



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Tesis

Evaluación de microorganismos antagonistas para el
manejo biológico de roya del café (*Hemileia vastatrix*
Berk & Broome) en San Lucas, Madriz

Autores

Br. Eliar Noé Navarrete Castillo

Br. Juan Ramón Díaz Bustamante

Asesor

MSc. Víctor Monzón Ruiz

Managua, Nicaragua
Octubre, 2020



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Tesis

Evaluación de microorganismos antagonistas para el
manejo biológico de roya del café (*Hemileia vastatrix*
Berk & Broome) en San Lucas, Madriz

Autores

Br. Eliar Noé Navarrete Castillo

Br. Juan Ramón Díaz Bustamante

Asesor

MSc. Víctor Monzón Ruiz

Presentado a la consideración del Honorable Tribunal Examinador
como requisito final para optar al grado de Ingeniero Agrónomo

**Managua, Nicaragua
Octubre, 2020**

Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable Tribunal Examinador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Tribunal Examinador

Presidente (Grado académico y
nombre)

Secretario (Grado académico y
nombre)

Vocal (Grado académico y nombre)

Lugar y Fecha: _____

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis de grado lo dedico primeramente a Dios, por darme la sabiduría y paciencia para culminar mi carrera, por la vida y el entendimiento para enfrentar los diferentes problemas.

A mis Padres, **Ing. Reynaldo Navarrete Ortiz** y **Sra. Verania Castillo López**, quienes me dieron todo su esfuerzo y dedicación para ayudarme en todo momento de manera incondicional, para hacer posible este logro.

A mi familia y amigos por brindarme su incondicional apoyo, el cual fue fundamental en mi formación profesional.

A cada uno de los profesores, que aportaron sus conocimientos para poder consolidar mi aprendizaje y lograr mi formación como profesional, les agradezco de todo corazón por sus valiosas enseñanzas.

A mi amigo y compañero de tesis **Br. Juan Ramón Díaz Bustamante** por su apoyo incondicional en todo el trayecto de la tesis.

Br. Eliar Noé Navarrete Castillo

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis de grado para optar a mi título de Ingeniero Agrónomo se lo dedico primeramente a Dios padre todo poderoso que ilumino mi camino con mucha sabiduría.

A mi madre **Sra. Jenny Bustamante Moncada** por su amor incondicional y en especial a mi padre **Sr. Juan Díaz Suárez** que me apoyo en todo momento de mi carrera y seguir por el buen camino.

A mi familia y amigos por brindarme su incondicional apoyo, el cual fue fundamental en mi formación profesional.

A cada uno de los profesores, que aportaron sus conocimientos para poder consolidar mi aprendizaje y lograr mi formación como profesional, les agradezco de todo corazón por sus valiosas enseñanzas.

A mi amigo y compañero de tesis **Br. Eliar Noé Navarrete Castillo** por dedicar su tiempo en nuestra tesis y apoyarme en el transcurso de nuestra carrera.

Br. Juan Ramón Díaz Bustamante

AGRADECIMIENTOS

A Dios, nuestro señor por habernos dado la vida, la salud y el tiempo para culminar este trabajo y alcanzar una de nuestras metas.

A nuestro asesor y amigo, **MSc. Víctor Monzón Ruiz**, por todas sus enseñanzas y orientaciones que nos brindó y sobre todo por dedicar su valioso tiempo durante la realización de este trabajo.

Al Banco Mundial (BM) y a la ONG Amigos de la Tierra por el financiamiento y apoyo brindado para la realización de este ensayo.

Al productor que nos brindó su ayuda para la recolección de información en la localidad donde se realizó el estudio.

A nuestros amigos, **Ing. Francisco León, Ing. José Sánchez, Ing. Jerome Rivera, Ing. Vladimir González y Br. Rigoberto Aguirre** que nos brindaron su apoyo en cada momento de nuestra carrera.

A la Universidad Nacional Agraria (UNA), Facultad de Agronomía (FAGRO) y a todos los docentes de la facultad, que a lo largo de la carrera contribuyeron a la meta que nos propusimos, ya que sin las oportunidades brindadas y sus enseñanzas no hubiese sido posible la culminación de esta labor, ni desarrollarnos en nuestra formación como profesional.

Br. Eliar Noé Navarrete Castillo

Br. Juan Ramón Díaz Bustamante

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1. Generalidades del cultivo de café	4
3.2. Condiciones edafoclimáticas para el cultivo de café	5
3.3. Manejo agronómico	5
3.3.1. Establecimiento del vivero	6
3.3.2. Siembra en campo	6
3.3.3. Manejo de malezas	8
3.3.4. Manejo de plagas y enfermedades	9
3.3.5. Fertilización	11
3.3.6. Poda del café	12
3.3.7. Manejo de sombra	13
3.4. Roya del café (<i>Hemileia vastatrix</i>)	13
3.4.1. Taxonomía de la roya	14
3.4.2. Proceso infeccioso	14

3.5. <i>Lecanicillium</i> spp	16
3.5.1. Taxonomía de <i>Lecanicillium</i> spp	16
3.5.2. Condiciones agroclimáticas para <i>Lecanicillium</i> spp	16
3.5.3. Proceso infeccioso	17
3.5.4. Identificación del hongo en campo	17
3.6. <i>Trichoderma</i> spp	18
3.6.1. Taxonomía de <i>Trichoderma</i> spp	18
3.6.2. Condiciones agroclimáticas para <i>Trichoderma</i> spp	18
3.6.3. Proceso infeccioso	19
3.7. <i>Bacillus subtilis</i>	19
3.7.1. Taxonomía de <i>Bacillus subtilis</i>	19
3.7.2. Condiciones agroclimáticas para <i>Bacillus subtilis</i>	19
3.7.3. Proceso infeccioso	20
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Ubicación del área del estudio	21
4.2. Diseño experimental	21
4.3. Manejo del experimento	22
4.4. Recolección y frecuencia de muestreo	22
4.5. Tratamientos evaluados	22
4.5.1. <i>Lecanicillium</i> spp	23
4.5.2. <i>Trichoderma</i> spp	23
4.5.3. <i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 (Serenade® ASO)	23
4.5.4. Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®)	23
4.6. Variables evaluadas	24
4.6.1. Incidencia de roya	24
4.6.2. Severidad de roya	24
4.6.3. Número de hojas totales	25
4.6.4. Número de hojas sanas	25
4.7. Análisis de datos	26
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1. Incidencia de roya	27

5.2. Severidad de roya	29
5.3. Número de hojas totales	31
5.4. Número de hojas sanas	32
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. LITERATURA CITADA	37
IX. ANEXOS	42

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Manejo de las principales plagas del café, Marín (2012)	9
2.	Manejo de las principales enfermedades del café, Marín (2012)	10
3.	Tratamientos evaluados en el ensayo	23
4.	Escala de severidad para roya, SAGARPA (2013)	24

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Procesos para el establecimiento y manejo de un vivero (Piñuela <i>et al.</i> , 2013)	6
2.	<i>Lecanicillium</i> spp parasitando a la roya del café <i>Hemileia vastatrix</i> (Virginio, 2015)	17
3.	Ubicación finca Las Pilas San Lucas, Madriz	21
4.	Escala de enfermedad para cuantificar la severidad de roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en las hojas de café (SAGARPA, 2013)	25
5.	Incidencia de roya en diferentes fechas de muestreo, noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	27
6.	Incidencia de roya por tratamiento en el periodo noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	28
7.	Severidad de roya en diferentes fechas de muestreo, noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	29
8.	Severidad de roya por tratamiento en el periodo noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	30
9.	Promedio de hojas totales por bandola en cada tratamiento en el periodo de noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	31
10.	Promedio de hojas sanas por bandola en cada tratamiento durante el periodo de noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz	33

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Plano de campo de una parcela experimental, San Lucas - Madriz	42
2.	Diseño de tabla utilizada para los muestreos	43
3.	Análisis de varianza para la variable incidencia de roya	44
4.	Análisis de varianza para la variable severidad de roya	44
5.	Análisis de varianza para la variable hojas totales	44
6.	Prueba de Tukey para la variable hojas totales por estrato	45
7.	Análisis de varianza para la variable hojas sanas	45
8.	Prueba de Tukey para la variable hojas sanas por estrato	45

RESUMEN

La roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk & Broome), es la enfermedad más destructiva y de mayor importancia económica a nivel mundial. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar diferentes alternativas de manejo biológico para esta enfermedad, en la comunidad El Chichicaste, municipio de San Lucas, Madriz. Se estableció un experimento factorial (medidas repetidas en el tiempo con submuestreos), en plantación de café variedad caturra de ocho años de edad y que presentaba incidencia de roya, los tratamientos evaluados fueron: 1) *Lecanicillium* spp 2) *Trichoderma* spp 3) *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) 4) Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) y 5) Testigo absoluto; las variables evaluadas fueron incidencia, severidad, número de hojas totales y número de hojas sanas. Se realizó un análisis de varianza y comparaciones de medias por Tukey ($\alpha= 0.05$). El ensayo se realizó en un área total de 1,870 m², dividido en parcelas de 374 m². Obteniendo como resultado que el tratamiento Amistar Xtra® presentó los valores más bajos en las variables incidencia y severidad de roya con respecto a los demás tratamientos; mostrando este mismo tratamiento los mejores resultados para la variable número de hojas sanas; así mismo el tratamiento Serenade® ASO mostró mayores porcentajes en la variable número de hojas totales en comparación a los demás tratamientos. El menor porcentaje de incidencia de roya se presentó en la segunda semana del mes de diciembre del 2018 con una media de 26.14%; el menor porcentaje de severidad de roya se obtuvo en la segunda semana del mes de marzo del 2019 con una media de 13.47%. En el estudio realizado en la Finca las Pilas los tratamientos Amistar Xtra® y Serenade® ASO fueron los más efectivos en el manejo de roya del café, contribuyendo con este estudio a proporcionar información para el manejo de esta enfermedad.

Palabras clave: *Lecanicillium* spp, *Trichoderma* spp, *Bacillus subtilis*, incidencia, severidad

ABSTRACT

Coffee rust is the most destructive and economically important disease worldwide. The objective of this work is to evaluate different biological management alternatives for this disease, in the Chichicaste community, township of San Lucas, Madriz. A factorial experiment was established in plots divided over time, in an eight-year-old caturra coffee plantation that had an incidence of rust, the treatments evaluated were: 1) *Lecanicillium* spp 2) *Trichoderma* spp 3) *Bacillus subtilis* Serenade® ASO 4)) Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) and 5) Absolute witness; the evaluated variables was incidence, severity, number of healthy leaves and number of total leaves. An analysis of variance and comparisons of means were performed by Tukey ($\alpha= 0.05$). The test was carried out in a total area of 1,870 m², divided into plots of 374 m². Obtaining as a result that the treatment Amistar Xtra® presented the lowest values in the variables incidence and severity of rust, with respect to the other treatments, this same treatment showing the best results for the variable number of healthy leaves; likewise, the Serenade® ASO treatment showed higher percentages in the variable number of total leaves compared to the other treatments. The lowest percentage of rust incidence occurred in the second week of December 2018 with an average of 26.14 percent, the lowest percentage of rust severity was obtained in the second week of March 2019 with an average of 13.47 percent. In the study carried out on the piles farm, the Amistar Xtra® and Serenade® ASO treatment was the most effective in the management of coffee rust, contributing with this study to provide information for the management of this disease.

Keywords: *Lecanicillium* spp, *Trichoderma* spp, *Bacillus subtilis*, incidence, severity

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo del café (*Coffea arabica* L.) es uno de los rubros más importantes de Nicaragua. Para la economía nacional representa cerca del 30% del PIB agrícola y 50% de las divisas provenientes de las exportaciones. Desde el punto de vista social emplea el 31.5% del total de la mano de obra agrícola nacional (Moraga, Bolaños, Ilich, Munguía, Pohlan, Barios, Hagggar y Gamboa, 2011).

