

Universidad de Costa Rica
Facultad de Ciencias Agroalimentarias
Escuela de Agronomía

Descripción química y microbiológica de lixiviados y téis de vermicompost y su efecto en la supresión de la enfermedad “Ojo de gallo” (*Mycena citricolor* Berk y Curt) Sacc, en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L.).

Tesis presentada como requisito parcial para optar al grado de Licenciada en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia

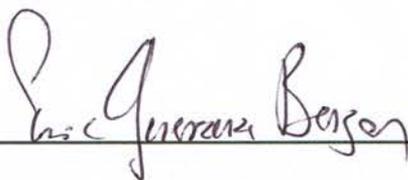
Karen Andrea Zamora Fernández

2012

DESCRIPCIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LIXIVIADOS Y TÉS DE VERMICOMPOST Y SU EFECTO EN LA SUPRESIÓN DE LA ENFERMEDAD "OJO DE GALLO" (*Mycena citricolor* Berk y Curt) Sacc, EN HOJAS DE CAFETO (*Coffea arabica* L.).

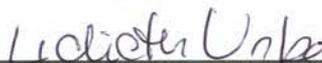
Aprobado por los miembros del Tribunal evaluador:

Director de Escuela



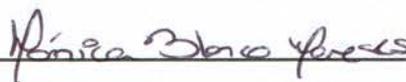
Dr. Erick Guevara Berger

Directora de Tesis



Dra. Lidieth Uribe Lorío

Miembro de Tribunal



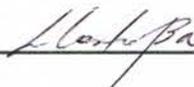
Dra. Mónica Blanco Meneses

Miembro de Tribunal



MSc. Oscar Castro Zúñiga

Miembro de Tribunal



Ing. Leida Castro Barquero

Sustentante



Karen Andrea Zamora Fernández

DEDICATORIA

A Dios,
Mi madre,
Mis hijos Santiago y Catalina,
Mi esposo Alvaro

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permite alcanzar esta meta aún cuando el camino fue largo y difícil. A mi madre, mi esposo Alvaro, mis hijos Santiago y Catalina por ser la motivación para seguir adelante. A mis hermanos Yeimy, Crissia y Marco, y a mi suegra Yamileth por el apoyo brindado a lo largo de esta travesía. A mis amigos que no perdieron la confianza en mí, aún en los momentos en los que yo misma la había perdido.

A la Dra. Lidieth Uribe L. por su colaboración como directora de tesis; a los revisores Dra. Mónica Blanco M., MSc. Oscar Castro Z. y la Ing. Leida Castro B. por todas las sugerencias brindadas para la mejora de este trabajo.

Al MSc. Juan Ramón Navarro por su gran cooperación en el manejo de la estadística de los diferentes ensayos.

Al Ing. Freddy Vargas de la Cooperativa Coopepalmares y al Ing. David Mora de la Estación Experimental Alfredo Volio Mata de la Universidad de Costa Rica, por su labor como facilitadores de las materias primas usadas en este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro de Investigaciones Agronómicas; Rebeca Vargas por su gran asistencia en la preparación de los materiales utilizados, a Tatiana Arguedas por la ayuda en el conteo e identificación de microorganismos, a Sergio por su gran apoyo durante el montaje de los ensayos, y a todos aquellos cuyos nombres no aparecen aquí pero saben que fueron una parte fundamental en el éxito de este trabajo.

A esta gran casa de enseñanza, por abrirme las puertas del conocimiento y darme las herramientas para enfrentar el mundo con ética, visión social y responsabilidad.

INDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|------|
| DEDICATORIA..... | iii |
| AGRADECIMIENTOS..... | iv |
| INDICE DE CONTENIDO..... | v |
| INDICE DE CUADROS..... | viii |
| INDICE DE FIGURAS..... | x |
| RESUMEN..... | xi |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. Objetivo general..... | 4 |
| 1.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| 2. REVISION DE LITERATURA..... | 6 |
| 2.1. Generalidades de la enfermedad..... | 6 |
| 2.1.1. Etiología..... | 6 |
| 2.1.2. Sintomatología..... | 7 |
| 2.1.3. Mecanismo de infección..... | 8 |
| 2.1.4. Epidemiología..... | 9 |
| 2.2. Medidas para el manejo de la enfermedad..... | 10 |
| 2.2.1. Combate cultural y químico..... | 10 |
| 2.2.2. Combate biológico..... | 12 |
| 2.2.3. Uso de abonos orgánicos para el combate de enfermedades..... | 14 |
| 2.2.3.1. El vermicompost..... | 15 |
| 2.2.3.2. El lixiviado de vermicompost..... | 16 |
| 2.2.3.3. El té de compost..... | 16 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 21 |
| 3.1. Localización..... | 21 |
| 3.2. Material experimental..... | 21 |
| 3.2.1. Lixiviados y tés de vermicompost..... | 21 |
| 3.2.2. Cepa de <i>Mycena citricolor</i> | 21 |

| | |
|--|----|
| 3.2.3. Plantas de cafeto..... | 22 |
| 3.3. Efecto de la aplicación de té de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 23 |
| 3.3.1. Preparación de los té de vermicompost..... | 23 |
| 3.3.2. Análisis de la calidad química y microbiológica de los té de vermicompost..... | 24 |
| 3.3.3. Evaluación del tiempo de aplicación del té de vermicompost..... | 25 |
| 3.3.4. Efecto de los té de vermicompost a base de estiércoles en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 26 |
| 3.3.5. Efecto de los té de vermicompost a base de broza de café en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 30 |
| 3.4. Efecto de la aplicación de lixiviados de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 32 |
| 3.4.1. Análisis de la calidad química y microbiológica de los lixiviados de vermicompost..... | 32 |
| 3.4.2. Efecto de los lixiviados de vermicompost en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 32 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 35 |
| 4.1. Efecto de la aplicación de té de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 35 |
| 4.1.1. Evaluación del tiempo de aplicación del té de vermicompost..... | 35 |
| 4.1.2. Características generales de los vermicompost utilizadas para la elaboración de los té.. | 38 |
| 4.1.2.1. Características químicas..... | 38 |
| 4.1.2.2. Determinación de la estabilidad y el porcentaje de humedad de los vermicompost..... | 41 |
| 4.1.2.3. Características microbiológicas..... | 42 |
| 4.1.3. Características generales de los té de vermicompost..... | 44 |
| 4.1.3.1. Características químicas..... | 44 |
| 4.1.3.2. Características microbiológicas..... | 48 |
| 4.1.4. Efecto de la aplicación de los té de vermicompost a base de estiércoles sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 50 |

| | |
|--|----|
| 4.1.4.1. Efecto de la aplicación de los téis de vermicompost de estiércoles sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto..... | 50 |
| 4.1.4.2. Efecto de los téis de vermicompost de estiércoles en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 54 |
| 4.1.5. Efecto de la aplicación de los téis de vermicompost a base de broza de café sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 58 |
| 4.1.5.1. Efecto de la aplicación de los téis de vermicompost de broza de café sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto..... | 58 |
| 4.1.5.2. Efecto de los téis de vermicompost de broza de café en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 61 |
| 4.2. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con <i>M. citricolor</i> | 63 |
| 4.2.1. Características generales de los lixiviados de vermicompost..... | 63 |
| 4.2.1.1. Características químicas..... | 63 |
| 4.2.1.2. Características microbiológicas..... | 65 |
| 4.2.2. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost en las hojas de cafeto..... | 66 |
| 4.2.2.1. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto..... | 66 |
| 4.2.2.2. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto..... | 68 |
| 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 71 |
| 6. LITERATURA CITADA..... | 73 |
| 7. APENDICE..... | 85 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en el té de vermicompost de excretas de bovino..... | 35 |
| Cuadro 2. Efecto de la adición del té de vermicompost bovino sobre la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de cafeto..... | 36 |
| Cuadro 3. Efecto de la adición del té de vermicompost bovino sobre la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de cafeto a las 24 y 48 horas después de la aplicación..... | 37 |
| Cuadro 4. Características químicas de los vermicompost preparados a partir de excretas animales y desechos de broza de café..... | 39 |
| Cuadro 5. Estabilidad y porcentaje de humedad de los vermicompost preparados a partir de excretas animales y broza de café..... | 42 |
| Cuadro 6. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los vermicompost hechos a partir de excretas animales y broza de café..... | 43 |
| Cuadro 7. Composición química de los té de vermicompost elaborados con los abonos orgánicos sólidos provenientes de excretas de equino, bovino y caprino..... | 45 |
| Cuadro 8. Composición química de los té de vermicompost elaborados con los abonos orgánicos sólidos provenientes de broza de café..... | 47 |
| Cuadro 9. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los té de vermicompost preparados a partir de excretas animales..... | 48 |
| Cuadro 10. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los té de vermicompost preparados a partir de broza de café..... | 49 |
| Cuadro 11. Efecto de la adición de los té de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias y hongos en hojas de cafeto..... | 51 |
| Cuadro 12. Población de actinomicetes en hojas de cafeto tratadas con té de vermicompost de excretas animales..... | 52 |
| Cuadro 13. Población de levaduras en hojas de cafeto tratadas con té de vermicompost de excretas animales..... | 53 |

