

INTERACCION DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO Y QUÍMICO EN EL COMBATE DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor*) EN EL CAFETO. ^{1/}

Edgar Vargas *

ABSTRACT

Interaction of biological and chemical treatment in the control of "ojo de gallo" disease (*Mycena citricolor*) in coffee. By means of field tests it was determined that coffee grindings infested with the fungus *Trichoderma harzianum* were effective in controlling "ojo de gallo" (*Mycena citricolor*) when dusted upon infected coffee leaves at the beginning of the rainy season. The fungicide copper oxichloride 88 P.M. (Cobox) was not effective in the control of the disease, but aided in the biological control when both grindings and fungicide were used together. In those treatments where *Trichoderma* was used, reduction in the number of lesions with "cabecitas" (gemmae), and total number of "cabecitas" per branch, reached percentages of 80.2 and 88.7, respectively. Mean *Trichoderma* lesion colonization percentage was 67.

INTRODUCCION

En Costa Rica, el ojo de gallo causado por el hongo *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc en el café ha sido considerado una enfermedad importante, habiéndose estimado pérdidas de cosecha hasta de un 50% en fincas donde no se aplica ninguna medida de combate. La incidencia es baja al inicio del período lluvioso y alcanza su máximo desarrollo en el período de setiembre a noviembre (3). El control químico con aspersiones de arseniato de plomo ha sido el método más eficaz, por su acción erradicante. Sin embargo, recientemente se ha restringido su uso por la acumulación de residuos tóxicos en granos de café.

El control biológico, desde el punto de vista fitopatológico, ha sido investigado más contra hongos del suelo y en pocos casos contra enfermedades del follaje (2). Así, varias especies de *Trichoderma* han sido utilizadas con éxito para combatir enfermedades del suelo (1,4,5,6,9). Estudios realizados en 1971 por Salas (8) *in vitro*, determinaron que diversos aislamientos de *Trichoderma* fueron capaces de parasitar y provocar lisis de micelio y cabecitas de *M. citricolor* mediante producción de toxinas. Arroyo (1), en Costa Rica en pruebas hechas en el campo, obtuvo un mejor combate de la enfermedad cuando inoculó con micelio que con esporas de *Trichoderma*. Páez (7) determinó *in vitro* que la relación C:N, el pH del medio y la edad del cultivo, afectaron el parasitismo de *Trichoderma* sobre *Mycena*.

En el presente estudio se trabajó con un aislamiento de *Trichoderma harzianum* Rifai seleccionado *in vitro* por su alta capacidad parasítica contra *Mycena citricolor*, con el fin de medir su habilidad para combatir el ojo de gallo en el campo.

1/ Recibido para su publicación el 15 de octubre de 1983.

* Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

El estudio comprendió tres pruebas hechas en tres diferentes años -de 1979 a 1981-, comenzando al inicio de la época húmeda, en una plantación del cultivar 'Typica', con alta infección de ojo de gallo y en la cual no se hace ningún control químico de la enfermedad, situada en San Ramón de Tres Ríos, a 1600 msnm, con una precipitación anual de 2560 mm y una temperatura media de 22,7 C. La distribución de la lluvia fue muy similar para los tres años, con un incremento entre mayo y junio, luego una disminución entre julio y agosto y la mayor precipitación entre setiembre y octubre.

Como fuente de inóculo de *Trichoderma* se utilizó el café molido seco que queda después de preparada la bebida, el cual se mezcló con almidón de yuca al 5% en peso y se esterilizó en platos Petri grandes. Posteriormente se le aplicó agua estéril en cantidad adecuada, de tal forma que no hubiese exceso. Estos platos se inocularon posteriormente con discos de agar-papa-dextrosa con micelio y se incubaron a 26 C durante siete días, al cabo de los cuales, el hongo desarrolló abundantemente. Este material se secó a 35 C y luego se molió en un molinoy se pasó por una zaranda No. 40, utilizándose sólo las partículas finas que pasaron por dicha zaranda. Este material se aplicó con una espolvoreadora manual sobre las hojas en toda la planta, en horas tempranas de la mañana, cuando todavía estaban húmedas, de manera que las partículas finas se adhirieran a la superficie de la hoja mediante el almidón al secarse. Se hicieron tres espolvoreos, uno cada mes, comenzando a principios de junio cuando el tejido necrótico de la lesión estaba húmedo.

