de suelo con esporas puras de la MA (43 esporas/g de suelo). Posteriormente, el inóculo se puso en contacto directo con el sistema radical de las chapolas al momento de la siembra en la bolsa, dejándose las plantas en el almácigo durante seis meses antes de la siembra en el lote.

Observaciones en las plantas de almácigo. Para conocer el posible efecto de la MA sobre el desarrollo de las plantas, una semana antes de la siembra en el campo, se realizó la evaluación de las variables: total de hojas, altura y diámetro del tallo. Para la evaluación del peso seco de las raíces (PSR) y el peso seco de la parte aérea (PSA), se tomó una muestra de 20 plantas, con y sin micorriza.

Observaciones en el campo. Cada dos meses a partir de la siembra de las plantas, se evaluó la presencia o ausencia de la llaga radical registrando los síntomas secundarios en el follaje y la presencia del patógeno en el cuello de la planta, sin erradicarla. En las plantas que sobrevivieron, en cada fecha de evaluación, se registraron la altura, el número de cruces, el número de hojas y el diámetro del tallo, a partir de los 10cm de altura. Ocho meses después de la siembra, se extrajeron aleatoriamente cinco unidades experimentales de cada tratamiento para verificar en la raíz la presencia o la ausencia del patógeno; además, se registraron como variables de

respuesta el peso seco de la raíz (PSR) y de la parte aérea (PSA). Con las variables de respuesta se estimó el promedio y la variación por modalidad y tratamiento, y se hizo el análisis de varianza bajo el modelo para el diseño completamente aleatorio en arreglo factorial 4 x 2. Además, para la modalidad sin solarización, se aplicó la prueba de Dunnett al 5%, para comparar los tratamientos con el testigo de referencia.

Durante dos años y medio, se revisó bimensualmente el aspecto externo de las plantas para determinar síntomas secundarios de amarillamiento o marchitamiento, característicos del ataque de llagas radicales.

Efecto de las prácticas de manejo sobre los microorganismos benéficos nativos.

Para determinar la población de MA y del hongo *Trichoderma* spp. en el sustrato de las plantas en el almácigo y en el suelo del lote experimental, se realizaron muestreos en las diferentes etapas del experimento. En el almácigo se tomaron muestras compuestas en tres puntos diferentes dentro de la bolsa (raíz y suelo de la rizosfera, a 10cm de profundidad), en cinco plantas de cada tratamiento. En el campo se realizaron tres muestreos: antes, después de la solarización y ocho meses después de la siembra de las plantas, se tomaron muestras de suelo de la rizosfera a 15cm de profundidad, en cinco sitios por cada tratamiento. Tanto en las plantas de almácigo como en el campo, se tomaron 200g de suelo por cada microorganismo y 2g de raíces por muestra de MA, en igual cantidad de muestras en el almácigo y en el campo. La extracción de esporas de las MA del suelo y el porcentaje de colonización de raíces se realizó según la metodología consultada (1, 4, 9, 10).

Para *Trichoderma* spp. se utilizó el método empleado por Castro (7) para el aislamiento del hongo a partir de suelo en

medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Las muestras de suelo de cada tratamiento se homogeneizaron y de éstas se tomó 1g, el cual se mezcló y agitó con 100mL de agua destilada estéril. De la mezcla se prepararon diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} (muestreo inicial), y adicionalmente se realizaron diluciones de 10^{-4} y 10^{-6} en el muestreo final. De cada dilución se sembró un mililitro en cajas de Petri con PDA acidificado. De cada sitio de muestreo se realizaron cinco repeticiones y por cada dilución se sembraron cinco cajas de Petri, dejándose en condiciones de laboratorio a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Ocho días después de la siembra se evaluó la presencia de colonias de *Trichoderma*, con base en la coloración y las características morfológicas en el medio de cultivo, descritas por diferentes autores (7, 17, 21, 24).

El trabajo de laboratorio se realizó en la Disciplina de Fitopatología de Cenicafé - Planalto (Chinchiná, Caldas) ubicado a $5^{\circ}01'$ latitud Norte, $75^{\circ}36'$ longitud Oeste, a 1.425m de altitud y un promedio de temperatura de $19,9^{\circ}\text{C}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Daño inicial por *R. bunodes* en plantas del lote experimental. La severidad del daño ocasionado por *R. bunodes* en las raíces de las plantas extraídas, osciló entre 85 y 94% según la escala de Castro (6), equivalente a la invasión casi total de las raíces, con promedios estadísticamente iguales, según prueba de *f* al 5%. En la raíz y el cuello de dichas plantas se observó pudrición negra de la corteza, y en los tejidos debajo de ésta, se observaron abundantes estructuras del hongo en forma de puntos y rayas negras correspondientes a masas de micelio (14).