| | |
|---|----|
| Cuadro 14. Población de lactobacilos en hojas de cafeto tratadas con tés de vermicompost de excretas animales al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 19)..... | 53 |
| Cuadro 15. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de estiércoles sobre la incidencia y severidad del ojo de gallo del cafeto..... | 54 |
| Cuadro 16. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de estiércoles sobre hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo..... | 56 |
| Cuadro 17. Efecto de la adición de los tés de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de cafeto..... | 59 |
| Cuadro 18. Población de actinomicetes en hojas de cafeto tratadas con tés de vermicompost de broza de café al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 18)..... | 60 |
| Cuadro 19. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de broza de café en la incidencia y la severidad de la enfermedad del ojo de gallo en hojas de cafeto..... | 61 |
| Cuadro 20. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de broza de café sobre hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo..... | 62 |
| Cuadro 21. Composición química de los lixiviados diluidos al 10% obtenidos de la preparación de vermicompost de broza de café, broza de café con desechos de camarón y excretas de bovino..... | 64 |
| Cuadro 22. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presente en los lixiviados de vermicompost..... | 65 |
| Cuadro 23. Efecto de la adición de los lixiviados de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias y levaduras en hojas de cafeto..... | 66 |
| Cuadro 24. Población de actinomicetes y lactobacilos en hojas de cafeto tratadas con lixiviados de vermicompost..... | 67 |
| Cuadro 25. Población de actinomicetes, hongos y lactobacilos en hojas de cafeto tratadas con lixiviados de vermicompost al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 20)..... | 67 |
| Cuadro 26. Efecto de la inoculación de las hojas de cafeto con lixiviados de vermicompost diluidos al 10% sobre el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo..... | 68 |
| Cuadro 27. Efecto de la aplicación de lixiviados de vermicompost diluidos al 10% sobre las hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo..... | 70 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Crecimiento del micelio y de los cuerpos fructíferos (cabecitas o gemas) del hongo <i>M. citricolor</i> en medio de cultivo <i>in vitro</i> | 22 |
| Figura 2. Preparación de los té de vermicompost aeróbicos por 24 horas..... | 24 |
| Figura 3. Lesiones de ojo de gallo en hojas de cafeto a los 19 días de ser tratadas con: (A)Té de vermicompost equino, (B) Té de vermicompost bovino, (C) Té de vermicompost caprino, (D) Té de vermicompost equino con quitina, (E) Té de vermicompost bovino con quitina, (F) Té de vermicompost caprino con quitina, (G) Agua estéril Testigo..... | 58 |
| Figura 4. Lesiones de ojo de gallo en hojas de cafeto a los 18 días de ser tratadas con: (A) Té de vermicompost de broza de café, (B) Té de vermicompost de broza de café con quitina, (C) Té de vermicompost de broza de café con camarón, (D) Té de vermicompost de broza de café con camarón y quitina, (E) Agua estéril Testigo..... | 63 |
| Figura 5. Lesiones de ojo de gallo en hojas de cafeto a los 20 días de ser tratadas con: (a) Lixiviado de vermicompost de broza de café, (b) Lixiviado de vermicompost de broza de café y desechos de camarón, (c) Lixiviado de vermicompost bovino, (d) Agua estéril Testigo..... | 70 |

Zamora Fernández, Karen Andrea

Descripción química y microbiológica de lixiviados y tés de vermicompost y su efecto en la supresión de la enfermedad “Ojo de gallo” (*Mycena citricolor* Berk y Curt) Sacc, en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L.).

