

RESIDUALIDAD DE DIFERENTES DOSIS DE *Bacillus thuringiensis* EN EL SISTEMA CAFE - *Hemileia vastatrix* BERK & BR.

Juan Adrián Rivera M.* Falguni Guharay***
Elkin Bustamante** David Monterroso***

ABSTRACT

Three formulations and five doses of *B. thuringiensis* applied 0, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 days before inoculation with *H. vastatrix*, were evaluated in a greenhouse. The best protection was obtained when *Bt* was applied just before inoculation with *H. vastatrix*. Protection lasted two months, but at a lower level. The dosages of *B. thuringiensis* tested were effective for controlling *H. vastatrix*. Length of the protection period against *H. vastatrix* was not affected by the dosage used. However, the level of protection obtained through time was greater with higher dosages. The three formulations of *B. thuringiensis* affected the length of incubation and dormancy periods compared to the untreated control. Leaves treated with Thuricide showed smaller lesions than those treated with Javelin and Bactec.

INTRODUCCION

La roya del café fue una de las primeras enfermedades estudiadas científicamente como resultado de la destrucción de la industria del café en Ceilán entre 1860 y 1870. Actualmente se le considera la más importante en este cultivo, por las pérdidas que causa (Waller 1982).

El control químico es eficaz para su manejo, pero también tiene limitaciones. Su uso está condicionado por el alto costo de las aplicaciones, el equipo de aplicación y su tecnología, la eficacia de los compuestos químicos y la posibilidad de evaluación de resistencia. Asimismo por los efectos negativos de los plaguicidas, principalmente de fitotoxicidad debido a sobredosisificación o a su uso continuo, y el difícil o imposible acceso del equipo de aspersión en terrenos muy inclinados (Becker 1991), limitan su empleo en el café.

Recientemente se observó que aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* contra *H. vastatrix* proporcionan protección sistémica durante cinco semanas (Roveratti 1989). Lara y Guharay (1991) encontraron bajo condiciones de invernadero, que su aplicación redujo el número de pústulas, el área foliar afectada y la severidad de la enfermedad.

RESUMEN

Se evaluaron en el invernadero tres formulaciones y cinco dosis de *B. thuringiensis* aplicados 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 días antes de inocular con *H. vastatrix*. El mayor nivel de protección se logró al aplicarlo cerca de la inoculación de *H. vastatrix*, y se prolongó dos meses, pero a un nivel inferior. De manera general, las dosis probadas de *B. thuringiensis* fueron efectivas para controlar *H. vastatrix*. La dosis utilizada no afectó la duración de la protección. Sin embargo, el grado de protección obtenido a través del tiempo fue mayor con dosis altas. Las tres formulaciones de *B. thuringiensis* afectaron los periodos de incubación y latencia con respecto al testigo. Las hojas tratadas con Thuricide mostraron lesiones más pequeñas que las tratadas con Javelin y Bactec.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la residualidad de *Bacillus thuringiensis* de acuerdo con la dosis utilizada para el control de *Hemileia vastatrix*.

MATERIALES Y METODOS

Localización. El trabajo se llevó a cabo en el CATIE en Turrialba, Costa Rica. Las coordenadas geográficas del lugar son 9° 53' de latitud norte y 83° de longitud oeste. La temperatura media anual es de 21.6° y la humedad relativa de 87%. La precipitación media anual de 2673 mm.

Cámara de incubación. La cámara de incubación utilizada consistió en un cuarto con divisiones internas (mesas) bajo iluminación propia de cuatro tubos fluorescentes cada una. Para asegurar humedad relativa cercana al 100%, se colocaron sacos de yute sobre el piso de la cámara, saturados con agua antes de cada inoculación. El efecto de secamiento producido por la unidad de aire acondicionado se contrarrestó mediante dos humidificadores colocados sobre los sacos mencionados cubiertos por una cortina de polietileno sujeta en las divisiones de la parte superior de la cámara.

Recibido: 18/12/92. Aprobado: 08/08/93

*MAG. Programa Nacional del Tabaco. Managua, Nicaragua.

**CATIE. Area de Fitoprotección. 7170 Turrialba, Costa Rica.

***Proyecto CATIE/MAG-MIP. A. Postal P-116 Managua, Nicaragua.

Material y Diseño Experimental. Los tratamientos se realizaron con tres formulaciones de *Bacillus thuringiensis*: Thuricide HD(*) 3.2% PM, Javelin GD(**) 6.4% y Bactec(**) 1.6%, aplicados en cuatro dosis de: 0, 10, 20, 30 y 40 mg/ml, a un intervalo de 10 días entre cada aplicación en siete momentos: a los 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 días antes de la inoculación de *H. vastatrix*.