Características de las plantas de almácigo. Como se observa en la Tabla 2, las plantas

mostraron diferencias estadísticas únicamente en la variable altura, a favor de aquellas asociadas con *G. manihotis*, resultado demostrado anteriormente por Angarita (1) y Castro (10). Aunque no se observaron diferencias estadísticas en cuanto al peso seco de la raíz, fue notable la abundancia y la uniformidad de éstas en las plantas tratadas con MA.

Efecto de los tratamientos sobre la presencia de llaga negra en las plantas sembradas.

Después de ocho meses de la siembra de las plantas en los sitios de control de *R. bunodes* y luego de extraer cinco plantas de

cada tratamiento y verificar al estereoscopio los signos del patógeno en el sistema radical, en ninguno de éstos se observó la presencia del hongo. Como se indica en la Tabla 3, el análisis de varianza no mostró efecto de la interacción de los factores por separado con las variables de crecimiento y desarrollo de las plantas de café. En la modalidad sin solarización, la prueba de Dunnett mostró diferencias a favor del tratamiento siembra inmediata de plantas previamente asociadas a *G. manihotis* con respecto al testigo, con las variables PSR y PSA (Tablas 4 y 5).

Tabla 2. Variables de crecimiento en plantas en el almácigo con y sin aplicación de la MA *Glomus manihotis*.

| Plantas | Total hojas | | Altura de la planta (cm) | | Diámetro del tallo (cm) | | Peso seco de la raíz (g) | | Peso seco de la parte aérea (g) | |
|-----------------------------|-------------|------|--------------------------|------|-------------------------|------|--------------------------|------|---------------------------------|------|
| | Prom. | C.V. | Prom. | C.V. | Prom. | C.V. | Prom. | C.V. | Prom. | C.V. |
| Con <i>Glomus manihotis</i> | 17,4 | 57,9 | 40,3 | 10,2 | 0,6 | 21,4 | 3,1 | 54,5 | 2,9 | 64,0 |
| Sin MA | 17,7 | 30,6 | 31,5 | 13,7 | 0,6 | 20,4 | 2,7 | 41,0 | 2,6 | 36,5 |

Tabla 3. Promedios para las variables de crecimiento, ocho meses después de la siembra de las plantas de café en cada tratamiento, para el manejo de *R. bunodes*, en las modalidades con y sin solarización.

| Modalidad Tratamientos | Sin solarización | | | | Con solarización | | | |
|--|------------------|---------------|-----------------------|------------------------|------------------|---------------|-----------------------|------------------------|
| | Total de hojas | No. de cruces | Altura de planta (cm) | Diámetro de tallo (cm) | Total de hojas | No. de cruces | Altura de planta (cm) | Diámetro de tallo (cm) |
| Siembra de plantas | 92 | 8 | 43,6 | 0,9 | 91 | 7 | 45,0 | 1,0 |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 97 | 7 | 47,0 | 0,9 | 126 | 9 | 50,4 | 1,1 |
| Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | 129 | 9 | 53,4 | 1,2 | 75 | 6 | 38,0 | 0,7 |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de plantas | 69 | 6 | 39,4 | 0,8 | 79 | 6 | 42,4 | 0,8 |
| Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos | 59 | 6 | 37,4 | 0,6 | -- | -- | -- | -- |

Tabla 4. Promedios y variación del peso seco de la raíz (g) , ocho meses después de la siembra de las plantas de café en cada tratamiento para el manejo de *R. bunodes* en las modalidades con y sin solarización.

| Modalidad Tratamientos | Sin solarización | | Con solarización | |
|--|------------------|----------|------------------|----------|
| | Promedio | C.V.(%)* | Promedio | C.V.(%)* |
| Siembra de plantas. | 7,3 | 37,8 | 9,5 | 40,8 |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 13,4 | 51,6 | 16,6 | 20,6 |
| Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | 16,2 | 16,1 | 7,4 | 42,4 |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin ®) y siembra de plantas | 6,9 | 33,3 | 9,4 | 38,8 |
| Promedio modalidad | 10,9 | 64,0 | 10,7 | ---- |
| Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos. | 5,4 | 27,5 | ----- | ---- |