Tesis Licenciatura en Ingeniería Agronómica. San José, C.R.

K.A. Zamora F., 2012

90pp.

RESUMEN

El “ojo de gallo” es una de las principales enfermedades que afecta el cultivo del cafeto en Costa Rica. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de tés y lixiviados de vermicompost obtenidos a partir de diferentes materiales de origen animal y vegetal, sobre la supresión del hongo *Mycena citricolor* (Berk y Curt) Sacc en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L) en condiciones de laboratorio. El trabajo se efectuó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola (CIA) de la Universidad de Costa Rica.

Se prepararon “tés de compost” y se obtuvieron lixiviados a partir de vermicompost de estiércol de equino, bovino y caprino; y de broza de café, con y sin desechos de camarón.

Se realizaron 4 ensayos, en los que se evaluó el efecto de tés de compost de origen animal, el efecto de tés de compost de origen vegetal (con y sin la adición de quitina) y el efecto de lixiviados de vermicompost de broza de café con y sin desechos de camarón y estiércol bovino. Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar con cinco repeticiones. La unidad experimental estuvo compuesta por una cámara húmeda con cinco hojas de cafeto, a las cuales se les asperjó 10 ml de los diferentes abonos líquidos y agua en el caso del tratamiento control. Estos se aplicaron 24 horas antes de la inoculación del hongo *M. citricolor* en las hojas. Se hicieron dos o tres puntos de inoculación por hoja con cinco cabecitas en cada uno.

Se evaluó la presencia de *E. coli* y las poblaciones de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos en las hojas inoculadas con los tratamientos al inicio y al final del ensayo. Se evaluó el número de hojas con lesiones, lesiones totales, lesiones esporuladas y cabecitas durante tres semanas. Se determinó el porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área foliar dañada con el programa Image J.

Los resultados mostraron que los téis y lixiviados de vermicompost contienen altas poblaciones de microorganismos que pueden ser inoculados a las hojas de cafeto. La aplicación del té de origen caprino favoreció al hongo *M. citricolor* ya que presentó un porcentaje del área foliar dañada de un 16,5% superior al testigo y un número de 14 lesiones esporuladas mas que el testigo. Los téis de broza de café aumentaron el desarrollo de la enfermedad con un porcentaje de hojas enfermas y del área foliar dañada superior a la presente en el testigo en un 28,0 % y 11.3 % respectivamente. Las hojas de cafeto tratadas con los lixiviados de broza de café con y sin camarón presentaron la mitad de lesiones esporuladas y de cabecitas que el testigo quien tuvo valores de 16,0 y 16,4 respectivamente. La bacteria *E. coli* estuvo presente en todos los téis pero no en los lixiviados. Los resultados indican que existe diferencia en el origen del abono orgánico y que los lixiviados de broza de café tienen potencial para el control de la enfermedad.

Palabras claves: Ojo de gallo; *Mycena citricolor*; cafeto; *Coffea arabica*; téis de compost; lixiviados de vermicompost; abonos orgánicos; supresión de enfermedad.

Directora de investigación: Lidieth Uribe Lorío, Dra.

Unidad académica: Escuela de Agronomía.

1. INTRODUCCION

El cultivo del cafeto (*Coffea arabica*) ha sido durante muchos años una fuente importante de divisas para el país, debido a que Costa Rica goza de gran prestigio internacional por la alta calidad del grano. La caficultura representa la principal actividad económica para más de 50 000 familias, de las cuales el 90% corresponde a pequeños y medianos productores (Mora 2008, Villegas 2011).

La producción nacional de café correspondiente a la cosecha 2010-2011 fue de 2 103 287 fanegas¹ siendo un 8,47 % mayor a la cosecha del 2009, lo cual generó un ingreso de US\$257,45 millones por las exportaciones de café en el 2010 y representó el 2,72% del total de ingresos por exportaciones del país y el 11,77% del total de divisas generadas por el sector agropecuario (ICAFFE 2011b).