De acuerdo al BCN (2011) citado por Escobedo, Bendaña y Gutiérrez (s.f.) en Nicaragua, el café representa el 25% del área de cultivos dedicados a la exportación y genera un tercio del empleo rural (más de 300,000 empleos), aportando el 2% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional y el 21% del PIB agrícola. En el año 2011 las exportaciones de café representaron el 17.8% de las exportaciones totales del país.

El café es producido por 44,519 productores y productoras que cultivan un área total de 180,220 manzanas, equivalentes a 126,154 ha⁻¹ (IV Censo Nacional Agropecuario, 2013). El 97.4% son pequeños y medianos productores que cultivan hasta 20 manzanas de café, equivalentes a 14 ha⁻¹, estos cafetaleros poseen el 59% del área cultivada y generan aproximadamente el 45.2% de la producción nacional, con un rendimiento promedio de 590 kg oro por manzana equivalente a 844 kg ha⁻¹ (Escobedo *et al.*, s.f.).

De acuerdo a Escobedo *et al.* (s.f.) son tres las principales zonas donde se cultiva el café: Región Norte Central, que produce el 83.8% de la producción nacional, comprende los departamentos de Matagalpa, Jinotega y Boaco (producción de café Strictly High Grown (SHG) o grano estrictamente de altura), Región Noroeste, produce el 13.6% de la producción nacional y comprende los departamentos de Madriz, Nueva Segovia y Estelí y la Región Pacífico Sur que produce el 2.6% de la producción nacional y comprende los departamentos de Carazo, Granada, Masaya, Managua y Rivas.

Según Guharay, Monterrey, Monterroso y Staver (2000) este cultivo se ve limitado por diversos factores que afectan la producción, como condiciones edáficas, problemas de plagas como el minador (*Leucoptera coffeella* Guerin - Meneville), broca (*Hypothenemus hampei* Ferr.), cochinilla harinosa (*Planococcus citri* L.), etc., y enfermedades como la roya

(*Hemileia vastatrix* Berk & Broome), mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk & Cke), antracnosis (*Colletotrichum* spp. Noack), ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk & Curt), derrite (*Phoma costarricensis*), mal de hilachas (*Pellicularia koleroga* Cooke).

La roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk & Broome) es la enfermedad más destructiva y la de mayor importancia económica a nivel mundial, debido a que esta enfermedad provoca la caída prematura de las hojas, propiciando la reducción de la capacidad fotosintética, así como el debilitamiento de árboles enfermos y en infecciones severas puede ocasionar muerte regresiva en ramas e incluso la muerte de los árboles (Guharay *et al.*, 2000).

Perfecto, Rice, Greenberg y Van der Voort (2007) mencionan que en las próximas décadas es probable que la producción de café evolucione, teniendo un impacto en el ambiente, debido a altos uso de insumos y la poca biodiversidad de microorganismos que pueden ser benéficos y mantener sistemas de producción sostenibles.

Entre las alternativas de manejo biológico de enfermedades se encuentra el uso de microorganismos benéficos tales como hongos, bacterias, nematodos y virus, que por diferentes mecanismos atacan y regulan los patógenos de las plantas y las enfermedades que ellos causan; pudiendo ser incorporada junto con métodos de control cultural y el uso limitado de químicos en un sistema de manejo integrado de enfermedades (Cristancho, 2003).

Sin embargo, debido a diversos problemas fitosanitarios como plagas y enfermedades el principal método de control es el uso de químicos, que incluyen plaguicidas con diversos grados de toxicidad y de residualidad, causando daños al medio ambiente y a la salud humana (Perfecto *et al.*, 2007).

Debido al daño que provoca la roya en el cultivo de café y tomando en consideración la importancia que este rubro tiene para el país, se deben tomar en cuenta los efectos colaterales del uso de fungicidas para su control, el propósito del presente estudio es contribuir al desarrollo de nuevas alternativas de manejo de la roya del café con la aplicación de cepas de *Lecanicillium* spp, *Trichoderma* spp y *Bacillus subtilis*. Por tanto, la aplicación de estos microorganismos antagonistas es una alternativa biológica que puede usarse dentro de un plan de manejo integrado de plagas y que constituye como una de las mejores herramientas para una agricultura sustentable.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el comportamiento de diferentes microorganismos antagonistas en el manejo biológico de la roya del café *Hemileia vastatrix* (Berk & Broome) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L. cv. Caturra) en San Lucas, Madriz

2.2. Objetivos específicos

- Determinar la incidencia y severidad de roya del café (*H. vastatrix*) en hojas de café variedad caturra
- Determinar el efecto de microorganismos antagonistas sobre la roya del café (*H. vastatrix*)

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. Generalidades del cultivo de café

El café se considera como un producto básico de gran importancia para la economía mundial y hasta el inicio de la "crisis mundial del café", era el segundo producto con más valor del mercado después del petróleo. Este grano se produce en más de 70 países alrededor del mundo, de los cuales 45 son miembros de la Organización Internacional del Café (OIC), que en conjunto representan el 97% de la producción mundial de café (Rivas, 2008).

El café es un arbusto de la familia de las rubiáceas, de hojas perennes y puntiagudas de color verde oscuro y flores blancas con olor a jazmín. En estado silvestre, pueden llegar a alcanzar entre seis y diez m de altura, pero en cultivo no suelen pasar de los dos o tres m. El arbusto, con una vida útil de unos 30 años, comienza a producir frutos entre los tres y cinco años después de su siembra (Espanica, 2018).

Los frutos, normalmente llamados cerezas, maduran en un plazo de ocho a diez meses después de la floración. Cada fruto suele contener en su interior dos semillas, que son los granos de café. Cuando el fruto sólo tiene un grano, éste recibe el nombre de caracolillo. La cereza que contiene los granos adquiere un color rojizo cuando está a punto para ser cosechada. La piel roja envuelve una pulpa carnosa, bajo la cual hay una sustancia gelatinosa y azucarada que es el mucílago; éste protege a su vez una cascarilla denominada pergamino, dentro de la cual están los granos, envueltos por una película plateada (Espanica, 2018).

El café (*C. arabica*) es un cultivo que produce una vez al año, durante lo que se llama ciclo cafetalero, dependiendo de la zona y la altura así es la época de corte. No obstante, como muchos otros cultivos, el café necesita un cuidado responsable y mejorado, debido a que es una plantación propensa al ataque de plagas y enfermedades (García, 2013).

3.2. Condiciones edafoclimáticas para el cultivo de café

Según (ICAFE, 2011) las condiciones óptimas para el cultivo de café son las siguientes:

Altitud: Induce en forma directa sobre los factores de temperatura y precipitación. La altitud óptima para el cultivo de café se localiza entre los 500 y 1700 msnm. Por encima de este nivel altitudinal se presentan fuertes limitaciones en relación con el desarrollo de la planta.

Precipitación: La cantidad y distribución de las lluvias durante el año son aspectos muy importantes, para el buen desarrollo del café. Con menos de 1000 mm anuales, se limita el crecimiento de la planta y por lo tanto la cosecha del año siguiente; además, un período de sequía muy prolongado propicia la defoliación y en última instancia la muerte de la planta. Con precipitaciones mayores de 3000 mm, la calidad física del café oro y la calidad de taza puede comenzar a verse afectada; además el control fitosanitario de la plantación resulta más difícil y costoso.

Temperatura: La temperatura promedio anual favorable para el café se ubica entre los 17°C a 23°C. Temperaturas inferiores a 10°C provocan clorosis y paralización del crecimiento de las hojas jóvenes.

Humedad relativa: Esta debe permanecer entre el 70% y 85%, para evitar el ataque de enfermedades fungosas que se afecten la plantación.

Suelo: De acuerdo a Benavides y Romero (2004) citado de Sánchez *et al.*, (1994) los suelos óptimos para el cultivo de café son aquellos bien drenados, profundos (no menos de un metro), con subsuelo permeable que permita una buena distribución de raíces, con una reacción neutra o ligeramente ácida (pH de 5 a 6.5), con una pendiente entre 1% y 15%, de textura franca, con buen nivel de materia orgánica para asegurar una buena economía de agua y aire, y ricos en nutrientes, especialmente potasio.

3.3. Manejo agronómico

El cultivo de café demanda gran cantidad de actividades de manejo, entre las cuales se encuentran establecimiento de vivero, siembra en campo, manejo de malezas, manejo de plagas y enfermedades, fertilización, podas y manejo de sombra.

3.3.1. Establecimiento del vivero

El vivero es un lugar acondicionado para la germinación, crecimiento y cuidado de plantas forestales, frutales, ornamentales y medicinales, hasta que tengan una edad adecuada para ser trasplantadas a su lugar definitivo. El establecimiento del vivero comienza definiendo el tipo de plantas a producir, la cantidad y fecha de producción; las variedades y su modo de propagación; y las actividades correspondientes al proceso de producción elegido (Piñuela, Guerra y Pérez, 2013).



Figura 1. Procesos para el establecimiento y manejo de un vivero (Piñuela *et al.*, 2013).

3.3.2. Siembra en campo

La siembra es una actividad muy importante, dado que la calidad de la plantación futura depende de la buena realización de esta labor, la cual se realiza de la siguiente manera:

Elección y limpieza del terreno

Para la elección del terreno se debe tener en cuenta que la pendiente no sea mayor al 100% (45° de inclinación), los suelos deben ser profundos, mayores a 1.5 m, no deben ser muy arenosos ni muy arcillosos, ni estar encharcados o anegados. Una vez elegido el terreno para la instalación del café se recomienda trabajar sobre montes raleados, sin fomentar la tumba y quema del bosque, evitando la erosión del suelo y la pérdida de la biodiversidad (Marín, 2012).

Distancia y densidad de siembra

Para la siembra se recomienda utilizar almácigo de buena calidad, de seis a doce meses de edad. En general se puede establecer una densidad de 5,000 plantas por hectárea en distancia de 2 m entre hileras x 1 m entre plantas (ICAFE, 2011).

Trazado y alineado

En suelos planos se recomienda el trazado en cuadrado, rectángulo o en triángulo. En suelos con pendiente hacer el trazado considerando las curvas a nivel, contra la pendiente, teniendo en cuenta el trazado de la línea madre (a mitad del terreno), curvas a nivel con el uso del nivel tipo “A” o caballete. El alineado de las estacas se realiza con el propósito de evitar la erosión del suelo y de contar con una buena distribución de plantas (Marín, 2012).

Apertura de hoyos

Las dimensiones de los hoyos varían de acuerdo con la textura, drenaje y fertilidad del suelo, se recomienda realizar esta tarea con una pala pocera o pala derecha, cavándose hoyos de dimensiones de 20x20x30 cm de profundidad, colocando la tierra superficial (15 cm) a un costado y la del fondo al otro costado, al momento de instalar el plantón colocar el sustrato superficial en la base del hoyo (Marín, 2012).

Trasplante de café

Es la instalación de las plantas de café en terreno definitivo, previa selección de las mejores plantas (vigorosas, libre de plagas y enfermedades y con cuatro a seis pares de hojas verdaderas) (Marín, 2012).

Para la siembra de la planta de café se recomienda: retirar la bolsa plástica que contiene el colino de café, depositar el pilón en el centro del hoyo y adicionar tierra y apretarlo. El colino debe quedar sembrado de tal manera que el cuello de la raíz quede a nivel de la superficie del terreno, nunca más enterrado porque a los días puede ocurrir anillamiento y muerte de los colinos por pudrición, pero cuando el cuello de la raíz queda más alto se puede presentar “embalconamiento” por erosión del pilón de tierra que contenía la raíz (Arcila, Farfán, Moreno, Salazar e Hincapié, 2007).

3.3.3. Manejo de malezas

El objetivo fundamental del manejo de malezas es disminuir la interferencia de éstas, proporcionando condiciones favorables para el desarrollo del cultivo en todas sus etapas. Para el uso de cualquier método de manejo de arvenses deben tenerse en cuenta sus efectos sobre el ambiente y el hombre, tales como: la erosión de los suelos, la contaminación de suelos y aguas, la acumulación de sustancias tóxicas en los productos cosechados, los daños ocasionados a los cultivos, el desarrollo de resistencia de las arvenses a herbicidas y los peligros de toxicidad para el hombre (Arcila *et al.*, 2007).