* El coeficiente de variación es el obtenido con la transformación \sqrt{X}

Tabla 5. Promedios y variación del peso seco de la parte aérea (g), ocho meses después de la siembra de las plantas de café en cada tratamiento para el manejo de *R. bunodes*, en las modalidades con y sin solarización.

| Modalidad Tratamientos | Sin solarización | | Con solarización | |
|--|------------------|----------|------------------|----------|
| | Promedio | C.V.(%)* | Promedio | C.V.(%)* |
| Siembra de plantas. | 38,9 | 26,3 | 46,3 | 34,0 |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 59,7 | 50,1 | 72,7 | 14,8 |
| Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | 86,9 | 30,1 | 29,7 | 48,5 |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin ®) y siembra de plantas | 28,0 | 42,8 | 42,3 | 50,5 |
| Promedio (modalidad) | 53,4 | 73,3 | 47,7 | 60,7 |
| Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos | 18,2 | 41,8 | ---- | ---- |

*El coeficiente de variación es el obtenido con la transformación \sqrt{X}

Efecto de las prácticas de manejo sobre microorganismos benéficos nativos

Evaluación de micorrizas. En el almácigo, tanto el promedio de esporas de MA (4 esporas/gramo de suelo) como el porcentaje de colonización (47%) fueron estadísticamente mayores en las plantas asociadas a la MA *G. manihotis*, que en aquellas sin aplicación de MA, y en las cuales se observó un promedio de 2 esporas/gramo de suelo y 27% de colonización en las raíces. En los dos grupos de plantas se observaron predominantemente los géneros *Acaulospora myriocarpa* y *Glomus* spp.

En el campo, en los tratamientos con solarización (Tabla 6), no se observaron diferencias estadísticas en la variable esporas/gramo de suelo, antes o después de dicha práctica, ni entre tratamientos. Después de la solarización se observó poca diversidad de MA, identificándose esporas de *Acaulospora foveata* y *Glomus* spp. Estos resultados, corroboran las afirmaciones de Katan y Devay (16), quienes demostraron el efecto detrimental que se deriva de la práctica de solarización

para las especies de micorrizas nativas y en general, para cualquier microorganismo.

En la modalidad sin solarización los tratamientos tuvieron igual número de esporas de MA (Tabla 7). Las micorrizas encontradas en el suelo de estos tratamientos fueron *Glomus* spp. y *Acaulospora* spp., mientras que en el testigo de referencia predominó *Acaulospora* spp., seguida de *A. mellea*, y otras especies sin identificar.

En el muestreo realizado ocho meses después de la siembra de las plantas (Tabla 8), no se observaron diferencias estadísticas entre las modalidades y los tratamientos, en el número de esporas por gramo de suelo. Se identificó en mayor cantidad la MA *G. manihotis*, con presencia de esporas jóvenes y adultas, en aquellos tratamientos donde se incorporaron las MA y en las dos modalidades evaluadas. Igualmente se observaron esporas de *Acaulospora* spp. y de *Gigaspora* spp. En los T1 y T2: siembra de plantas sin solarización y con solarización, al igual que en el T9 (testigo) hubo poca diversidad de esporas y se destacaron los

Tabla 6. Promedio de esporas de micorrizas arbusculares (MA) por gramo de suelo, en los tratamientos con solarización, antes y después de ésta.

| Tratamientos | Antes de solarización | Después de solarización |
|--|-----------------------|-------------------------|
| | Promedio | Promedio |
| 2. Siembra de plantas después de la solarización de los sitios dejados por plantas enfermas. | 6 | 4 |
| 4. Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> posterior a la solarización y siembra de plantas | 5 | 3 |
| 6. Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> después de la solarización | 5 | 2 |
| 8. Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin ®) posterior a la solarización y siembra de plantas | 4 | 2 |

géneros *Acaulospora* spp. y *Glomus* spp.. En todos los tratamientos y en menor proporción se identificaron los géneros *Sclerocystis* spp. y *Gigaspora* spp., lo cual coincide con otros trabajos como el de Angarita (1) y Bolaños *et al.* (4), quienes registran estos géneros entre los más frecuentes para la zona cafetera colombiana.