Un mes después de cada aplicación se hicieron recuentos del total de cabecitas y lesiones con cabecitas, y total de lesiones, en cuatro bandolas marcadas en el tercio inferior de la planta, en cada punto cardinal. Además, para las tres pruebas se hicieron aislamientos en agar-papa-dextrosa, de cada lesión de una muestra de cinco hojas tomadas al azar de bandolas marcadas para tal fin, en la misma planta.

La primera prueba se hizo con el fin de verificar la efectividad de este tipo inóculo en el campo, y para ello se marcaron dos grupos de ocho plantas con alta infección, separados aproximadamente 100m; en cada planta se marcaron cuatro bandolas. En uno de los grupos se aplicó el inóculo

y el otro se dejó como testigo absoluto, debido a que en pruebas anteriores el caféto molido sin inocular no mostró efecto sobre ninguno de los hongos. Para el análisis de los resultados sólo se hizo una comparación de promedios.

En las pruebas dos y tres se probó la interacción del control biológico y químico, con el fin de obtener información sobre las implicaciones que podría tener el uso de fungicidas comúnmente utilizados en el control de otras enfermedades. Se pusieron cuatro tratamientos: 1— *Trichoderma*. 2— Oxicloruro de cobre (Cobox 88%) a razón de 4,25 g por litro + PEPS 1,7 ml/l y almidón de yuca 20 g/kg. 3— *Trichoderma* + Cobox; para ello se aplicó primero el *Trichoderma* y una semana después se asperjó el fungicida. 4— Testigo. Se utilizó un diseño irrestrictamente al azar con ocho repeticiones, para cada prueba.

RESULTADOS

En la primera prueba no se obtuvo diferencias significativas entre promedios ($P=0,01$), con respecto al testigo, para el porcentaje de lesiones con cabecitas (P.L.C.) en el primer recuento; pero sí para el segundo y tercer recuento, como se observa en las Figs. 1 y 2. Hubo una disminución entre el primero y segundo recuento para el P.L.C. de 10,3 a 3,2 y luego se estabilizó, mientras que en el testigo se incrementó de 12,3 al inicio, hasta 23,3 al final. Para el total de cabecitas (T.C.) se obtuvo diferencias significativas entre tratamientos en la segunda y tercera lectura. La máxima reducción que se obtuvo fue de 4,7 cabecitas en 3,2% de las lesiones.

El análisis de varianza para la segunda prueba indicó que hubo diferencias significativas ($P=0,05$) entre tratamientos y la interacción tratamientos con recuentos, para cada uno de los recuentos, para el P.L.C. y T.C. El agrupamiento de los tratamientos según Duncan ($P=0,01$) (Fig. 3), indicó que hubo diferencias significativas para el P.L.C. entre los tratamientos con respecto al testigo, pero no entre ellos, para la primera lectura; para el segundo recuento las diferencias fueron entre los tratamientos con *Trichoderma* y el testigo, pero no entre ellos y no se obtuvo diferencias entre el tratamiento con fungicida y el testigo. Para la tercera lectura se obtuvo diferencias entre el testigo y los otros tratamientos, y a su vez entre los tratamientos en los cuales intervino *Trichoderma*, con respecto al tratamiento solo con fungicida. En general, el tratamiento más eficiente fue el *Tricho-*

derma + Cobox; para este tratamiento hubo una reducción de 91% con respecto al testigo, en la tercera lectura, o sea de 36,1 a 3,2 lesiones con cabecitas.