Métodos de manejo de malezas

Preventivo: De acuerdo con Arcila *et al.* (2007) citado de Gómez *et al.*, (1985) esta debe ser la primera práctica de un programa de manejo de malezas, además de ser la más segura y económica. Consiste en evitar la introducción, el establecimiento y la diseminación de ellas en áreas donde normalmente no se presentan; la prevención puede realizarse regionalmente o dentro de los lotes de una finca.

Manual: Consiste en el arranque manual de las arvenses y es el método más recomendado en la etapa de almácigo en el cultivo del café, donde se deben realizar controles muy frecuentes para evitar la interferencia y el crecimiento rápido de las arvenses (Arcila *et al.*, 2007).

Mecánica: Se realiza utilizando herramientas de corte, manuales o motorizadas. Las más comunes son: el machete, el azadón y la guadañadora; estas herramientas utilizadas de manera adecuada e integrada son muy útiles para el manejo de arvenses y evitar la erosión (Arcila *et al.*, 2007).

Químico: Se efectúa por medio de herbicidas, los cuales por su efecto al ser aplicados sobre las malezas las intoxican hasta destruirlas. La efectividad del tratamiento químico depende de la selección del producto adecuado, la dilución correcta del producto, la forma y el momento de aplicación, el desarrollo y la clase de maleza y las condiciones climáticas (ICAFE, 2011).

3.3.4. Manejo de plagas y enfermedades

Cuadro 1. Manejo de las principales plagas del café, Marín (2012)

Plagas	Síntomas	Manejo
Nemátodos (<i>Meloidogyne spp</i>)	Se presentan como nodulaciones en las raíces, ubicándose en las raíces laterales, el cuello de planta y raíz pivotante. Producen la degradación de la raíz, observándose caída y amarillamiento de hojas.	Como medida preventiva utilizar tierra de monte virgen en la etapa de viveros y aplicar materia orgánica en la instalación y en cada etapa de la fertilización. Como medida curativa aplicar Quinoleína fenólica a razón de 100 ml por mochila de 20 l en época de floración.
Broca (<i>Hypothenemus hampei</i>)	Son gorgojos que barrenan a los frutos en etapa de grano lechoso, penetran por el ombligo de los cerezos hasta llegar a la almendra donde depositan sus huevos. Se reconocen por la maduración temprana y porque al momento de ser depositados en los tanques de recepción flotan por falta de peso.	Preventivamente realizar rebusca, raspa y recojo de granos caídos. Limpieza de los cafetales, podas y manejo de sombra. No depositar la pulpa fresca en los cafetales. Aplicar repelentes caseros elaborados a base de ajo. Instalar trampas caseras en cafetal utilizando atrayentes a base de 3 cucharas de alcohol etílico y 2 tapitas de esencia de café, colocando 20 trampas ha ⁻¹ . Aplicar <i>Beauveria bassiana</i> 2 a 4 kg ha ⁻¹ .
Minador de Hoja (<i>Leucoptera coffeella</i>)	Polilla que pone sus huevos en el haz de la hoja, al eclosionar las larvas destruyen la hoja produciendo defoliación de la planta.	Regulación de sombra. Fertilización balanceada. Aplicar Dimetoato a dosis de 0.75 l ha ⁻¹ .
<i>Coccus viridis</i>	Conocida como escamas o cochinillas, afectan a ramas y hojas jóvenes. Causa debilitamiento de la planta, ataca a nivel de vivero y planta adulta, afectándolas en época seca.	Aplicar aceite agrícola o Alfacipermetrina a una dosis de 10 ml por 20 l de agua.

Cuadro 2. Manejo de las principales enfermedades del café, Marín (2012)

Enfermedades	Descripción	Control
Ojo de gallo <i>(Mycena citricolor)</i>	Ataca hojas, ramas, tallos y frutos. Las hojas presentan manchas circulares visibles, al principio son de color café oscuro y gris blanquecino. En los frutos, se presenta mancha redonda hundida de color amarillo y pardo al final. Puede formar estructuras o cabezas de fósforo de color amarillo.	Como medida de prevención realizar siembra a distanciamientos adecuados. No sembrar cerca de los riachuelos ni quebradas. Regulación de sombra oportuna y podas. Fertilización balanceada. Sembrar variedades tolerantes a ojo de gallo. Aplicar caldo bordelés al 1%, y como medida curativa aplicar Difeconazole a dosis de 10 ml por 20 l de agua.
Mancha de hierro <i>(Cercospora coffeicola)</i>	Afecta hojas y frutos en forma de manchas circulares de color marrón rojizo, a medida que crece la mancha del centro se pone de color gris.	Prevenir regulando la sombra adecuadamente. Control de malezas oportunos. Fertilización balanceada. Como medida curativa aplicar Difeconazole a dosis de 10 ml por 20 l de agua.
Phoma <i>(Phoma costarricensis)</i>	Ataca hojas tiernas, flores y frutos, en el lado lesionado aparición de rebrotes en forma de una escoba o ramillete, ocasionando la deformación de la estructura de la planta.	Regulación de sombra. Fertilización balanceada. Realizar drenajes. Poda adecuada. Aplicar un fungicida como el Difeconazole a dosis de 10 ml + Azosiytrobin a dosis de 4 gr por 20 l de agua.
Roya <i>(Hemileia vastatrix)</i>	Se presenta en forma de pústulas en las hojas causando la defoliación de la planta.	Preventivamente realizar el manejo de sombra. Deshierbas oportunas. Poda y manejo de sombra. Uso de variedad resistente. Fertilización balanceada. Aplicación de caldo bordelés. Como medida curativa aplicar el Bayleton 250 C a razón de 40 ml por mochila de 20 l.

3.3.5. Fertilización

El manejo nutricional de las plantas desempeña un papel fundamental en el comportamiento del ciclo productivo del cultivo. Una buena nutrición proporciona los minerales que requiere la planta para realizar sus funciones metabólicas y fisiológicas. Por eso, es de fundamental importancia aplicar fertilizante (químico u orgánico o ambos) al café en sus diferentes momentos, y de acuerdo con los resultados de un análisis de suelo y/o foliar. Con la fertilización mejora el vigor de las plantas, se fortalecen sus mecanismos de defensa contra plagas y enfermedades, y se mantiene la capacidad productiva (Virginio y Astargo, 2015, citado de Barquero, 2013).

Las fórmulas completas deben poseer no menos de 15% de Nitrógeno (N), 0.33% de Boro (B), 3% de fósforo (P_2O_5) y 4% de magnesio (MgO). En el caso del potasio (K_2O) para la mayoría del área cafetalera del país su contenido debería ubicarse entre un 10% y un 15% (ICAFE, 2011).

Fertilización en plantas en desarrollo

De acuerdo con Molinares y Castilblanco (2015) citado por Chaves (1999) durante el primer año de establecimiento definitivo del café en el campo, es recomendable realizar 3 fertilizaciones, el primero con altos contenidos de fósforo, y en las restantes debe fraccionarse el equivalente de 100 kg a 150 kg de nitrógeno ha^{-1} año.

En la etapa de desarrollo del café hay que procurar fertilizar principalmente con aquellos elementos que promueven el desarrollo (nitrógeno, fósforo), para asegurar que el desarrollo del cultivo sea el óptimo y tenga un buen comienzo en la etapa de producción (Molinares y Castilblanco, 2015).

Fertilización en plantas en producción

Los criterios para la fertilización de las plantas en esta etapa se inician a los 18 meses después de la siembra en el campo. En esta etapa se busca, con el uso de fertilizantes y enmiendas obtener la mayor producción y la calidad del café, con los mínimos costos económicos ambientales (Sadeghian, 2008).

La fertilización en los cafetales tiene un mayor impacto cuando el cultivo es joven, tienen un buen nivel de sombra y exposición solar y se desarrolla en condiciones edafoclimáticas favorables (Molinares y Castilblanco, 2015).

El cultivo en producción demanda mayores cantidades de nitrógeno y potasio, que de fósforo. Una cosecha de café oro de 997 kg ha⁻¹ extrae aproximadamente 35 kg de N, 8 kg de P₂O₅, 56 kg de K₂O y 4 kg de MgO por hectárea (Molinares y Castilblanco, 2015, citado de Castillo, 1996).

3.3.6. Poda del café

La poda consiste en el manejo de la estructura de la planta, eliminando los tallos improductivos para fomentar el desarrollo de nuevos tejidos. Asimismo, permite una mejor ventilación e ingreso de luz, favoreciendo el control preventivo de plagas y enfermedades (Marín, 2012).

La poda del café debe realizarse después que finaliza la cosecha del grano, de preferencia en el periodo seco o de baja precipitación. El propósito de la poda del café es eliminar tejido enfermo, agotado y ramas quebradas para que la planta se renueve (ICAFE, 2011).

Tipos de poda

Poda selectiva: consiste en analizar la planta individualmente para determinar cuál o cuáles ramas están agotadas y/o enfermas y proceder a cortarlas; así se mantiene la planta en un proceso constante de renovación (Virginio y Astargo, 2015).

Poda por calle: consiste en la poda total de las plantas de café en una calle (hilera), por lo general el agricultor decide el ciclo que desea aplicar que puede ser de tres, cuatro o cinco años. Se debe seguir un orden estricto al aplicar la poda. El objetivo de la poda por calle es crear un ciclo de podas y que se mantenga al menos el 66% de área de cultivo en producción (Virginio y Astargo, 2015).

Poda por lote: consiste en realizar la poda total de las plantas en un lote de café. El agricultor decide el área a podar en función de la extensión del cultivo y el estado fenológico del cafetal. Durante el periodo de recuperación de las plantas de café, el productor puede hacer uso de

las entrecalles para sembrar otros cultivos de ciclo corto, como frijol, maíz, chile, tomate, y así disminuir los costos de mantenimiento del área ya que la venta del producto le puede generar ingresos por un periodo de dos años (Virginio y Astargo, 2015).

3.3.7. Manejo de sombra

Esta labor permite el manejo de los cafetales con sombra regulada (60% de luz), con la finalidad de lograr la entrada de luz solar, ventilación, y humedad relativa necesaria para obtener mejores rendimientos. Una sombra regulada y bien distribuida, mejora la producción y reduce la presencia de plagas y enfermedades (Marín, 2012).

Poda de formación

Esta labor se realiza cuando los árboles de sombra aún están jóvenes para formar un solo tronco de 4 a 6 m de altura y darle su copa correspondiente, de modo que no estorbe a los arbustos de café vecinos ni la circulación de los trabajadores en el cafetal (Molinares y Castilblanco, 2015, citado de Mendoza *et al.*, 1996).

Poda de mantenimiento

Según Molinares y Castilblanco (2015) citado de Mendoza *et al.*, (1996) esta poda se efectúa anualmente para permitir suficiente luz y una buena distribución de la misma en el cafetal. Al podar es recomendable dejar tocones, para alargar la vida de la planta y que sirvan de apoyo al podador.

Esta poda se realiza para la regulación de entrada de rayos solares, y regula la temperatura del plantío ya que en época de llenado el café demanda mayor cantidad de horas luz, porque necesita mayor eficiencia en la realización fotosíntesis (Molinares y Castilblanco, 2015).

3.4. Roya del café (*Hemileia vastatrix*)

La roya del café es la enfermedad de mayor importancia económica del cultivo de café a nivel mundial, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* (Berck & Br). Fue observada por primera vez en 1861 en el área del Lago Victoria en el África Oriental (Virginio y Astargo, 2015).

La roya es una enfermedad fungosa, presente en Nicaragua desde el año 1976. Afecta las hojas maduras de las plantas del café provocando la caída prematura de las hojas infestadas, lo cual puede reducir el rendimiento hasta en un 50% ya que afecta la economía energética de la hoja, la cual es responsable de tres procesos vitales como son: fotosíntesis, respiración y transpiración (RAMAC, 2013).