Colonización de MA en las plantas sembradas. En las dos modalidades, los

tratamientos presentaron diferente porcentaje de colonización por MA, a favor de los tratamientos en los que se incorporó la especie *G. manihotis* (Tabla 9). Se observaron propágulos como arbuscúlos, hifas externas y vesículas, lo cual indicó que la especie *G. manihotis* había colonizado las raíces de las plantas de café. En los tratamientos en los cuales no se incorporó *G. manihotis*, también se observaron propágulos similares de especies de micorrizas nativas.

Tabla 7. Promedio de esporas de MA/gramo de suelo en los sitios de siembra sin solarización.

| Tratamientos | Promedio |
|--|----------|
| 1. Siembra de plantas inmediata a la erradicación de plantas enfermas. | 3 |
| 3. Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 8 |
| 5. Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | 6 |
| 7. Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de plantas | 3 |
| 9. Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos | 4 |

Tabla 8. Promedio de esporas de MA por gramo de suelo de los diferentes tratamientos en el muestreo final, ocho meses después de la siembra.

| Modalidad Tratamientos | Sin solarización | Con solarización |
|--|------------------|------------------|
| | Promedio | Promedio |
| Siembra de plantas | 2 | 3 |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 4 | 2 |
| Siembra de plantas asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | 7 | 7 |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de plantas | 4 | 3 |
| Testigo de referencia: Siembra de plantas en sitios sanos. | 2 | ---- |

Los niveles de colonización radical estuvieron en un rango entre 18 y 50%. Los tratamientos T5 y T6: siembra de plantas previamente asociadas a la MA *G. manihotis* sin y con solarización mostraron los porcentajes más altos (50 y 47%, respectivamente). Estos resultados corroboran el efecto de las MA sobre la altura de las plantas (Tabla 2), y sugieren un posible doble beneficio ante el ataque de patógenos, como ha sido observado anteriormente por diversos autores (9, 10, 19, 20). De otra parte, estos resultados coinciden con los registros de Angarita (1), quien determinó porcentajes de colonización que oscilaron entre 23 y 57%, al evaluar la presencia y la diversidad de micorrizas arbusculares nativas en diferentes sustratos para almácigos de café. Así mismo, tales respuestas se asemejan a las encontradas por Bolaños *et al.* (4), donde se encontraron niveles de colonización entre 25 y 48%.

Evaluación de *Trichoderma* sp.

En plantas de almácigo no se obtuvo aislamiento alguno de *Trichoderma* sp. nativo

del sustrato de siembra, mientras que en el campo, aún después de la solarización, se obtuvieron colonias del hongo en la dilución 10^{-2} (Tabla 10), lo que indica la riqueza de la biota nativa de este hongo existente en este ecosistema. Lo anterior sugiere que gracias a la capacidad de colonización del hongo *Trichoderma* sp., la solarización pudo favorecer el desarrollo de los aislamientos nativos por supresión de otros microorganismos, derivado del incremento de la temperatura del suelo en los primeros 5cm.

En los sitios de siembra sin solarización se aisló *Trichoderma* sp. (Tabla 11), aunque también prevalecieron en el medio de cultivo otros hongos como *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. Estos resultados coinciden con los del segundo muestreo antes de la solarización, y corroboran la presencia de *Trichoderma* sp. en el suelo del lote experimental. En la última evaluación efectuada en la rizosfera de las plantas, ocho meses después de la siembra, se observó el crecimiento de *Trichoderma* sp. en casi todas las diluciones (Tabla 12). Con estas observaciones puede afirmarse que en condiciones naturales

Tabla 9. Promedios de porcentaje de colonización de MA en raíces de las plantas de café, ocho meses después de la siembra.

| Modalidad Tratamientos | Sin solarización | Con solarización |
|--|------------------|------------------|
| | Promedio | Promedio |
| Siembra de plantas | 18b | 28ab |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | 18b | 18b |
| Siembra de plantas asociadas a <i>Glomus manihotis</i> . | 47a | 50a |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de plantas | 32ab | 29ab |
| Testigo de referencia: Siembra de plantas sobre sitios sanos. | 23b | ---- |

* Promedios con letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de Tukey al 5%.