Dada su susceptibilidad a *Hemileia vastatrix*, se usaron plantas de café, variedad Caturra, de aproximadamente ocho meses, procedentes de la finca La Montaña, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Se utilizó suelo esterilizado con bromuro de metilo a 0.5 kg/m³ de suelo. El biocida se dejó actuar durante 48 horas y ya esterilizado el suelo, se aireó durante 72 horas. Las plantas de café se colocaron en macetas plásticas de 6 kg de capacidad. Finalmente se ubicaron sobre las mesas del invernadero, arregladas en tres bloques de acuerdo con el diseño experimental utilizado.

Se utilizaron 315 plantas de café de aproximadamente 8 meses de edad. Cada bloque constaba de 105 maceteras separadas 10 cm entre sí y con una distancia de aproximadamente un metro entre bloques.

Aplicación de los tratamientos. Los tratamientos se iniciaron el 7 de junio y finalizaron el 27 de agosto, 1992. Previo a cada aplicación se lavaron los primeros tres pares superiores de hojas y se identificaron con una marca que correspondía al momento de aplicación. Se hicieron aplicaciones nocturnas para asegurar la penetración de los tratamientos. En cada tratamiento se aplicó un volumen de 0.6 ml sobre el envés de cada hoja, con una aspersora "DeVilbiss 15" y agua como vehículo de aplicación. Las plantas se ubicaron de nuevo sobre las mesas del invernadero.

Manejo del Experimento. Cada tres días se mojó suavemente la base de la planta para evitar la posible eliminación de la bacteria de una planta a otra por salpique. Una semana después del trasplante, se aplicó fósforo a razón de 4 g/planta.

Inoculación. Las plantas fueron trasladadas del invernadero al cuarto de incubación para la inoculación en las primeras horas de la noche, con una aspersora "DeVilbiss 15". Los primeros tres pares superiores de hojas se inocularon, manteniendo una agitación constante durante el proceso. Las plantas inoculadas se introdujeron en la cámara de incubación para evitar la desecación de las hojas. Las plantas ubicadas fuera del radio de acción de los humidificadores, fueron introducidas en bolsas plásticas de manera que conservaran la humedad necesaria para la infección. Las plantas inoculadas se dejaron 48 horas en la oscuridad para estimular la infección y luego se reubicaron en el invernadero.

Evaluación. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial de los momentos de aplicación, productos y dosis. Se evaluaron las variables: período de incubación, período de latencia, y porcentaje de protección expresado por la siguiente fórmula:

$$\% P = (A-B)/A \times 100$$

donde:

% P = Porcentaje de protección
A = Número de pústulas del testigo.

El testigo utilizado (A) es específico para cada producto y sus diferentes dosis dentro de un mismo momento de aplicación.

B = Número de pústulas en los tratamientos.

El período de incubación se considera como el tiempo transcurrido entre el momento de la inoculación y la aparición de los primeros síntomas; la latencia es el tiempo entre la inoculación y el inicio de la esporulación. Ambos períodos se registraron cuando, al menos el 50% de los tratamientos, mostraba los primeros síntomas y lesiones esporuladas.

Las lesiones se contaron 50 días después de la inoculación de la roya en el segundo par superior de hojas. Con éstos datos se calculó el porcentaje de protección y se hizo el análisis estadístico con un diseño de parcelas subdivididas, debido a la correlación que se establece para cada producto cuando se resta y divide su efecto entre un mismo testigo, para obtener el porcentaje de protección dentro de cada momento. La parcela grande fue momento, la subparcela producto y la sub subparcela dosis. Se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias para dosis.

El área de las lesiones por producto se obtuvo a partir de mediciones que se hicieron en fotografías tomadas a las hojas tratadas con los diferentes productos.

RESULTADOS Y DISCUSION

La duración de los períodos de incubación y latencia fue afectada por los productos usados. Los primeros síntomas aparecieron a los 27 y 31 días y la esporulación a los 32 y 37 días para el testigo y los demás productos respectivamente. Epidemiológicamente, la prolongación de los períodos de incubación y latencia combinados con la reducción del número y tamaño de lesiones, retrasan el desarrollo de la enfermedad, debido principalmente a un menor número de ciclos de producción del patógeno y a la baja cantidad de inóculo secundario.

El análisis de varianza para porcentaje de protección mostró diferencias altamente significativas para los factores momento y dosis, pero no para producto (Cuadro 1).

(*) (*B.t. subespecie Kurstaki*, 16 000 u). (**) (*B.t. subespecie Kurstaki*, Serotype 3a:3b, 16 000 u)

CUADRO 1. Análisis de varianza para porcentaje de protección en plantas tratadas con tres formulaciones y cinco dosis de *B. thuringiensis* aplicadas en siete momentos diferentes.