De acuerdo a la prueba de Duncan ($P=0,01$) para el T.C. (Fig. 4) sólo se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en los cuales intervino *Trichoderma*, para la tercera lectura. En todos los recuentos hubo diferencias significativas entre el testigo y los demás tratamientos, siendo los mejores aquellos en los cuales intervino *Trichoderma*, principalmente cuando se aplicó con fungicida. Para este tratamiento se obtuvo una reducción con respecto al testigo de 87,8%, en la tercera lectura. En conjunto, se obtuvo 20,7 cabecitas en sólo 3,2% de las lesiones por bandola.

En la tercera prueba, en general el comportamiento de los tratamientos fue muy similar al descrito en la prueba anterior, como se observa en las Figs. 5 y 6, siendo notorio la reducción del total de cabecitas hasta 8,6 en 7,3 lesiones para el tratamiento biológico + fungicida, mientras que en el testigo alcanzó 202,8 cabecitas en 31,6 lesiones.

Los porcentajes de disminución de lesiones con cabecitas fueron bajos para los tratamientos en los cuales intervino *Trichoderma*, en las tres pruebas (Cuadro 1); mientras que en los tratados con

Cobox y el testigo, hubo incremento en la mayoría de los casos, hasta un 82% en el testigo. En cuanto al T.C. la mayor reducción de cabecitas (70,5%) se obtuvo con el tratamiento de *Trichoderma* + Cobox en la segunda prueba y varió de una prueba a otra. En los tratamientos con Cobox y el testigo hubo incrementos notables en el número de cabecitas.

En cuanto al porcentaje de lesiones colonizadas (P.L.C.O.) por *Trichoderma* (Cuadro 2), el hongo logró establecerse bien en la mayoría de las lesiones a partir de la primera aplicación de inóculo, y fue mayor cuando se usó junto con el fungicida. Posteriormente se incrementó al hacer la segunda aplicación y luego se estabilizó, pero varió entre lecturas y entre las diferentes pruebas. Sin embargo, los incrementos de P.L.C.O., entre la primera y tercera lectura, fueron menores para el tratamiento *Trichoderma* + Cobox (19,3% y 22,4%) con relación al tratamiento solo con *Trichoderma* (37,6% y 45,6%), para la primera y segunda prueba, respectivamente. En los tratamientos con Cobox y el testigo, se aisló el hongo de unas pocas lesiones, pero sus características morfológicas y de las colonias, no correspondieron a las del aislamiento inoculado.

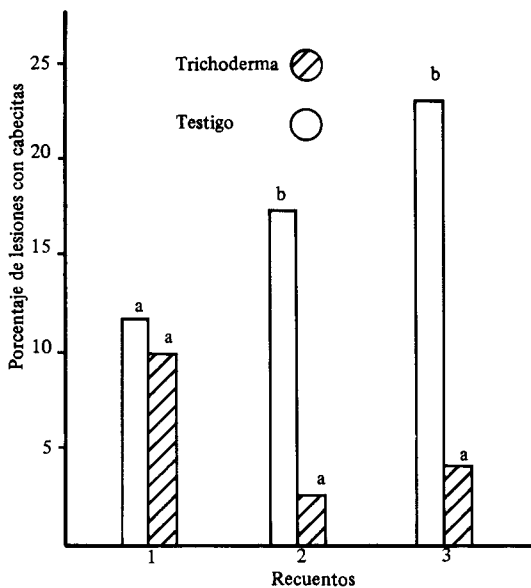


Fig. 1. Efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de lesiones con cabecitas en tres recuentos. Primera prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