3.4.1. Taxonomía de la roya

Taxonomía del hongo que provoca la roya del café, según Maltéz (2014) citado de Velásquez (2013), es la siguiente:

Reino: Fungí

Clase: Basidiomicetes

Orden: Uredinales

Familia: Pucciniaceae

Género: Hemileia

Especie: *H. vastatrix*

3.4.2. Proceso infeccioso

El proceso infectivo de la roya del cafeto comienza con los síntomas de la enfermedad que aparecen en el envés de las hojas, en donde se observan manchas pálidas que con el tiempo aumentan de tamaño y se unen formando las características manchas amarillas o naranja, con presencia de polvo fino amarillo (Cesave, s.f.).

Diseminación

La diseminación del hongo se realiza por medio de esporas denominadas uredosporas, que producidas en grandes cantidades corresponden al polvo amarillo o naranja que se visualiza en el envés de las hojas de café y que es característico de esta enfermedad (Vargas, 2017, citado de Rivillas *et al.*, 2011).

Germinación

Una vez que la espora (uredospora) llega al envés de la hoja, esta requiere la presencia de agua libre por al menos 6 horas, temperaturas entre 21°C a 25°C y condiciones de oscuridad (SAGARPA, 2013).

Penetración

Según Vargas (2017) citado de De Jong *et al.*, (1987) para darse la penetración del hongo en el hospedero se requiere la formación de apresorios, que son estructuras adhesivas y achatadas a partir de la cual se origina una hifa afilada, que permite forzar la entrada en el huésped. Los apresorios pueden formarse entre 6.5 - 8.5 horas después de iniciada la germinación y con temperaturas de 14°C a 20°C.

Colonización

Después de la penetración se establecen relaciones tróficas entre el hongo y la planta. Se da la formación de hifas intracelulares, de las cuales nacen haustorios intracelulares, los cuales extraen de las células invadidas los elementos necesarios para el crecimiento del hongo. Esto conduce a la aparición de los primeros síntomas, un leve amarillamiento entre diez y veinte días después de la germinación. Unas cuantas hifas invaden posteriormente una cámara sub-estomática y producen un agregado de células esporógenas o protosoro (Vargas, 2017, citado de Avelino y Rivas, 2013).

Esporulación

Según Vargas (2017) citado de Barquero (2013) los soros son los encargados de producir nuevas uredósporas. El tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de esporas se denomina periodo de latencia; cuanto más corto es el periodo de latencia, más fuerte es la epidemia. La duración del ciclo reproductivo de la roya dura alrededor de 30 días.

3.5. *Lecanicillium* spp

Lecanicillium spp es una especie de hongo entomopatógeno, antagonista y nematofago , el cual es utilizado para el combate de plagas y enfermedades agrícolas (Ecured, s.f.). Es muy efectivo por que tiene la capacidad de degradar las paredes de las uredosporas y alimentarse de las mismas (Cenicafé, 2011).

L. lecanii posee una amplia distribución mundial, desde Asia, Europa, América y algunas islas del Caribe. Este hongo ha sido aislado de sustratos como suelo, otros hongos, así como de insectos en todas sus etapas de desarrollo (Retana, 2006).

3.5.1. Taxonomía de *Lecanicillium* spp

De acuerdo con Vargas (2017) citado de Zare y Grams (2001) la clasificación taxonómica para *Lecanicillium lecanii* es la siguiente:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Género: *Lecanicillium*

Especie: *L. lecanii*

3.5.2. Condiciones agroclimáticas para *Lecanicillium* spp

Según Vargas (2017) citado de Cuthbertson *et al.*, (2005) el hongo *L. lecanii* puede crecer en un ámbito de temperatura entre 4°C y 30°C sin presentar crecimiento a más de 35°C. El crecimiento óptimo del hongo, así como su mayor tasa de infección se presenta a una temperatura de 25°C (Ayala *et al.*, 2005).

La humedad relativa óptima para la germinación de los conidios se encuentra entre 90% y 95%. Estas condiciones son críticas en las etapas iniciales de germinación, sin embargo, no son tan determinantes en lo que respecta a invasión, perforación y penetración del hongo,

debido a que estas etapas se pueden realizar en condiciones de humedad relativamente bajas (Vargas, 2017, citado de Inglis *et al.*, 2001).

3.5.3. Proceso infeccioso

De acuerdo con Vargas (2017) citado de Askary *et al.*, (1997) el modo de acción de *L. lecanii* es por contacto, hiperparasitando otros hongos, entre ellos la roya. Una vez que las esporas de *L. lecanii* entran en contacto con el patógeno se da una liberación de enzimas, como la β -1,3-glucanasa, quitinasas, amilasas y proteasas, las cuales causan alteraciones en la pared celular del hospedero, permitiendo que las hifas de penetración de *L. lecanii* ingresen. Posteriormente se observa una desorganización del citoplasma en las células del patógeno, debido a la pérdida de turgencia de las células y contorsión de la pared celular. Por último, las células atacadas colapsan, reduciendo su protoplasma debido a la extensa multiplicación del antagonista. Luego se da la liberación de las esporas de *L. lecanii* de las células muertas del hospedero.

3.5.4. Identificación del hongo en campo

El hongo *Lecanicillium* spp se puede observar en campo como unas manchas blancas redondeadas que se ubican sobre las pústulas anaranjadas de roya del café (Figura 2).



Figura 2. *Lecanicillium* spp parasitando a la roya del café *Hemileia vastatrix* (Virginio y Astargo, 2015).

3.6. *Trichoderma* spp

Es un hongo aerobio facultativo, con capacidad para resistir un amplio intervalo de temperaturas, se encuentra de manera natural en diferentes suelos agrícolas y en otras condiciones (Castro y Rivillas, 2012). El éxito de las cepas de *Trichoderma* spp como agentes de control biológico es debido a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizósfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa. Las diferentes especies se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo (Benítez y Rincón, 2004).

3.6.1. Taxonomía de *Trichoderma* spp

Clasificación taxonómica para *Trichoderma* spp según Villegas (2008):

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Subdivisión: Eumycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Género: *Trichoderma*

Especie: *harzianum*

3.6.2. Condiciones agroclimáticas para *Trichoderma* spp

Según Vásquez (2010) el hongo *Trichoderma* spp es un microorganismo mesófilo, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 25°C a 30°C, pero a la vez capaz de crecer en temperaturas que van desde los 10°C hasta los 40°C. La humedad relativa óptima para su crecimiento es de 70% a 80%, con la capacidad de adaptarse en medios con humedades entre el 20% y 90%.

3.6.3. Proceso infeccioso

En la acción de control biológico de *Trichoderma* spp se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno (Lorenzo, 2001, citado de Leal, 2000).

3.7. *Bacillus subtilis*

Es una bacteria Gram positiva habitante natural del suelo, la cual coloniza las raíces, compitiendo con los patógenos por espacio y sitios de infección en raíces (Guerrero, 2014). Produce endospora las que son termorresistentes y también resiste factores físicos perjudiciales como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos, produce enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuente de carbono y electrones, producen antibióticos como la bacitracina, polimixina, gramicidina y circulina, fermentan la caseína y el almidón (Cuervo, 2010).

3.7.1. Taxonomía de *Bacillus subtilis*

Clasificación taxonómica para *Bacillus subtilis* según Nacato y Valencia (2016):

Reino: Bacteria

División: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Género: *Bacillus*

Especie: *subtilis*

3.7.2. Condiciones agroclimáticas para *Bacillus subtilis*

Entre las características del género *B. subtilis* destaca su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo, Gram positivas, morfología bacilar, movilidad flagelar, y tamaño variable (0.5 a 10 μm), su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30°C y 45°C), normalmente crecen en ambientes con mucha humedad disponible (Tejera y Heydrich, 2011).

3.7.3. Proceso infeccioso

Una gran diversidad de especies del género *B. subtilis* han demostrado tener actividad antagónica contra diversos microorganismos fitopatógenos de cultivos agrícolas, en la actualidad esta bacteria es ampliamente estudiada para mitigar la incidencia de enfermedades de importancia agrícola. Entre los principales mecanismos de acción por los cuales este microorganismo evita el establecimiento y desarrollo de organismos fitopatógenos se incluyen la excreción de antibióticos, sideróforos, enzimas líticas, toxinas e induciendo la resistencia sistémica de la planta (IRS) (Layton, Maldonado, Monroy, Corrales y Sánchez, 2011).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del área del estudio

La investigación se realizó en el año 2018, en plantaciones de café de la comunidad el Chichicaste, municipio de San Lucas, departamento de Madriz, ubicada a 230 km de la capital Managua. Se seleccionó la Finca Las Pilas del productor Claudio de Jesús Alvarenga, ubicada en las coordenadas 13° 22' 34'' N 86° 36'41'' O (Figura 3) a una altitud de 1130 msnm, temperatura promedio anual de 22°C, precipitación promedio anual de 1300 mm (INPRHU, 2018).

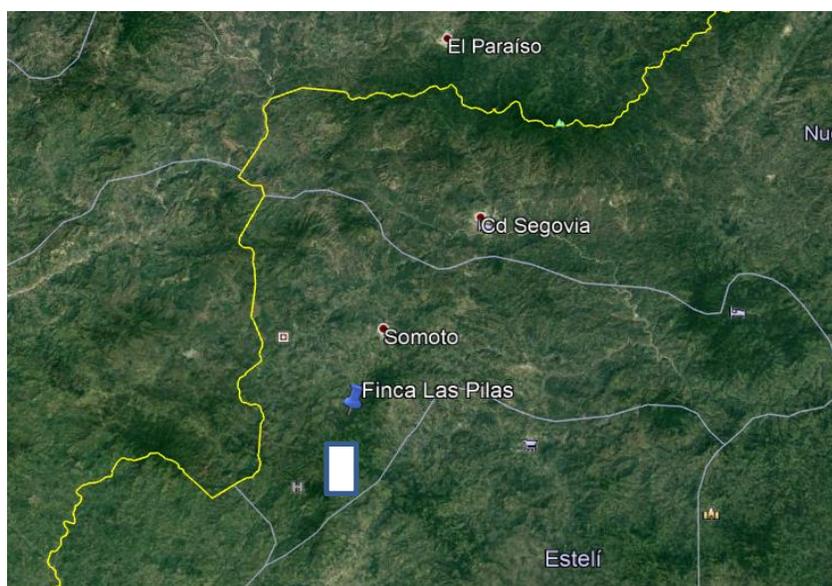


Figura 3. Ubicación finca Las Pilas San Lucas, Madriz.

4.2. Diseño experimental

Se estableció un experimento factorial (medidas repetidas en el tiempo con submuestras), en plantación establecida de café, variedad caturra de ocho años de edad y que presentaban incidencia de roya, los factores evaluados fueron: 1) *Lecanicillium* spp 2) *Trichoderma* spp 3) *Bacillus subtilis* cepa QST 713 Serenade® ASO 4) Producto químico Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) y 5) Testigo sin aplicación. Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron cada 15 días, se utilizó una bomba de mochila de 20 litros con boquilla tipo cónica regulable, este tipo de boquilla es la más recomendable para la aplicación de fungicidas dada su alta turbulencia y gotas más finas, lo que permite una buena cobertura del cultivo (Unisem, 2014).

Se delimitaron cinco parcelas experimentales, cada parcela tenía un área de 374 m², posteriormente en cada parcela se establecieron cinco puntos de muestreo, donde se seleccionaron cinco plantas por punto, muestreando 25 plantas por parcela, para un total de 125 plantas muestreadas en toda el área experimental. Para la toma de datos de incidencia y severidad por planta, se seleccionaron tres bandolas al azar, dividiendo la planta en tres estratos alto, medio y bajo, muestreando una bandola por estrato, muestreando 75 bandolas por unidad experimental para un total de 375 bandolas en toda el área del ensayo (Anexo 1).