Tabla 10. Presencia del hongo *Trichoderma* sp. nativo, aislado de los sitios de siembra, antes y después de la solarización, en dos diluciones empleadas.

| Tratamientos | Antes de la solarización | | Después de la solarización | |
|---|--------------------------|------------------|----------------------------|------------------|
| | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| 2. Siembra de plantas | + | - | + | + |
| 4. <i>Trichoderma koningii</i> + siembra de plantas | + | - | + | + |
| 6. Siembra de plantas asociadas a <i>G. manihotis</i> | + | - | + | - |
| 8. Aplicación de Tiofanato de metilo + siembra de plantas | + | - | + | - |

+ Presencia; - Ausencia

Tabla 11. Presencia del hongo *Trichoderma* sp. nativo aislado de los sitios de siembra sin solarización, en dos diluciones.

| Tratamiento | Dilución | |
|---|------------------|------------------|
| | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| 1. Siembra inmediata de plantas | + | + |
| 3. <i>Trichoderma koningii</i> + Siembra de plantas | + | + |
| 4. Siembra de plantas asociadas a las MA | + | + |
| 7. Aplicación de tiofanato de metilo + Siembra de plantas | + | + |
| 9. Testigo de referencia | + | - |

+ Presencia; - Ausencia

Trichoderma sp. es persistente y hace parte de la microflora nativa, especialmente en suelos con buenos contenidos de materia orgánica (21). Por otro lado, es probable que la biota nativa de este género, presente en los sitios que no se sometieron al efecto del sol, tuvo que entrar a competir con la población del hongo introducida, lo que muy probablemente estuvo a favor de *T. koningii*, dadas sus condiciones de alta competencia por el sustrato, como lo sugieren Stefanova y Sandoval (23).

En el seguimiento efectuado a las plantas durante 30 meses a partir de la siembra, no se observaron síntomas que indiquen la presencia del patógeno en ninguna de las plantas. Estos resultados corroboran la efectividad en la aplicación del principio fitosanitario de extracción de las raíces afectadas con todos los residuos de raicillas, y a partir del cual se debilita la base alimenticia del patógeno, lo que indica que esta práctica es la más importante para detener un foco de infección de *Rosellinia* spp. bajo condiciones naturales.

Tabla 12. Presencia del hongo *Trichoderma* sp. aislado de la rizosfera de las plantas de café para cada uno de los tratamientos, ocho meses después de su siembra en el lote experimental, en tres diluciones.

| Tratamientos | Modalidad | Sin solarización | | | Con solarización | | |
|--|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 10 ⁻² | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻² | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁶ |
| Siembra de plantas | | - | - | - | - | - | - |
| Aplicación de <i>Trichoderma koningii</i> y siembra de plantas | | + | + | + | + | + | + |
| Siembra de plantas previamente asociadas a <i>Glomus manihotis</i> | | + | + | - | + | - | - |
| Aplicación de tiofanato de metilo (Topsin®) y siembra de plantas | | + | - | - | + | + | - |
| Testigo de referencia : siembra de plantas sobre sitios sanos | | - | - | - | ----- | ----- | ----- |

+ Presencia; - Ausencia

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a los propietarios y al personal de la finca Manila (Fundación Santo Domingo, Manizales); a la doctora Esther Cecilia Montoya de la Disciplina de Biometría, a los auxiliares de la Disciplina de Fitopatología de Cenicafé, y al doctor Jairo Castaño, de la Universidad de Caldas.

LITERATURA CITADA

1. ANGARITAD., M. DEL P. Aislamiento, identificación y evaluación de MANativas y otros microorganismos en diferentes sustratos para almácigos de café. Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas, 2000. 209 p. (Tesis: Microbiología Agrícola y Veterinaria).
2. ARANZAZU H., F. Comportamiento de la Llaga estrellada *Rosellinia pepo* Pat. sobre raíces vivas y muertas. *Agrocambio* 2(6):10-15. 1996.
3. ARANZAZU H., F.; BOTERO G., J.J. Control de la Llaga radicular (*Rosellinia* sp.) en morera (*Morus*

indica L.) y rehabilitación de focos. *Sericultura Colombiana* 5(22):20-22. 1998.

4. BOLAÑOS B., M.M.; RIVILLAS O., C.A.; SUÁREZ V., S. Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé* 51(4):245-262. 2000.
5. CASTAÑO A., J.J. Algunas observaciones sobre la "Llaga negra" radicular del café. *Agricultura Tropical* 9(2): 41-47. 1953.
6. CASTRO C., B.L. Manejo y control de la Llaga radical negra. In: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ – Cenicafé. CHINCHINÁ. COLOMBIA. Informe anual de labores de la Disciplina de Fitopatología. Chinchiná, Cenicafé, 1992. p. 2-13.
7. CASTRO C., B.L. Antagonismo de algunos aislamientos de *Trichoderma koningii*, originarios de suelo colombiano contra *Rosellinia bunodes*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pythium ultimum*. *Fitopatología Colombiana* 19(2):7-17. 1995.
8. CASTRO C., B.L.; DUQUE O., H.; MONTOYA R., E.C. Incidencia de llagas radicales (*Rosellinia* sp.), en el sistema café – yuca en el Departamento del Quindío. In: CONGRESO de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, 24.