La enfermedad causada por *Mycena citricolor* (Berk. y Curt) Sacc. (= *Omphalia flavida*) conocida como “ojo de gallo”, “gotera”, “viruela” o “mancha suramericana de la hoja”; representa uno de los problemas que más afecta la producción de cafeto en Costa Rica y Centroamérica (Monterroso 1998, Robert 1999, Vargas 2004). Así en la cosecha 2010-2011 se presentaron pérdidas de 75 622 fanegas de grano en fruta, es decir de US\$9,26 millones por causa de la incidencia del ojo de gallo en diversas zonas cafetaleras del país (ICAFFE 2011b).

El principal daño que causa el “ojo de gallo” en las plantaciones de cafeto es la defoliación. A pesar de que la planta no muere, disminuye notablemente el área fotosintética y causa un debilitamiento que favorece el desarrollo de otras enfermedades (Vargas *et al.* 1990). Además, el cafeto utiliza sus reservas en la producción de nuevo follaje y el fruto también se puede ver afectado (Carvajal 1939, González 2003).

¹ Una fanega es una medida de capacidad que corresponde a un volumen de 400 L y a un peso aproximado de 253 Kg.

En forma general, esta enfermedad puede afectar seriamente cafetos que se encuentran en áreas frías, húmedas, y muy sombreados; en zonas con altitudes mayores de 650 msnm con prevalencia de humedad relativa alta y temperaturas entre 19°C y 23°C. No obstante, en Costa Rica puede presentarse en zonas como San Carlos (600 msnm) que presenta lluvias abundantes en los meses fríos del año (de noviembre a enero), lo cual favorece el desarrollo de la enfermedad a pesar de estar ubicadas en zonas de menor altitud (Echeverri 1997).

Según Chaves (1996), dependiendo de las condiciones de humedad el hongo puede alcanzar niveles de incidencia superiores a 40% y provocar una caída en el rendimiento de un 20-30% en el mismo año de la epidemia.

Sin embargo, datos del ICAFE (2011a) mencionan que en plantaciones en las cuales no se maneja la enfermedad la defoliación puede llegar a ser de un 95% entre los meses de setiembre y octubre; y la reducción en la cosecha de un 80%.

Por su parte Monterroso (1998) y Mora (1999), mencionan que factores como el mal manejo de la fertilización y las podas, el uso inoportuno de fungicidas, densidades de siembra mayores a 5000 plantas/hectárea, la siembra de cultivares muy susceptibles como el Catimore en zonas productoras que superan los 1100 msnm y la presencia de importantes niveles de inóculo residual en el campo, son los principales causantes de las altas incidencias de la enfermedad al inicio de la época lluviosa.

En Costa Rica en los años ochenta se realizaron varias pruebas para tratar de combatir el ojo de gallo del café utilizando el hongo *Trichoderma* spp y bacterias antagonistas, los resultados en condiciones de laboratorio mostraron un efecto antagónico a *M. citricolor*, pero en el campo el combate de la enfermedad fue limitado por la poca permanencia de los antagonistas sobre el tejido durante la época de mayor precipitación y a la presencia de ecotipos de *Trichoderma* spp que lograron establecerse solo en ciertos agroecosistemas, razones por las cuales se discontinuó su uso (Curling 1986, Mora 1987, Calvo 1988).

Si bien el uso del cyproconazole, tebuconazole y validamicina A, constituyen actualmente la mejor alternativa química para el manejo de la enfermedad (ICAFE 2011a), el alto costo de los productos sintéticos, su capacidad limitada de combatir la enfermedad solo cuando la incidencia es baja (4-8%), la contaminación que generan y el deseo de los consumidores de obtener productos de calidad cultivados en armonía con el ambiente, son los principales factores que han motivado a los caficultores a la búsqueda de nuevas alternativas de combate biológico de la enfermedad (Mora 2008).