4.3. Manejo del experimento

El manejo del experimento se realizó de acuerdo con las actividades que el productor desarrolló en el periodo que estuvo establecido el ensayo experimental. Entre las cuales se encuentra: manejo de sombra que se hizo de acuerdo con la práctica del productor, garantizando niveles de sombra ente 40% y 60%, manejo de malezas se realizó mecánicamente utilizando machete y con respecto al manejo de plagas, fertilización y podas no se realizó ningún tipo de actividad.

4.4. Recolección y frecuencia de muestreo

Los muestreos se realizaron cada 15 días, antes y después de cada aplicación. En cada planta se tomaron tres bandolas al azar, una de la parte alta, media y baja de la planta; en cada bandola se determinó el número de hojas totales, hojas con roya y el total de hojas sanas, datos que luego fueron utilizados para determinar la incidencia y severidad de roya en una hoja de muestreo (Anexo 2).

4.5. Tratamientos evaluados

En el experimento se utilizaron tres tratamientos de origen biológico, dos de ellos son hongos antagonistas y una bacteria; así como un producto de origen sintético en dosis comercial (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos evaluados en el ensayo

Tratamientos	Descripción de los tratamientos	Dosis
1	<i>Lecanicillium</i> spp	300 g ha ⁻¹
2	<i>Trichoderma</i> spp	300 g ha ⁻¹
3	<i>Bacillus subtilis</i> (Serenade® ASO)	3.6 l ha ⁻¹
4	Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®)	0.35 l ha ⁻¹
5	Testigo absoluto	Sin aplicación

4.5.1. *Lecanicillium* spp

El hongo *Lecanicillium* spp se obtuvo del laboratorio de hongos entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria, el cual es originario de la finca cafetalera Santa Emilia ubicada en el Tuma - La Dalia, Matagalpa. Este hongo se extrajo de hojas infestadas con roya hiperparásitadas por *Lecanicillium* spp.

4.5.2. *Trichoderma* spp

El hongo *Trichoderma* spp se obtuvo del laboratorio de hongos entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria, el cual fue extraído de muestras de suelo en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) ubicada en el Viejo – Chinandega, Cepa T0301.

4.5.3. *Bacillus subtilis* cepa QST 713 (Serenade® ASO)

Es un fungicida bactericida biológico preventivo para múltiples cultivos, contiene la bacteria *Bacillus subtilis* cepa QST 713, microorganismo que está presente también en la naturaleza y que previene el crecimiento de agentes patógenos al competir con ellos por su espacio vital y por los nutrientes cuando se aplica en la zona radicular. La bacteria, además, favorece la resistencia de las plantas y sintetiza sustancias que actúan perforando la membrana celular y desorganizándola (BAYER, s.f.).

4.5.4. Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®)

Es un fungicida sistémico para el control de enfermedades foliares en diferentes cultivos. Amistar Xtra® combina la destacada acción preventiva y antiesporulante de azoxistrobina, perteneciente al grupo de las estrobilurinas, con el efecto curativo y erradicante de cyproconazole, perteneciente al grupo de los triazoles. La mezcla de ambos principios activos determina una acción combinada, bloqueando el proceso respiratorio y la síntesis de

ergosterol en los hongos. Esta acción asegura un amplio espectro de control durante un período prolongado y reduce el riesgo de aparición de cepas resistentes (Syngenta, 2019).

4.6. Variables evaluadas

- Incidencia de roya
- Severidad de roya
- Número de hojas totales
- Número de hojas sanas

4.6.1. Incidencia de roya

La incidencia de roya se midió utilizando el total de hojas con roya de cada bandola, dividido entre el total de hojas por bandola y luego estos se multiplican por cien para obtener el porcentaje de incidencia. Para medir la incidencia de roya se utilizó la fórmula establecida por Vargas (2017):

$$\text{Incidencia de roya \%} = \frac{\text{Total de hojas con roya por bandola}}{\text{Total de hojas muestreadas por bandola}} \times 100$$

4.6.2. Severidad de roya

Para evaluar la severidad de roya, se utilizó la metodología empleada por SAGARPA (2013) la cual consiste en emplear una escala donde se presenta un porcentaje de daño desde el grado cero, que representa la hoja completamente sana, hasta grado 4, que es una hoja con más del 50% de su área afectada.

Cuadro 4. Escala de Severidad para roya (SAGARPA, 2013)

Grado	Hoja (% Daño)
0	Sano sin síntomas visibles
1	1-5 % de área afectada
2	6-20 % de área afectada
3	21-50 % de área afectada
4	> 50% de área afectada

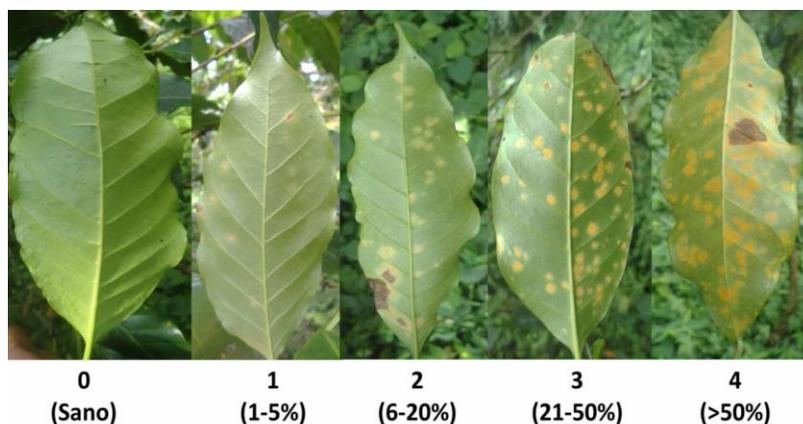


Figura 4. Escala de enfermedad para cuantificar la severidad de roya (*Hemileia vastatrix*) en las hojas de café (SAGARPA (2013)).

Para medir la severidad de roya se utilizó la siguiente fórmula establecida por (Townsend y Heuberger, 1943):

$$\text{Severidad de roya} = \frac{(N_0 * 0) + (N_1 * 1) + (N_2 * 2) + (N_3 * 3) + (N_4 * 4) \times 100}{N * 4}$$

Dónde:

N = # Total de hojas en cada parcela.

N₀ = # Hojas con valor 0 de la escala.

N₁ = # Hojas con valor 1 de la escala.

N₂ = # Hojas con valor 2 de la escala.

N₃ = # Hojas con valor 3 de la escala.

N₄ = # Hojas con valor 4 de la escala.

4.6.3. Número de hojas totales

Se contó el total de hojas que tienen las tres bandolas de cada planta muestreada.

4.6.4. Número de hojas sanas

Se determinó como hojas sanas las que estaban libres de síntomas o presencia del hongo.

4.7. Análisis de datos

Los datos fueron analizados de acuerdo con el diseño experimental utilizado. Se llevó a cabo un análisis de varianza para todas las variables, transformando los datos de incidencia y severidad de roya en arcoseno ($\sqrt{x/100}$) y número de hojas totales y número de hojas sanas se transformaron en raíz ($\sqrt{x + 0.5}$), luego se hicieron comparaciones de medias por Tukey ($\alpha= 0.05$), utilizando el programa estadístico SAS versión 9.1.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Incidencia de roya

Según el análisis estadístico realizado (Anexo 3) se encontró diferencias significativas entre fechas de muestreos para la variable incidencia de roya ($p = 0,0001$). Obteniendo porcentajes de incidencia de roya elevados en todo el periodo de estudio, que sobrepasan los niveles aceptables. Donde en la segunda semana del mes de diciembre del 2018 presentó la menor incidencia de roya con 26.14% y la mayor incidencia de la enfermedad se presentó en la última semana del mes de enero del 2019 con 46.89% (Figura 5).

Algunos de los factores que influyeron en los resultados obtenidos en la variable incidencia de roya fueron la edad avanzada de la plantación, el bajo manejo de plagas y enfermedades y la variedad que predominaba en la finca (caturre), la cual es una variedad altamente susceptible al ataque de roya, esto coincidiendo con lo reportado por la FAO (2015) que indica que el uso de cultivares resistentes es la medida más eficaz para el manejo de roya y a la vez con los resultados de un estudio realizado por Estrada (2015), que encontró diferencia significativa atribuyendo a que la variedad de café caturra es susceptible al ataque de roya.

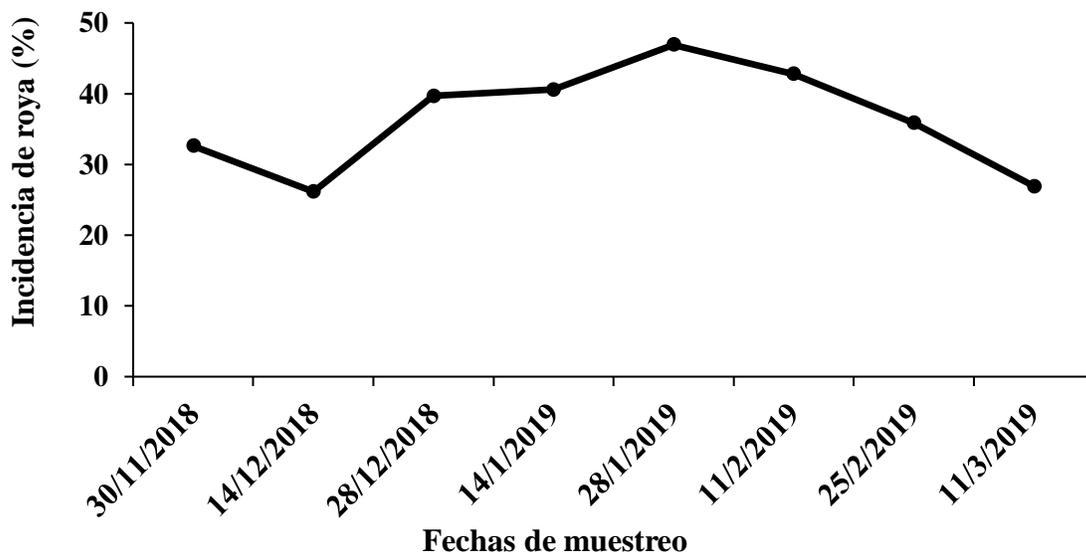


Figura 5. Incidencia de roya en diferentes fechas de muestreo, noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Matriz.

Según el análisis de varianza realizado (Anexo 3) se encontró diferencia significativa entre tratamientos para la variable incidencia de roya ($p = 0.0001$). Siendo el tratamiento Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) el que presentó el menor porcentaje de incidencia con 12%, seguido del tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) con 36.95%. Presentándose el mayor porcentaje de incidencia en el tratamiento *Trichoderma* spp con 57.59% (Figura 6).

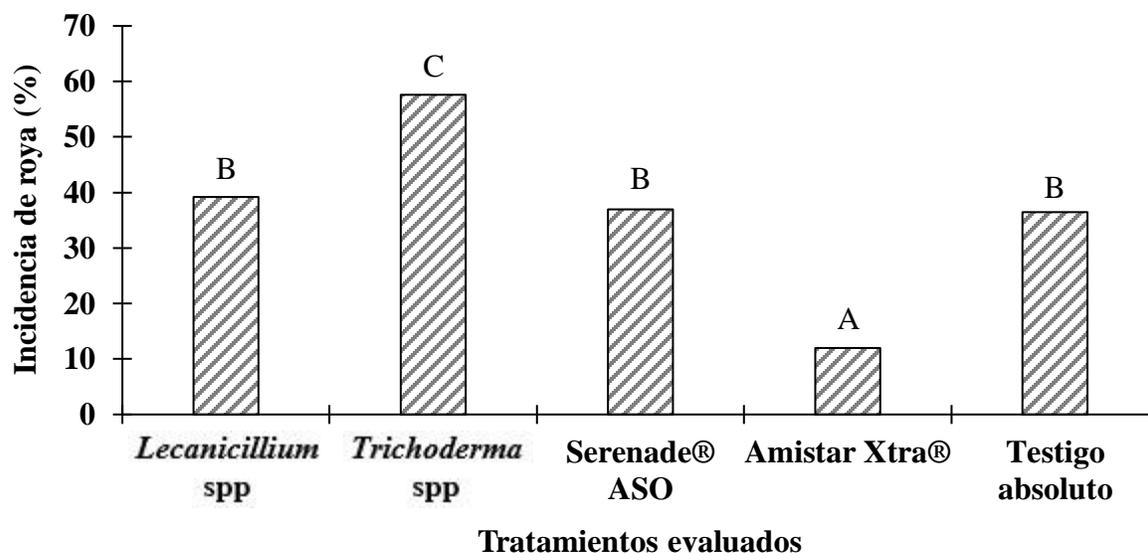


Figura 6. Incidencia de roya por tratamiento en el periodo noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz.