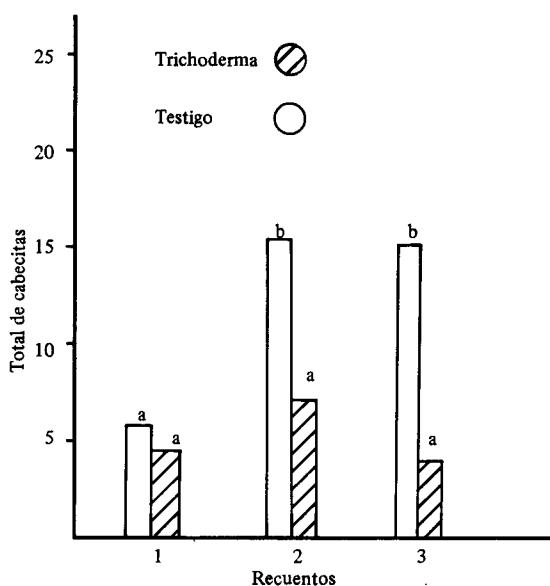


Fig. 2. Efecto de los tratamientos sobre el total de cabecitas en tres recuentos. Primera prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

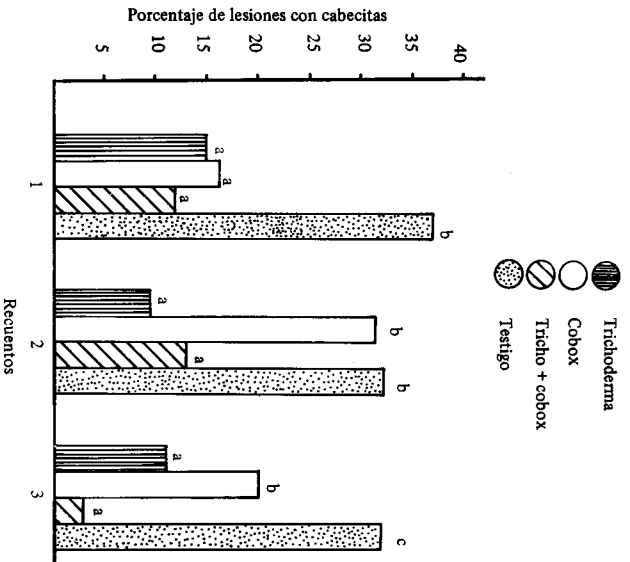


Fig. 3. Efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de lesiones con cabeccitas en tres recuentos. Segunda prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

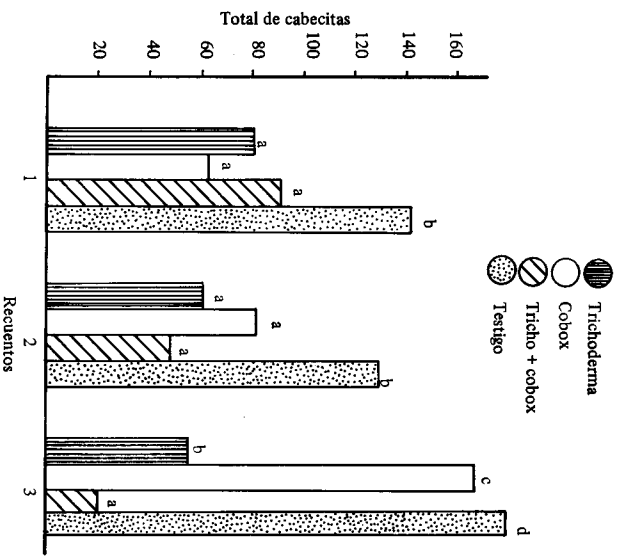


Fig. 4. Efecto de los tratamientos sobre el total de cabeccitas en tres recuentos. Segunda prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