En este sentido, a nivel internacional se ha venido estudiando el uso de abonos orgánicos para aumentar la fertilidad del suelo y combatir patógenos radicales y foliares. Recientemente, se ha investigado el uso de los “tés de compost” y lixiviados de vermicompost, como fuentes de nutrientes a la planta, de microorganismos benéficos capaces de suprimir patógenos y como inductores de los mecanismos de resistencia de la planta (Hoitink *et al.* 1997, Al-Mughrabi *et al.* 2008, Aráuz 2011).

Se han encontrado resultados positivos del uso de tés de compost aireados para el combate de enfermedades como *Botrytis cinerea* (moho gris) en el cultivo de frijol (Palmer *et al.* 2010), el mal del talluelo (*Pythium ultimum*) en plantaciones de pepino (Scheuerell 2003), la roña de la manzana (*Venturia inaequalis*) en plantas de manzanas, entre otros (Al-Mughrabi *et al.* 2008).

Los tés de vermicompost pueden ser enriquecidos con materiales como algas, proteínas de pescado, ácido húmico, polvo de roca, quitina coloidal o sustancias ricas en ésta como los desechos de camarón; estos aditivos se utilizan con el fin de aumentar los contenidos de nutrientes o de microorganismos benéficos (Durham 2006).

Así, la adición de quitina a los tés de compost podría favorecer el incremento de las poblaciones de los microorganismos quitinolíticos, los cuales tienen un alto potencial como antagonistas naturales de hongos causantes de enfermedades, pues sus paredes celulares contienen quitina (Scheuerell 2003).

Los lixiviados de vermicompost se han usado principalmente como fertilizante líquido orgánico en cultivos como el tomate en invernadero (Preciado *et al.* 2011) y el maíz para la producción de forraje (García *et al.* 2008, Fortis *et al.* 2009). A la fecha no hay información sobre el uso de lixiviados o tés de vermicompost para el combate del ojo de gallo del cafeto.

1.1. Objetivo General:

Evaluar el efecto de tés y lixiviados de vermicompost obtenidos a partir de diferentes materiales de origen animal y vegetal, sobre la supresión del hongo *M. citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L) en condiciones de laboratorio.

1.2. Objetivos Específicos:

1.2.1. Determinar el contenido de macro y microelementos presentes en los vermicompost, tés y lixiviados de vermicompost.

1.2.2. Determinar algunos grupos funcionales de microorganismos presentes en los vermicompost, tés, lixiviados de vermicompost y en la superficie de las hojas de cafeto (*Coffea arabica* L).

1.2.3. Evaluar el efecto de los tés de vermicompost obtenidos a partir de diferentes estiércoles y su enriquecimiento con quitina, sobre la supresión del hongo *M. citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L).

1.2.4. Evaluar el efecto de los tés de vermicompost obtenidos a partir de broza de café y su enriquecimiento con dos fuentes de quitina sobre la supresión del hongo *M. citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L).

1.2.5. Evaluar el efecto de los lixiviados de vermicompost obtenidos a partir de broza de café y un estiércol de bovino sobre la supresión del hongo *M. citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc en hojas de cafeto (*Coffea arabica* L).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades de la enfermedad

En Costa Rica, la enfermedad conocida como ojo de gallo fue descrita por primera vez por Cooke en 1880 (Borbón 1998), y los primeros informes sobre los daños que causa y recomendaciones sobre el manejo de la enfermedad datan de 1911 cuando se publicaron en el BOLETIN DE FOMENTO, del Órgano del Ministerio de Fomento (Robert 1999); no obstante fue ampliamente descrita hasta 1939 por Carvajal (Carvajal 1939).

2.1.1. Etiología

La enfermedad del “ojo de gallo”, “gotera”, “mancha suramericana de la hoja”; o “American leaf spot of coffee” (nombre que recibe en inglés); es causada por el hongo *Mycena citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc., el cual pertenece a la clase Basidiomycete, subclase Homobasidiomycete, orden Agaricales y a la familia Agaricaceae (Wang y Avelino 1999). Por su parte, Finch y Finch (1987) indican que *M. citricolor* corresponde a la forma perfecta del hongo *Stylbum flavidum* y Vargas *et al.* (1990) menciona que este hongo ha recibido otros nombres tales como *Stilbella flavida*, *Agaricus citricolor* y *Omphalia flavida*.