El tratamiento Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) presentó el menor porcentaje de incidencia de roya con un 12%, el cual estuvo por encima del umbral de daño económico establecido por (Montes, Armando y Cadena, 2012), lo que requiere de aplicaciones de fungicidas; esto coincide por lo dicho por Barquero (2013) que, si el nivel de enfermedad alcanza el 10% o el 15%, es urgente aplicar algún fungicida sistémico del grupo de los Triazoles (siendo 5% el nivel aceptado en una plantación).

El tratamiento testigo absoluto (sin aplicación) presentó similar comportamiento que el tratamiento biológico *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) en las variables incidencia, severidad y número de hojas totales. Esta parcela presentaba menor cantidad de sombra que el resto de los tratamientos; así como una gran cantidad de plantas en estado de recepo, lo que pudo haber tenido influencia para tener plantas rejuvenecidas que presentaron mayor resistencia a roya del café.

5.2. Severidad de roya

Según el análisis estadístico realizado (Anexo 4) se encontró diferencias significativas entre fechas de muestreos ($p = 0.0001$). Los porcentajes de severidad de roya durante se desarrolló el ensayo fueron muy altos. Donde en la segunda semana del mes de marzo del 2019 se presentó la menor severidad de roya con 13.47% y la mayor severidad de la enfermedad se presentó en la última semana del mes de noviembre del 2018 con 28.40% (Figura 7).

Los altos porcentajes de severidad de roya que se presentaron en la última semana del mes de noviembre 2018 y en la segunda semana del mes de enero de 2019 se debió a que en este periodo del año las afectaciones por enfermedades aumentan por que se propician condiciones favorables (precipitación y temperatura) para su desarrollo y las labores de manejo son nulas, dado que el productor se encuentra durante la temporada de cosecha.

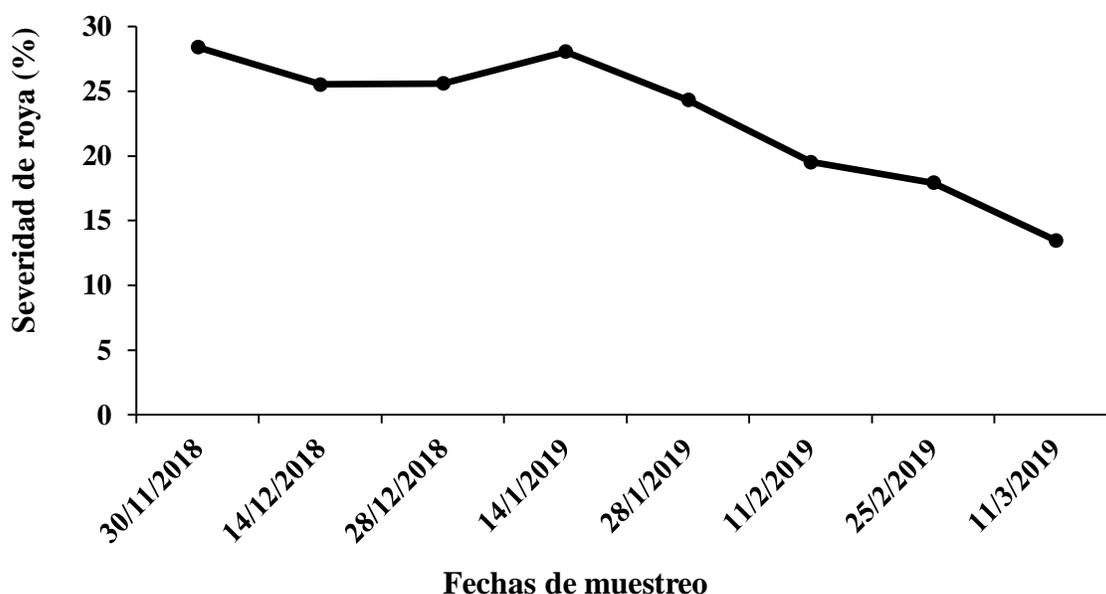


Figura 7. Severidad de roya en diferentes fechas de muestreo, noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz.

A la vez se puede decir que las afectaciones también se ven beneficiadas debido a que la plantación se encuentra en un periodo de estrés causado por la carga fructífera, lo que coincide con lo reportado por López (2010) que realizó un estudio encontrando diferencias significativas de severidad entre cargas fructíferas.

El menor porcentaje de severidad se presentó en la segunda semana del mes de marzo debido a la caída natural de las hojas afectadas por roya (Figura 7), lo que coincide con lo planteado por Benavides y Romero (2004) que encontraron que en los meses de marzo y abril se da la caída natural de hojas afectadas por roya.

Según el análisis de varianza realizado (Anexo 4) se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($p = 0.0001$). La menor severidad de roya se registró en el tratamiento Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) con 10.29%, seguido del tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) con 23.67% de severidad. En tanto, la mayor severidad se encontró en el tratamiento *Trichoderma* spp con 30.83% (Figura 8).

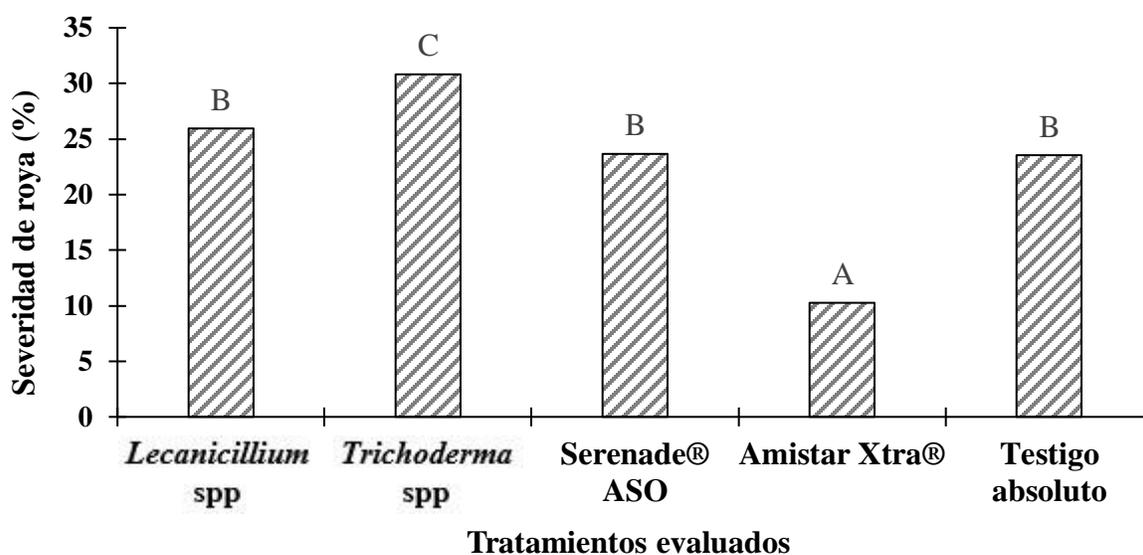


Figura 8. Severidad de roya por tratamiento en el periodo noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Matriz.

El porcentaje menor de roya en el tratamiento Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) fue debido a la efectividad que este realiza como fungicida preventivo y curativo, que mantuvo los porcentajes de infestación bajos, coincidiendo con lo dicho por García (2013) que utilizó diferentes alternativas químicas para el manejo de roya, demostrando que los productos de la familia de los triazoles mostraron los mejores resultados en aplicaciones consecutivas.

El tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) presentó los menores porcentajes de roya del café, dado que esta bacteria crea una relación con la planta para competir con los microorganismos patógenos por espacio y sitios de infección (Cuervo, 2010). En un estudio

realizado por Daivasikamani y Rajanaika (2009) encontraron un efecto de esta bacteria para el manejo de *Hemileia vastatrix*.

5.3. Número de hojas totales

Según el análisis de varianza realizado (Anexo 5) se encontró diferencia significativa entre tratamientos para la variable número de hojas totales ($p = 0.0001$). Siendo el tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) el que presentó el mayor número de hojas totales promedio por bandola con un porcentaje de 40 hojas por bandola, el segundo mejor tratamiento fue *Lecanicillium* spp con un promedio de 36 hojas por bandola y el tratamiento que menor promedio de hojas tuvo fue *Trichoderma* spp con 34 (Figura 9).

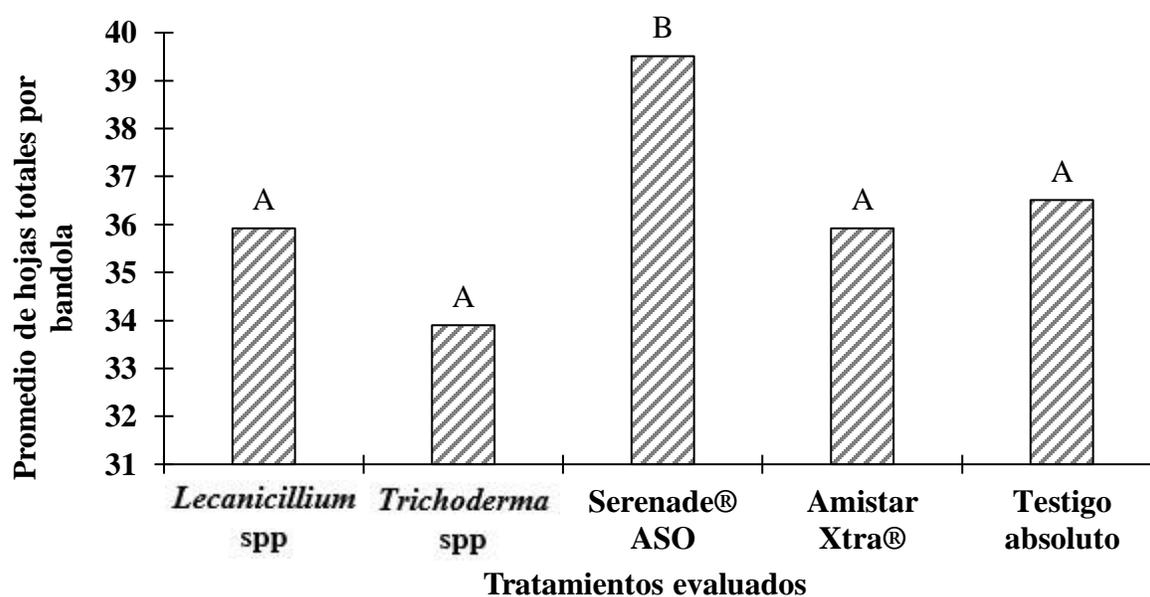


Figura 9. Promedio de hojas totales por bandola en cada tratamiento en el periodo de noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Madriz.

Las plantas estudiadas tienen aproximadamente 8 años, el manejo agronómico al que son sometidas es mínimo y los niveles de pluviosidad anuales son muy bajos por lo cual la masa foliar de la planta se ve muy afectada.

En la variable incidencia se observó que el tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) tiene similar porcentaje que el tratamiento *Lecanicillium* spp, un bajo porcentaje de incidencia favorece en tener mayor follaje de la planta. Además, que el tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) pudo haber sido favorecido por tener mayor número de plantas

bajo manejo de tejidos (recepto) lo que resulta en un mayor número de plantas con más vigor que el resto.