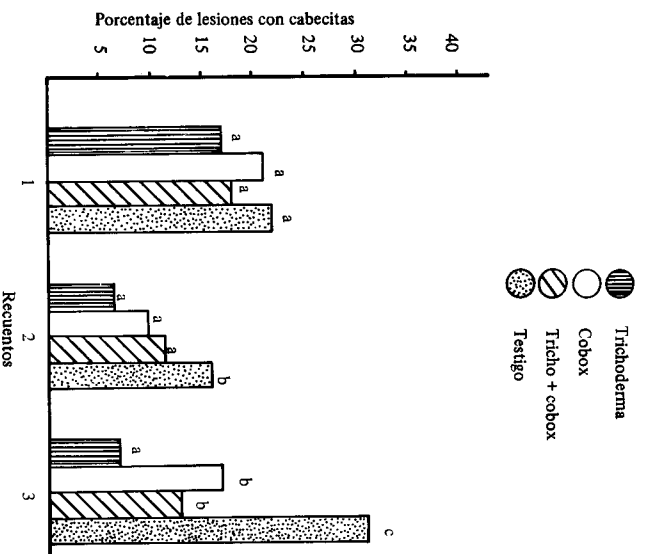


Fig. 5. Efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de lesiones con cabeccitas en tres recuentos. Tercera prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

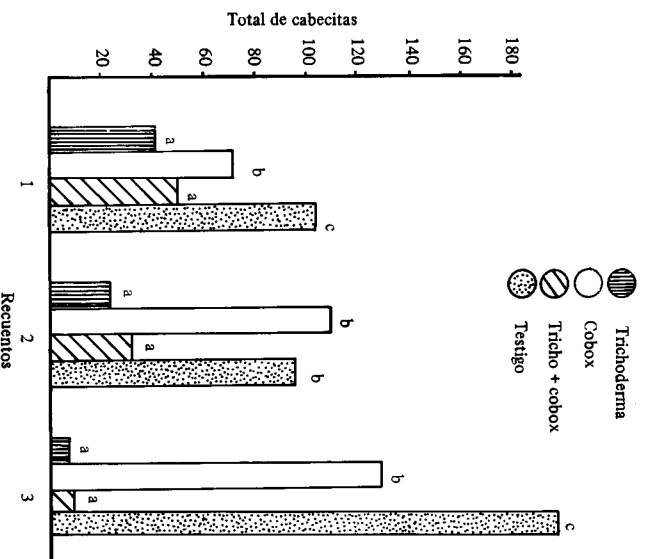


Fig. 6. Efecto de los tratamientos sobre el total de cabeccitas en tres recuentos. Tercera prueba. Las columnas seguidas por una misma letra en cada recuento son estadísticamente iguales.

Cuadro 1. Efecto de los tratamientos biológico y fungicida sobre el porcentaje de lesiones con cabecitas y total de cabecitas.

Tratamientos	Grado de disminución (-) o aumento (+) (*)					
	Primera prueba		Segunda prueba		Tercera prueba	
	Lesiones con cabecitas %	Total** cabecitas	Lesiones con cabecitas %	Total cabecitas	Lesiones con cabecitas %	Total cabecitas
<i>Trichoderma</i>	-5,1	-0,2	-4,0	-26,0	-10,0	-32,0
Cobox			+3,5	+106,0	-9,2	+58,0
<i>Tricho.</i> + Cobox			-9,5	-70,5	-4,5	-39,9
Testigo	+11,3	+9,9	-4,5	+37,0	+8,5	+82,0

(*) Diferencia entre el primer y tercer recuento.

(**) Promedio de 4 bandolas con 6-8 hojas.

Cuadro 2. Porcentaje de lesiones de ojo de gallo colonizadas por *T. harzianum* para cada recuento en las tres pruebas.

Tratamientos	Porcentaje de lesiones colonizadas												Promedio
	Primera prueba				Primera prueba				Primera prueba				
	A	B	C	(C-A)	A	B	C	(C-A)	A	B	C	(C-A)	
<i>Trichoderma</i>	63,0	82,3	84,3	21,3	41,0 ^a	74,2 ^a	78,6 ^a	37,6	29,0 ^b	80,1 ^a	74,6 ^a	45,6	67,5
Cobox	-	-	-	-	7,4 ^b	2,9 ^d	3,6 ^b	-3,8	0,3 ^d	8,1 ^b	7,8 ^b	7,5	5,0
<i>Tricho.</i> + Cobox					54,1 ^a	59,2 ^b	73,4 ^a	19,3	62,3 ^a	71,8 ^a	84,7 ^a	22,4	67,6
Testigo	0,9	2,2	2,8	1,9	3,2 ^b	7,1 ^c	4,4 ^b	1,2	9,1 ^c	2,2 ^c	3,8 ^c	-5,3	3,9

A, B, C: Primera, segunda y tercera lectura respectivamente.