El hongo produce dos tipos de cuerpos fructíferos: las gemas o cabecitas (estado asexual o anamórfico) y el basidiocarpo (estado sexual o teleomórfico). El micelio del hongo en medio de cultivo es de color blanco, sus hifas son septadas, binucleadas y forman fíbulas, este se desarrolla a una temperatura entre 5º y 30º C; siendo la temperatura óptima 24ºC. Buller y Vanterpool (1926) descubrieron que el micelio y las cabecitas de *M. citricolor* producen bioluminiscencia; en el caso del micelio la emisión de luz ocurre cuando está en crecimiento activo.

La fase asexual está constituida por un grupo de filamentos de color amarillo, delgados, paralelos entre sí y reunidos en un tallo o pedicelo que termina en una cabeza globosa. Los filamentos tienen una altura de 1-3 mm; mientras que el diámetro de la cabeza es de 0,36 mm, la cual se

desprende fácilmente cuando madura. La formación de las cabecitas depende de la presencia de luz, bajo condiciones de oscuridad no hay desarrollo de las mismas. La consistencia de la cabeza es sólida y el espacio entre las células está recubierto por un mucílago transparente que permite al hongo adherirse a la hoja (Carvajal 1939, Vargas *et al.* 1990, Ramírez 1994, Borbón 1999, Wang y Avelino 1999, Vargas 2004).

El basidiocarpo es el cuerpo fructífero de la fase sexual, es una estructura de color amarillo intenso, en forma de seta o sombrilla que mide 1-2 cm de alto y posee estrías radiales de 2,0-4,5mm de diámetro, el basidio produce y libera una gran cantidad de basidiósporas las cuales son ovoides, hialinas y de 14,0-17,5 μ de tamaño. Los basidiocarpos son poco abundantes en condiciones de campo, ya que estos se forman en hojas caídas y muy ocultas protegidas de los rayos solares, en zonas con alta humedad relativa sin corrientes de aire y a una temperatura menor a los 21°C (Carvajal 1939, Vargas *et al.* 1990, Ramírez 1994, Wang y Avelino 1999, González 2003, Vargas 2004).

2.1.2. Sintomatología

Esta enfermedad se caracteriza por la formación de pequeñas manchas circulares u ovaladas, ligeramente hundidas con un diámetro de 6-10 mm sobre las hojas. Las lesiones se inician como puntos café oscuro de borde indefinido, pero al alcanzar su tamaño final presentan un borde bien marcado, con poca o ninguna clorosis alrededor y pueden ser de color café claro, grisáceo o café rojizo; con apariencia papelosa y seca que inclusive se puede romper (López 1994). El número de lesiones por hoja puede variar entre 10 y 50, aunque es posible que se presenten hasta 100 lesiones. Cuando las lesiones se forman a lo largo de una vena principal, toman una forma alargada en el sentido de la vena y provocan epinastia en las hojas jóvenes. Sobre las lesiones se desarrollan las cabecitas, que pueden encontrarse tanto en el haz como en el envés de las hojas y son las causantes de la diseminación del hongo en el campo y las que permiten diferenciar esta enfermedad de otras que producen manchas similares (Carvajal 1939, González 2003).

La enfermedad también puede dañar el tallo de las bandolas cuando éste es verde y tierno, la lesión se desarrolla a lo largo del tallo y en algunas ocasiones invade todo su grosor, provocando la muerte de la parte terminal. En la época seca la lesión cicatriza, pero el tallo tiende a quebrarse con suma facilidad. Los frutos pueden ser invadidos en cualquier fase de su desarrollo, cuando el hongo invade al grano que todavía no ha completado su desarrollo, el micelio del hongo penetra fácilmente y lo daña completamente, sin embargo, cuando infecta frutos próximos a madurar el micelio del hongo puede llegar a afectar únicamente la pulpa con lesiones que se observan de color oscuro, reseca, ovaladas y pueden abarcar casi la totalidad del grano provocando su caída (Méndez 1937, Carvajal 1939, Wellman 1950, Wang 1988, Vargas *et al.* 1990, López 1994, Ramírez 1994, Monterroso 1998, Vargas 2004).