FV	GL	CM	F	P
Bloque	2	3042.00	10.73	0.00 **
Producto	2	550.09	1.94	0.15 NS
Momento	6	8327.34	29.38	0.00 **
Producto x Momento	12	71.81	0.25	0.99 NS
Error (a)	40	283.40		
Dosis	3	3600.42	204.46	0.00 **
Producto x Dosis	6	14.82	0.84	0.54 NS
Momento x Dosis	18	14.40	0.82	0.67 NS
Prod x Momento x Dosis	36	18.08	1.03	0.44 NS
Error (b)	103	17.61		
Total	228		C.V.= 7.23	

** Diferencia significativa al 1%.

CUADRO 2. Efecto de diferentes dosis de *B. thuringiensis* sobre la protección contra *H. vastatrix* en plantas de café.

DOSIS (g/L)	PROTECCION* %
10	48.4 a
20	55.8 b
30	59.5 b
40	66.4 c

* Con las mismas letras no existe diferencias significativas según la prueba de Tukey.

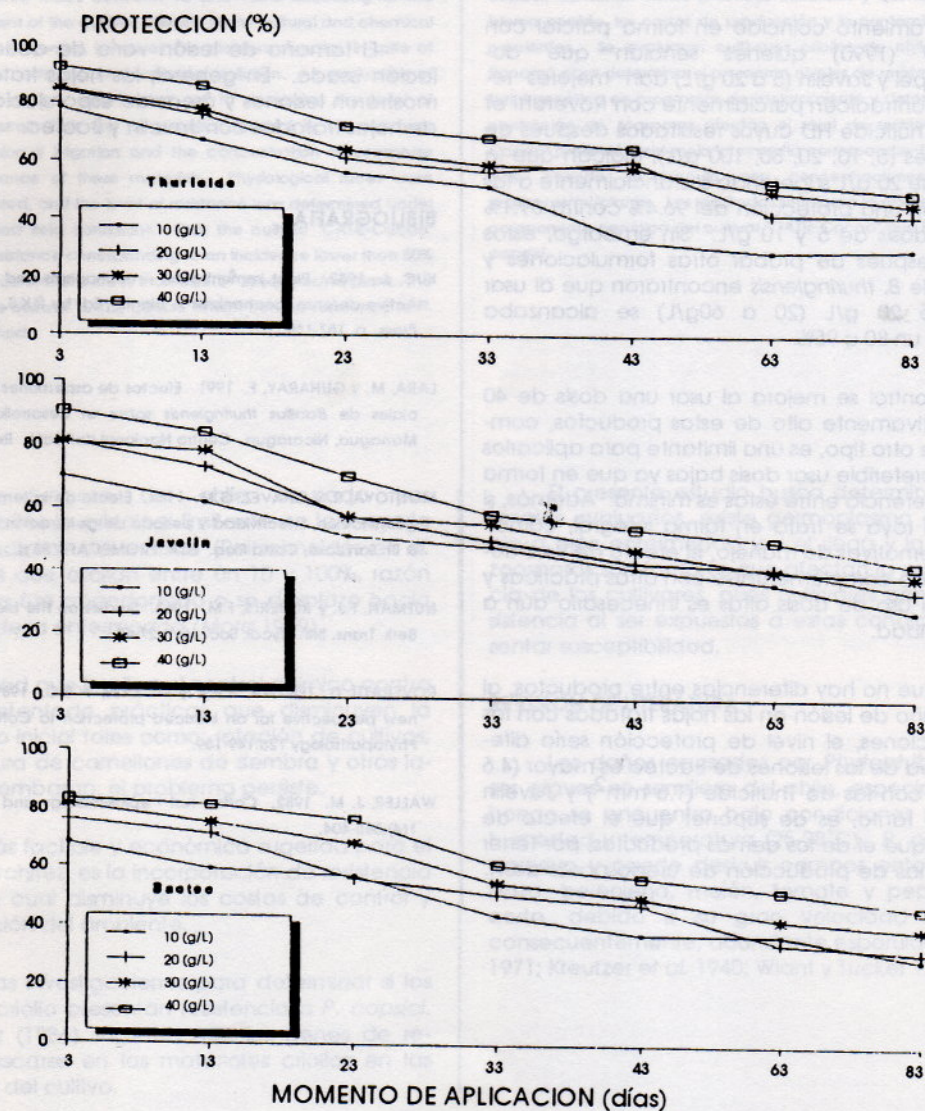


Fig. 1. Protección de plantas de café con tres formulaciones y cuatro dosis de *B. thuringiensis* antes de la inoculación de *H. vastatrix*.