C-A: Porcentaje de incremento de lesiones colonizadas.

Los promedios con igual letra de una misma columna no son significativamente diferentes según la prueba de Duncan (P = 0,05).

DISCUSION

La acción desintegradora o lítica de *Trichoderma* sobre *M. citricolor* se lleva a cabo *in vitro* por toxinas liberadas por el hongo, que pueden actuar a distancia o al estar en contacto con las hifas (8). En condiciones naturales, esta acción se lleva a cabo ya sea porque *Trichoderma* parasita directamente las cabecitas o estado asexual de *M. citricolor*, provocando su desintegración, o porque actúa sobre el micelio interno, al establecerse en el tejido necrótico de la lesión, donde permanece por largos períodos, inclusive de sequía (1,7).

El mejor tratamiento sería aquel que reduzca al máximo tanto el número de cabecitas, como de lesiones con cabecitas. No obstante, se pueden pre-

sentar situaciones de tener pocas cabecitas distribuidas en varias lesiones, por lo que la reducción del P.L.C. es baja en todos los casos, pero sin que implique una reducción importante de inóculo. El micoparásito no logró eliminar todas las cabecitas de cada lesión, ya sea por falta de acción parasítica o porque no logró establecerse en todas las manchas, debido entre otras causas, al lavado de partículas por la lluvia, factores de clima o biológicos. Aparentemente el fungicida no afectó el porcentaje de lesiones colonizadas por *Trichoderma* (P.L.C.L.) ya que los menores incrementos obtenidos entre el primer y tercer recuento con el tratamiento *Trichoderma* + Cobox, se debieron a una mayor colonización inicial, que se estabilizó al final (Cuadro 2).

El fungicida fue apenas parcialmente eficiente en el control de la enfermedad, debido a que permitió incrementos altos de inóculo (Cuadro 1) en los períodos más húmedos, posiblemente por lavado de la lluvia, y porque no es muy eficaz contra *M. citricolor*. Sin embargo, mejoró el control biológico cuando se usaron simultáneamente. Hasta el momento se desconoce el mecanismo de este sinergismo, probablemente por la eliminación de antagonistas de *Trichoderma*.

La partículas de afrecho de café utilizadas promovieron un buen crecimiento micelial de *Trichoderma*, lo que le permitió alcanzar mayor número de cabezitas; generalmente esto lo hace mediante micelio que pasa de una cabezita a otra en forma aérea. Normalmente el control biológico no es espectacular y debe funcionar dentro de un contexto de balance biológico y generalmente los resultados obtenidos son erráticos, por la complejidad de las relaciones que se establecen. Sin embargo, es de notar cierta constancia en los resultados en estas pruebas, realizadas en el mismo lugar, pero en épocas diferentes. Arroyo obtuvo variaciones en tres localidades del país debido al efecto de las diferentes condiciones de los agroecosistemas, pero estas variaciones no se consideraron limitantes (1). Aparentemente las condiciones que promueven el desarrollo de la enfermedad favorecen también al antagonista. El único factor limitante que se ha observado lo constituye la incapacidad de *Trichoderma* de esporular en condiciones naturales, tanto sobre tejido necrótico como en cabezitas; esto limita su diseminación y por lo tanto su capacidad de controlar la enfermedad en forma natural, aunque se ha demostrado que al aplicar esporas de *Trichoderma* al suelo, en la base del arbusto de café, hay colonización de lesiones por medio de esporas (7). No obstante, los conidios son menos eficientes en cuanto a la capacidad de establecimiento del hongo en el tejido necrótico (1,6). Quizás no es necesario introducirlo masivamente todos los años, en vista de esa capacidad que tiene de persistir en tejido necrótico durante la estación seca.