Según ICAFE (2013) la realización de prácticas agronómicas como la poda del café tienen un efecto directo sobre la capacidad productiva de la plantación, pero además y de forma indirecta si se realizan bien, limitan el progreso de la roya, así como de otras enfermedades del cultivo. El testigo absoluto es un lote similar al tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) debido a que tiene un mayor porcentaje de plantas jóvenes de aproximadamente seis años.

Está comprobado que la edad de la planta influye mucho en la susceptibilidad a la roya. Ifinca (2019) dice que las plantas de café después de los cinco años de edad se vuelven más vulnerables a la roya. El tratamiento *Trichoderma* spp fue el menos efectivo (Figura 6 y 8) por que fue el tratamiento que tuvo un mayor porcentaje de severidad e incidencia con 30.83% y 57.59% respectivamente. De acuerdo con González (2013) a partir del 60% de incidencia la planta inicia el proceso de defoliación como mecanismo de autodefensa ante la enfermedad, lo que representa un menor número de hojas totales.

De acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) realizada por estrato para la variable número de hojas totales se observa que el estrato alto presenta el mayor promedio de hojas con un promedio de 38, seguido del estrato medio con un porcentaje de 36. El estrato bajo presenta el menor porcentaje de hojas con un promedio de 34% (Anexo 6).

5.4. Número de hojas sanas

Según el análisis estadístico (Anexo 7) realizado hay un efecto significativo en los tratamientos ($P = 0.0001$). El tratamiento con un mayor número de hojas sanas es Azoxistrobina + Cyproconazole (Amistar Xtra®) con 31 hojas sanas promedio por bandola, el segundo mejor tratamiento es *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) con 26 hojas sanas promedio por bandola y el tratamiento con un menor número de hojas sanas es el tratamiento *Trichoderma* spp con 15 hojas sanas promedio por bandola (Figura 10).

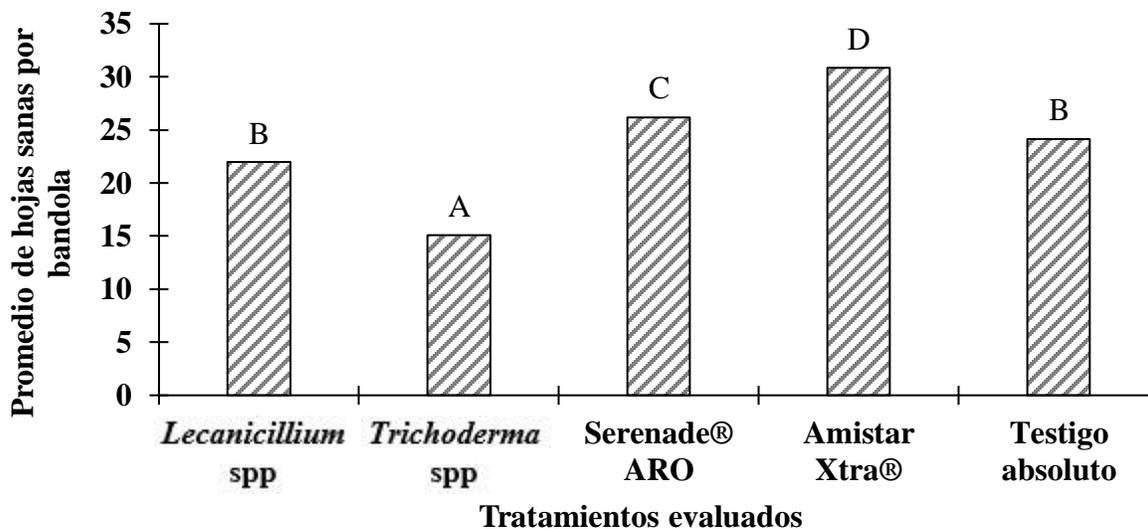


Figura 10. Promedio de hojas sanas por bandola en cada tratamiento durante el periodo de noviembre 2018 a marzo 2019 en San Lucas, Matriz.

El manejo del cultivo, las variedades de café plantadas, la densidad de siembra, el estado nutricional de la planta, el uso y manejo de sombra, el control de plantas arvenses y, muy en especial, la edad de la planta de café son otros tantos factores que tienen influencia e implicaciones en las funciones fisiológicas y en el desarrollo de la roya del café (Virginio y Astargo, 2015). El tratamiento Amistar Xtra® es una azoxystrobina más cyproconazole, fungicida de alto poder curativo, el cual inhibe la síntesis de ATP y ergosterol en el hongo (Cárdenas, Suarez y Orozco, s.f). Este tratamiento obtuvo el mayor número de hojas sanas, seguido del tratamiento *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) que presentó la segunda mejor cantidad de hojas sanas por bandola, debido a la influencia de *Bacillus subtilis* y a tener mayor porcentaje de tejidos en la parcela. En el tratamiento *Trichoderma* spp presentó un mayor porcentaje de incidencia y severidad lo que representa menos hojas sanas por bandola, además en este tratamiento no se ha realizado manejo de tejidos y hay un alto porcentaje de sombra.

El cultivo de café bajo sombra regulada proporciona condiciones de microclima que propician el desarrollo de la enfermedad, lo que coincide con Virginio y Astargo (2015) señala que, bajo condiciones de sombra, las hojas se mantienen mojadas por más tiempo lo que favorece la germinación de la spora, las temperaturas son cercanas a las óptimas para la germinación y penetración del hongo y hay una mayor humedad relativa.

La prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) realizada por estrato para la variable número de hojas sanas muestra que el estrato alto presenta el mayor porcentaje de hojas con un promedio de 26%, seguido del estrato medio con un porcentaje de 23%. El estrato bajo presenta el menor porcentaje de hojas con un promedio de 22% (Anexo 8).

El estrato bajo de la planta presenta los menores porcentajes de número de hojas totales y número de hojas sanas debido a que en las hojas de los estratos medio y bajo se aloja el inóculo residual de la roya el cual es beneficiado con las primeras lluvias y acelera el proceso infeccioso; esto mismo ha sido reportado por Barquero (2013) quien indica que el inóculo residual se encuentra en las hojas internas de las bandolas, principalmente de los estratos medio y bajo de las plantas.

VI. CONCLUSIONES

De las alternativas utilizadas para el manejo de roya del café, el tratamiento más efectivo fue *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) a una dosis de 3.6 l ha⁻¹, el cual obtuvo los menores porcentajes de incidencia y severidad con 36.95% y 23.67% respectivamente, el mayor número de hojas totales con un promedio de 40 hojas por bandola y mayor número hojas sanas con un promedio de 26 hojas por bandola; seguido del tratamiento *Lecanicillium* spp.

Durante el periodo de estudio los promedios de incidencia y severidad fueron altos. El menor porcentaje de incidencia de roya se presentó en la segunda semana del mes de diciembre del 2018 con una media de 26.14% y el menor porcentaje de severidad de roya se obtuvo en la segunda semana del mes de marzo del 2019 con una media de 13.47%.

VII. RECOMENDACIONES

De acuerdo con resultados obtenidos se recomienda utilizar *Bacillus subtilis* (Serenade® ASO) para el manejo biológico de roya del café para la zona de San Lucas, Matriz.

Realizar investigación con microorganismos antagonistas en otras zonas con diferentes condiciones climáticas para comparar los resultados obtenidos.

VIII. LITERATURA CITADA

- Arcila, J., Farfán, F., Moreno, A., Salazar, L. y Hincapié, E. (2007). *Sistemas de producción de café en Colombia*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé.
- Ayala, M., Mier, T., Sánchez, J. y Toriello, C. (2005). Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. *Revista Mexicana de Micología*, 20, 93 - 97.
- Barquero Miranda, M. B. (2013). *La roya del café*. Costa Rica: Icafe.
- BAYER. (s.f.). Serenade® ASO. Recuperado de <https://www.cropscience.bayer.es/Productos/Biologicos/Serenade-ASO.aspx>
- Benavides, M. y Romero, S. (2004). *Efecto de diferentes niveles de insumos y tipos de sombra sobre el comportamiento de las principales plagas del cultivo de café (Coffea arabica L), Masatepe, Nicaragua 2003 – 2004* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Benítez, T., Rincón, A., Limón, M. y Codón, A. (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 249 - 260.
- Cárdenas, J., Suarez, O. y Orozco, E. (s.f.). *Roya del cafeto*. Recuperado de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/roya-del-cafeto>
- Castro Toro, A. M. y Rivillas Osorio, C. A. (2012). *Trichoderma spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café*. Caldas, Colombia: Espacio Gráfico Comunicaciones S.A.
- Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO). (2013). *Informe Final IV Censo Nacional Agropecuario*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/I9362ES/i9362es.pdf>
- Centro Nacional de Investigación de Café (Cenicafé). (2011). *Cultivemos café / Manejo Integrado del Cultivo*. Recuperado de https://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/enfermedades/P2
- Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Sonora (Cesave). (s.f.). *Roya del Cafeto (Hemileia Vastatrix)*. Recuperado de <http://www.cesvver.org.mx/roya-del-cafe-hemileia-vastatrix/>
- Cristancho, M. (2003). *"Control Biológico de enfermedades" Enfermedades Del Cafeto En Colombia*. Bogotá, Colombia: Especial Impresores.
- Cuervo Lozada, J. P. (2010). *Aislamiento y caracterización de Bacillus spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

- Daivasikamani, S. y Raja, N. (2009). Effect of some abiotic factor son germination of urediospores of the coffee leaf rust fungus, *Hemileia vastatrix* (Berkeley & Broome) J. *Biopesticides*, 2(1), 15 – 17.
- Ecured. (s.f.). *Lecanicillium spp.* Recuperado de https://www.ecured.cu/Lecanicillium_spp
- Escobedo, A., Bendaña, E. y Gutiérrez, R. (s.f.). *Café de Nicaragua*. Recuperado de http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/8657/Cafe_de_Nicaragua_Cartilla.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Espanica. (2018). *Café de Nicaragua*. Recuperado de <https://espanica.org/cafe-de-nicaragua/>
- Estrada, P. (2015). *Severidad de Hemileia vastatrix Berk. & Br. en plántones de cuatro variedades de Coffea arabica L. en Río Negro Satipo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro del Perú, Satipo, Perú.
- García Rosales, D. A. (2013). *Incidencia y severidad de la roya del café (Hemileia vastatrix) y evaluación de alternativas químicas para su control; Finca El Platanar, Chimaltenango* (Tesis de pregrado). Universidad Rafael Landívar, Escuintla, Guatemala.
- González, R. y Ramírez, M. (2013). *Manual técnico para el manejo preventivo de la roya del cafeto*. Recuperado de <http://www.royacafe.lanref.org.mx/Documentos/Manualtecnicoroya.pdf>
- Guerrero Ruiz, J. C. (2014). *Beneficios de B. Subtilis en tomates*. Recuperado de <https://www.hortalizas.com/proteccion-de-cultivos/biorracional-organico/los-beneficios-de-b-subtilis-en-tomates/>
- Guharay, F., Monterey, J., Monterroso. y Staver, Ch. (2000). *Manejo integrado de plagas en el cultivo de café*. Managua, Nicaragua: CATIE.
- Ifinca. (2019). *Guía de plagas y enfermedades comunes del café*. Recuperado de <https://perfectdailygrind.com/es/2019/01/25/guia-de-plagas-y-enfermedades-comunes-del-cafe/>
- Instituto de Promoción Humana Somoto (INPRHU). (2018). Datos meteorológicos.
- Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE). (2011). *Guía Técnica para el Cultivo del Café*. Heredia, Costa Rica: ICAFFE.
- Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE). (2013). *Recomendaciones para el combate de la roya del cafeto*. Heredia, Costa Rica: ICAFFE.