Con respecto al momento de aplicación de los productos, a medida que ésta se aproxima a la fecha de inoculación de *H. vastatrix*, el porcentaje de protección aumenta, alcanzando valores que oscilan entre 68 y 92%. El grado de control con los tres productos fue similar durante el resto del período, el cual se prolongó durante dos meses; pero al final de éste disminuyó a un nivel que osciló entre 27 y 50% (Fig. 1). Esto difiere un poco de lo señalado por Roveratti *et al.* (1989), quienes observaron un efecto por cinco semanas del Thuricide HD. En este caso, al considerar la protección como tal, persistieron por un mayor período, aunque con diferentes grados de protección.

Al analizar el efecto de las dosis, aún cuando estadísticamente existen diferencias entre ellas, biológicamente todas son aceptables (Cuadro 2) con una tendencia creciente del porcentaje de protección a medida que se incrementan.

Este comportamiento coincide en forma parcial con Lara y Guharay (1990) quienes señalan que dosis crecientes de Dipel y Javelin (5 a 20 g/L) dan mejores resultados, pero se contradicen parcialmente con Roveratti *et al.* (1989), para el Thuricide HD cuyos resultados después de probar varios niveles (5, 10, 20, 50, 100 g/L), indican que la mejor dosis fue la de 20 g/L superando sustancialmente a las dosis más bajas con una protección del 96.4% contra 69.1% obtenido con las dosis de 5 y 10 g/L. Sin embargo, estos mismos autores después de probar otras formulaciones y concentraciones de *B. thuringiensis* encontraron que al usar dosis mayores de 20 g/L (20 a 60g/L) se alcanzaba una protección de un 80 a 95%.

Aunque el control se mejora al usar una dosis de 40 g/L, el precio relativamente alto de estos productos, comparados con los de otro tipo, es una limitante para aplicarlos a esos niveles. Es preferible usar dosis bajas ya que en forma proporcional, la diferencia entre éstas es mínima. Además, si el problema de la roya se trata en forma integral, combinando distintas alternativas de manejo, el efecto de usar dosis intermedias puede complementarse con otras prácticas y de esta manera el uso de dosis altas es innecesario aún a pesar de su efectividad.

A pesar de que no hay diferencias entre productos, al considerar el tamaño de lesión en las hojas tratadas con las diferentes formulaciones, el nivel de protección sería diferente ya que el área de las lesiones de Bactec es mayor (4.6 mm²) en relación con las de Thuricide (1.5 mm²) y Javelin (3.7 mm²). Por lo tanto, es de suponer que el efecto de Thuricide es mejor que el de los demás productos, por tener áreas más pequeñas de producción de uredosporas de *H. vastatrix*. □

CONCLUSIONES

El grado de protección con las tres formulaciones es variable; el mayor nivel de protección se presenta en momentos cercanos a la inoculación de *H. vastatrix*. Esta protección se prolonga durante dos meses pero a un nivel menor (27 al 50%).

De manera general, las cuatro dosis de *B. thuringiensis* son efectivas para el control de *H. vastatrix*.

Las dosis utilizadas no afectan la duración del período de protección. Sin embargo, el grado de protección obtenido a través del tiempo es mayor con dosis altas.

Las tres formulaciones acortan los períodos de incubación y latencia con respecto al testigo, retrasando así el desarrollo de *H. vastatrix*.

El tamaño de lesión varía de acuerdo con la formulación usada. En general, las hojas tratadas con Thuricide mostraron lesiones y áreas de esporulación menores que las de hojas tratadas con Javelin y Bactec.

BIBLIOGRAFIA

- KUC, J. 1982. Plant immunization - mechanisms and practical implications. In Active defense mechanisms in plants. Ed. by R.K.S. Wood. New York, Plenum Press. p. 157-158.
- LARA, M. y GUHARAY, F. 1991. Efectos de aspersiones de formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* sobre el desarrollo de la roya del café. Managua, Nicaragua. Centro Nacional del Café. Resumen.
- MONTOYA, R. y CHAVEZ, G.M. 1981. Efecto de la temperatura y de la luz en la germinación, infectividad y período de generación de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. San José, Costa Rica. IICA. PROMECAFE. 33 p.
- NUTMAN, F.J. y ROBERTS, F.M. 1963. Studies on the biology of *Hemileia vastatrix* Berk. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46(1):27-48.
- ROVERATTI, D.; TEXEIRA, A.R.R. y MORAES, W.B.C. 1989. *Bacillus thuringiensis*. A new perspective for an induced protection to Coffee Leaf Rust. Journal of Phytopathology 126:149-159.
- WALLER, J. M. 1982. Coffee rust - epidemiology and control. Crop Protection 1(4):385-404.