Con base en estos resultados, se podría considerar el control biológico junto con el uso de fungicidas cúpricos, como otra alternativa en el combate de la enfermedad y quizás también integrarlo con la regulación de la sombra, que es otro factor importante que ayuda a disminuir la incidencia de ojo de gallo.

RESUMEN

Con base en la información obtenida de estudios previos realizados en el campo y el laboratorio, se establecieron tres pruebas, cada una en diferente año con el objeto de probar la efectividad de *Trichoderma harzianum* en el control de ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el café. En dos de las pruebas se estudió la interacción del control biológico y químico, utilizando para ello oxiclóruo de cobre (Cobox 88%). Las pruebas se realizaron en una plantación altamente infectada, del cultivar 'Typica'. Se hicieron tres espolvoreos con partículas de afrecho de café infestadas con *T. harzianum* y tres aspersiones de fungicida, una cada mes, comenzando al inicio del período húmedo. Un mes después de cada aplicación se hicieron recuentos del total de cabezitas o gemas (estado asexual) y lesiones con cabezitas por bandola. También se midió el grado de colonización de lesiones por *T. harzianum*.

Se logró mayor reducción del número de lesiones con cabezitas y total de cabezitas con el tratamiento *Trichoderma* + Cobox, sobre todo en los últimos recuentos; este dio 8,6 cabezitas en sólo 7,3 de las lesiones por bandola, mientras que en el testigo alcanzó 202,8 cabezitas en 31,6 lesiones. El fungicida solo fue poco eficiente debido a que permitió incrementos altos de inóculo y enfermedad en el período más húmedo. El *T. harzianum* por sí solo no fue muy eficiente en la eliminación de cabezitas, a pesar de que tuvo 67,5% en promedio de colonización de lesiones. El hongo logró establecerse bien en la mayoría de las lesiones de ojo de gallo, a partir de la primera aplicación de inóculo, especialmente cuando se usó junto con el fungicida.

LITERATURA CITADA

1. ARROYO, T. Control biológico del ojo de gallo en el café causado por *Mycena citricolor* (Bert & Curt) Sacc, en época seca. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad, Facultad de Agronomía, 1975. 66 p.
2. BAKER, K.F. y COOK, R.J. Biological control of plant pathogens. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 1974. 433 p.
3. BONILLA, J. C. Estudio del ojo de gallo causado por el hongo *Mycena citricolor*. In: Simposio Latinoamericano sobre caficultura, 3º. Tegucigalpa, Honduras, 1980. Trabajos. Te-

gucigalpa, PROMECAFE, 1980. pp. 177-188. (IICA—Serie: Ponencias, Resultados y Recomendaciones de Eventos Técnicos No. 263).

4. ELAD, Y. y HADAR, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. *Plant Disease* 65: 675-677. 1981.
5. ELAD, Y., CHET, I. y KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121. 1979.
6. HENIS, Y., GHAFAR, A. y BAKER, R. Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: Effect of successive plantings, PCNB, and *Trichoderma harzianum* in pathogen and disease. *Phytopatology* 68: 900-907. 1978.
7. PAEZ, C.A. Factores que afectan el hiperparasitismo de *Trichoderma* spp, en el control biológico del ojo de gallo en el café causado por *Mycena citricolor*. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad, Facultad de Agronomía, 1976. 77p.
8. SALAS, J.A. Studies on the production of the perfect stage of *Mycena citricolor* (Bert & Curt) Sacc. Ph.D. Thesis. University of California, Berkeley. 1970. 107 p.
9. WELLS, H.D., BELL, D.K. y JAWORSKI, C.A. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfii*. *Phytopathology* 62: 442-447. 1972.