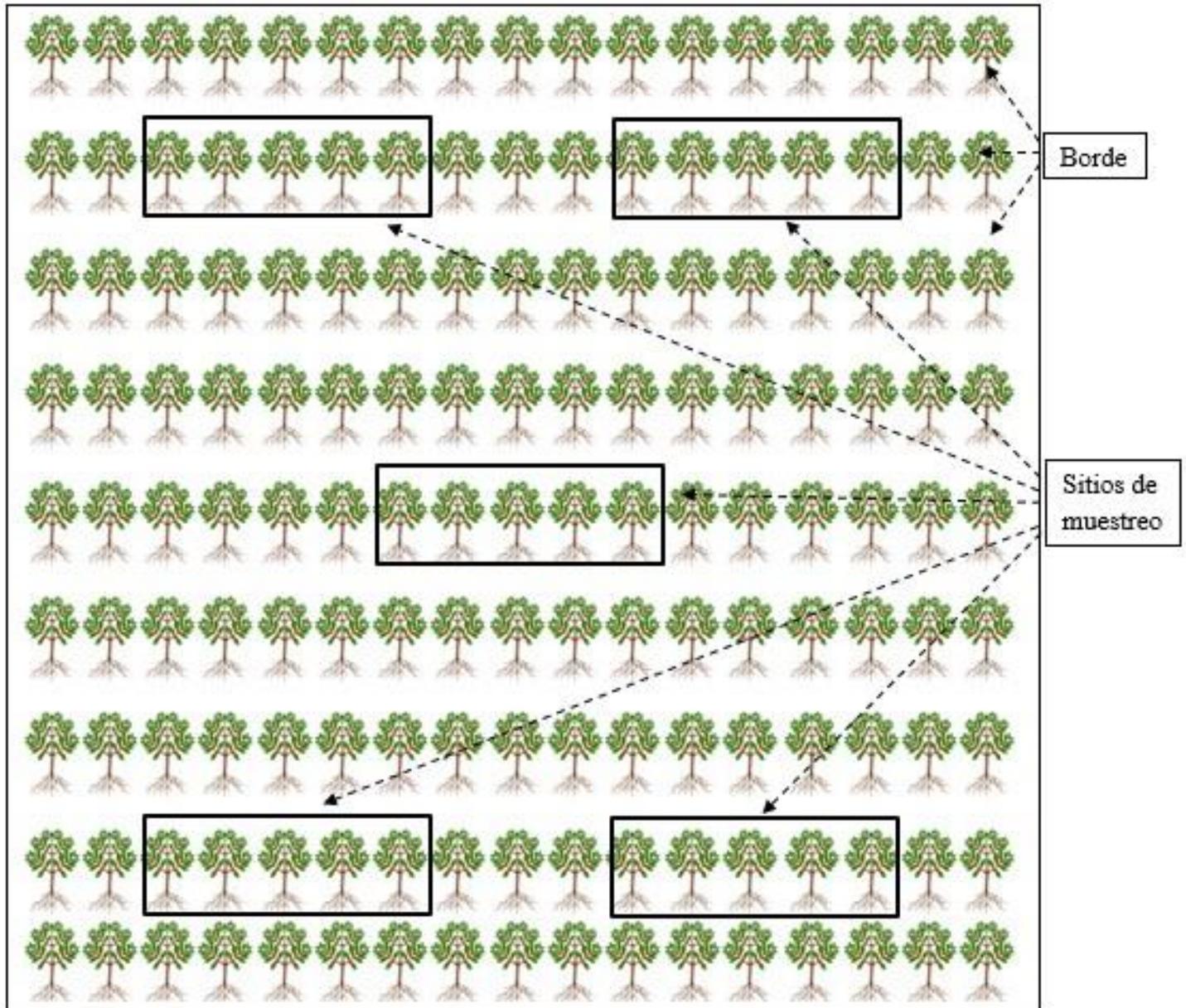
- Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura (INTAGRI). (s.f.). *Trichoderma Control de Hongos Fitopatógenos*. Recuperado de https://www.intagri.com/public_files/Trichoderma.pdf
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L. y Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *NOVA*, 9, 177 - 187.
- López Bravo, D. F. (2010). *Efecto de la carga fructífera sobre la roya (Hemileia vastatrix) del café, bajo condiciones microclimáticas de sol y sombra, en Turrialba, Costa Rica* (Tesis de maestría). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- Lorenzo, N. (2001). *Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de Trichoderma spp* (Tesis de maestría). Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba.
- Maltéz Díaz, L. R. (2014). *Actividades de monitoreo y manejo de la roya del café en finca Las Victorias, Barberena, Santa Rosa* (Tesis de pregrado). Universidad Rafael Landívar, Escuintla, Guatemala.
- Marín, G. (2012). *Producción de cafés especiales. Manual técnico*. Lima, Perú: Roble Rojo Grupo de Negocios S.A.C.
- Molinares Zeledón, C. A. y Castilblanco Urbina, A. D. (2015). *Programas de manejo de roya (Hemileia vastatrix) en cinco fincas cafetaleras en condiciones edafoclimáticas del departamento de Matagalpa, segundo semestre 2014* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, Matagalpa, Nicaragua.
- Montes, C., Armando, O. y Cadena, R. (2012). Infestación e incidencia de broca, roya y mancha de hierro en cultivo de café del departamento del Cauca. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustria*, 11, 98 - 108.
- Moraga, P., Bolaños, T., Ilich, R., Munguía, R., Pohlan, J., Barios, M., Hagggar, J. y Gamboa, W. (2011). Arboles de sombra intensidad del cultivo afectan el rendimiento de café (*coffea arabical.*) y la valoración ecológica en Masatepe, Nicaragua. *La Calera*, 11(17), 41 - 47.
- Ñacato, C y Valencia, M. (2016). *Aislamiento, identificación y pruebas in vitro de cepas autóctonas de Bacillus subtilis como agente de biocontrol de Alternaria spp en Brassica oleracea var.italica* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2015). *Manejo agroecológico de la roya del café*. Panamá: FAO.
- Perfecto, I., Rice, A., Greenberg, R. y Van der Voort, M. (2007). Shade coffee plantations can contain as much biodiversity as forest habitats. *BioScience*, 46(8), 598 - 608.
- Piñuela, A., Guerra, A. y Pérez, E. (2013). *Guía para el establecimiento y manejo de viveros agroforestales*. Yaracuy, Venezuela: Fundación Danac.
- Rappaccioli McGregor (RAMAC). (2013). *La roya, un problema actual en la caficultura nicaragüense*. Recuperado de <https://www.ramac.com.ni/?p=979>
- Retana, X. D. (2006). *Descripción del hongo Verticillium lecanii (Lecanicillium lecanii) y su papel en el control biológico de plagas* (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Rivas, C. (2008). *El Café en Nicaragua*. Recuperado de <http://www.monografias.com/trabajos-pdf/cafe-nicaragua/cafe-nicaragua.pdf>
- Sadeghian, S. (2008). *Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia*. Chinchiná, Caldas, Colombia: Feriva SA.
- SAGARPA: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2013). *Ficha técnica roya del café Hemileia vastatrix Berkeley & Broome. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria*. Recuperado de http://www.nuprec.com/Nuprec_Sp_archivos/CAFE/CAFETO_archivos/Roya_archivos/Literatura%20Roya/FichaT%C3%A9cnicaRoyadelCafeto.pdf
- SYNGENTA. (2019). *Amistar Xtra*. Recuperado de <https://www.syngenta.com.ar/product/crop-protection/fungicida/amistar-xtra>
- Tejera, B., Rojas, M. y Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género Bacillus en la promoción del crecimiento vegetal y el control de hongos fitopatógenos. *CENIC*, 42(3), 131 - 138.
- Townsend, G. R. y Heuberger, J. W. (1943). Métodos para estimar pérdidas causadas por enfermedades en experimentos con fungicidas. *The Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.
- Unisem. (2014). *Selección de boquilla correcta*. Recuperado de <https://semillastodoterreno.com/2014/07/seleccione-la-boquilla-correcta>
- Vargas Tenorio, D. A. (2017). *Efecto de la aplicación de Lecanicillium lecanii sobre la incidencia y severidad de la roya (Hemileia vastatrix) en el cultivo de café (Coffea arabica)* (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

- Vásquez Cárdenas, J. A. (2010). *Caracterización microbiológica y producción de Trichoderma harzianum y Trichoderma viride en cultivos artesanales* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Villegas, M. A. (2008). *Trichoderma Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible*. Bogotá, Colombia: Orius Biotecnología.
- Virginio, E. y Astargo, C. (2015). *Prevención y control de la roya del café*. Turrialba, Costa Rica: CATIE.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Plano de campo de una parcela experimental, San Lucas - Madriz



Anexo 2. Diseño de tabla utilizada para los muestreos

		TABLA DE MUESTREO DE ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE CAFÉ																														
Parcela Nº		Planta 1					Planta 2					Planta 3					Planta 4					Planta 5										
Punto de Muestreo	Estrato	HT	HR	SR	HP	HMH	HS	HT	HR	SR	HP	HMH	HS	HT	HR	SR	HP	HMH	HS	HT	HR	SR	HP	HMH	HS	HT	HR	SR	HP	HMH	HS	
1	A																															
	M																															
	B																															
	A																															
2	M																															
	B																															
3	A																															
	M																															
	B																															
	A																															
4	M																															
	B																															
5	A																															
	M																															
	B																															

Anexo 3. Análisis de varianza para la variable incidencia de roya

R-Cuadrado: 0.71		CV: 15.93			
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P - valor
Modelo	0.15305721	71	0.15305721	4.33	<0.0001
Punto	0.57792300	4	0.14448075	6.40	0.0009
Fecha	1.40245400	7	0.20035057	8.87	<0.0001
Punto*Fecha	0.63230100	28	0.02258218	0.64	0.9155
Tratamiento	5.27641300	4	1.31910325	37.34	<0.0001
Tratamiento*Fecha	2.97797100	28	0.10635611	3.01	<0.0001
Error	4.52213600	128	0.03532919		
Total	15.38919800	199			

Anexo 4. Análisis de varianza para la variable severidad de roya

R-Cuadrado: 0.74		CV: 5.89			
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P - valor
Modelo	2.30273950	71	0.03243295	5.21	<0.0001
Punto	0.07678300	4	0.01919575	2.90	0.0399
Fecha	0.52853150	7	0.07550450	11.40	<0.0001
Punto*Fecha	0.18544100	28	0.00662289	1.06	0.3930
Tratamiento	0.97146300	4	0.24286575	38.99	<0.0001
Tratamiento*Fecha	0.54052100	28	0.01930432	3.10	<0.0001
Error	0.79729600	128	0.00622887		
Total	3.10003550	199			

Anexo 5. Análisis de varianza para la variable hojas totales

R-Cuadrado: 0.83		CV: 7.59			
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P - valor
Modelo	129.4290675	71	1.8229446	8.75	<0.0001
Punto	107.0271715	4	0.4673393	3.07	0.0325
Fecha	1.8693570	7	15.2895959	100.38	<0.0001
Punto*Fecha	4.2649710	28	0.1523204	0.73	0.8310
Tratamiento	4.3489570	4	1.0872393	5.22	0.0006
Tratamiento*Fecha	11.9186110	28	0.4256647	2.04	0.0040
Error	26.6632720	128	0.2083068		
Total	156.0923395	199			

Anexo 6. Prueba de Tukey para la variable hojas totales por estrato

Estrato	Medias	n	E.E.	
A	38.22	200	0.53	A
M	36.36	200	0.53	B
B	34.48	200	0.53	C

Anexo 7. Análisis de varianza para la variable hojas sanas

R-Cuadrado: 0.69 **CV:** 18.66

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P - valor
Modelo	224.2558715	71	3.1585334	4.03	<0.0001
Punto	9.41859700	4	2.35464925	7.53	0.0003
Fecha	98.85108750	7	14.12158393	45.13	<0.0001
Punto*Fecha	8.76083500	28	0.31288696	0.40	0.9969
Tratamiento	64.64640200	4	16.16160050	20.61	<0.0001
Tratamiento*Fecha	42.57895000	28	1.52067679	1.94	0.0071
Error	100.3884480	128	0.7842847		
Total	324.6443195	199			

Anexo 8. Prueba de Tukey para la variable hojas sanas por estrato

Estrato	Medias	n	E.E.	
A	25.65	200	0.64	A
M	23.25	200	0.64	A
B	22.08	200	0.64	B