- Armenia, Junio 25-27, 2003. Memorias. Armenia, ASCOLFI, 2003. p. 32-33.
9. CASTRO T., A.M.; RIVILLAS O., C.A. Efecto de *Trichoderma koningii* (T-3) y *Scutellospora heterogama* en el control de *Rosellinia bunodes* (Berk. y Br.). In: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, 18. Palmira, Julio 30 - Agosto 2, 1997. Memorias. Palmira, ASCOLFI-CIAT, 1997. p. 31.
 10. CASTROT., A.M. Efecto de *Entrophospora colombiana*, *Glomus manihotis* y *Burkholderia cepacia* en el control de *Rosellinia bunodes* Berk. y Br. agente causal de la Llagas negra del café. Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2001. 220 p. (Tesis: Magister Scientiae).
 11. CHARDON, C.E.; TORO, R.A. Mycological exploration of Colombia. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 14(4): 272- 1930.
 12. DUARTE, J.; SILVEIRA, V. Podridoes de raizes pelas especies do genero *Rosellinia*. Agronomie 9: 247-292. 1950. (Separata).
 13. FERNÁNDEZ B., O.; LÓPEZ D., S. Las Llagas radiculares negra (*Rosellinia bunodes*) y estrellada (*Rosellinia pepo*) del café. I. Patogenicidad e influencia de la clase de inóculo en la infección. Cenicafé 15(3):126-144. 1964.
 14. IBARRA G., N.L.; CASTRO C., B.L.; PONCE D., C.A. Estudio del proceso infectivo de *Rosellinia bunodes* Berk. y Br. (Sacc.) en café. Fitopatología Colombiana 23(1-2):59-64. 1999.
 15. IMATI, H.; BERGAMIN F., A.; AMORIM, L.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. Manual de fitopatología Vol. II. Doenças das plantas cultivadas. 3. ed. Sao Paulo, Editora Agronómica Ceres, 1997. p. 192-193.
 16. KATAN, J.; DEVAY, J.E. Soil solarization. Boca Ratón, CRC Press, 1991. 267 p.
 17. LÓPEZ U., A.B.; CASTRO C., B.L. Evaluación de diferentes sustratos para la multiplicación de *Trichoderma koningii* antagonista de *Rosellinia bunodes* en café. In: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, 18. Palmira, Julio 30 - Agosto 2, 1997. Memorias. Palmira, ASCOLFI-CIAT, 1997. p. 30.
 18. MUTHAPPA, B.N. *Rosellinia bunodes* on *Coffea* spp. Journal of Coffee Research 7(4):109-110. 1977.
 19. RESTREPO F., G.M. Efecto de *Entrophospora colombiana* y *Glomus fistulosum* en el control de la Llagas negra del café *Rosellinia bunodes* Berk. y Br. Manizales, Universidad Católica de Manizales. Facultad de Estudios Avanzados en Ciencias de la Salud, 1998. 95 p. (Tesis: Especialista en Microbiología).
 20. RIVILLASO., C.A. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on two different coffee varieties from Colombia and their biochemical detection in roots. Kent, University of Kent. Research School of Biosciences, 1995. 88 p. (Tesis: Magister Scientiae).
 21. RUIZ S., L.L.; LEGUIZAMÓN C., J.E. Efecto del contenido de materia orgánica del suelo sobre el control de *Rosellinia bunodes* Berk. y Br. (Sacc) con *Trichoderma* spp. Cenicafé 47(4):179-186. 1996.
 22. SACCAS, A.M. Les Rosellinia de cafeires en Oubangui-Chari. Agronomie Tropicale 11(5): 551-595. 1956; 11(6): 687-706. 1956.
 23. STEFANOVAN., M.; SANDOVAL R., I. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos de suelo. La Habana, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal - INISAV, 1995. 22 p. (Boletín Técnico No. 2).
 24. VALENCIA A., J.C.; CASTRO C., B.L. Aspectos biológicos de aislamientos de *Trichoderma* spp., antagonicos a *Rosellinia bunodes*. Cenicafé 55(1): 16-28. 2004.