2.1.3. Mecanismo de infección

Se considera que el mecanismo patogénico del hongo es por medio de la producción de ácido oxálico antes y después de la penetración. Este metabolito actúa como una toxina no específica que al entrar en contacto con las hojas del hospedero provoca una disminución del pH a nivel celular lo cual activa enzimas como la oxidasa del ácido acético (AIA oxidasa), celulasas y poligalacturonasas que contribuyen a la desintegración de los tejidos. El ácido oxálico captura el calcio estructural de los pectatos de las paredes celulares debilitándolos lo cual facilita la entrada de la hifa de *M. citricolor* (Rao y Tewari 1988, Tewari 1990).

También hay secuestro del magnesio por el mismo ácido oxálico, por lo que hay formación de cristales de oxalato de magnesio. Se ha determinado la presencia de cristales de oxalato de calcio, en plantas con síntomas inducidos por la aplicación de soluciones de ácido oxálico sobre las heridas en hojas de cafeto, lo que sugiere que el ácido oxálico y el secuestro del calcio son el principal mecanismo de patogénesis del hongo (Rao y Tewari 1988, Tewari 1990).

La diseminación de la enfermedad se da por medio de las cabecitas, las cuales son la principal fuente de inóculo en el campo, ya que éstas una vez maduras y por la acción de las gotas de lluvia

se desprenden y son transportadas de una hoja a las otras adyacentes por salpique. Las cabecitas al caer (generalmente sobre el haz de la hoja) requieren de un tiempo mínimo de 15 minutos para adherirse por medio de una sustancia mucilaginosa, además necesitan de alta humedad y luz difusa por un periodo de 18 a 25 horas para la incubación del hongo. El periodo de infección tarda aproximadamente 8 días (Monterroso 1998); en el cual las gemas germinan y producen una gran cantidad de hifas de infección que penetran y atacan el tejido interno (Wang y Avelino 1999). Las temperaturas mayores de 23°C limitan el desarrollo del hongo (Echeverri 1997); la sequía, la cantidad de horas diarias de luz (mayores de 6 horas/día) y la aireación entre plantas son factores que desfavorecen la reproducción del hongo (Chaves 1996).

Por otro lado, la presencia del estado sexual bajo condiciones naturales ha sido informada pocas veces y la función de los basidiocarpos no se ha logrado explicar (Salas y Hancock 1972), se cree que pueden servir como reserva del inóculo entre ciclos productivos del cultivo del cafeto (Monterroso 1998).

Adicionalmente, Vargas *et al.* (1999) observaron en hojas de cafeto inoculadas con cabecitas de *M. citricolor*, micelio del hongo en las paredes y en el interior de la célula sin aparente herida en la epidermis, fusionándose con el tejido foliar y saliendo por el envés de las hojas a través de los estomas. Los autores destacan la alta capacidad del hongo para provocar infección.

2.1.4. Epidemiología

El desarrollo de esta enfermedad es más frecuente en zonas con temperaturas entre los 18° y 24°C, con periodos largos de alta nubosidad y precipitaciones anuales de 2000 a 4000 mm. Así mismo, otros factores como el mal manejo de la sombra, las malezas, la escasa ventilación, el exceso de hijos en las plantas y una densidad de siembra superior a 5000 plantas/ ha favorecen la diseminación de las cabecitas del hongo (Echeverri 1997, Monterroso 1998).

Trabajos realizados por Bonilla (1980), Umaña *et al.* (1990) y Avelino *et al.* (1993), en el Salvador, Costa Rica y Guatemala respectivamente, determinaron que el desarrollo de la enfermedad depende de la fluctuación estacional de la lluvia y la humedad relativa; siendo de mayor importancia la distribución de las lluvias en el tiempo, que la cantidad total de agua caída en determinado periodo. Bonilla (1980) informó que los mayores índices de la enfermedad se presentaron en los meses de julio a octubre, con un máximo en setiembre y que, para el desarrollo de la enfermedad, la humedad relativa alta (superior al 80%) fue de mayor importancia que la temperatura baja (18°-24°C). Además, Umaña *et al.* (1990), demostraron que en el caso de *M. citricolor* es importante el nivel de inóculo inicial ya que mientras más alto sea más rápido alcanza el nivel máximo de infección.

En general, los meses de mayor incidencia del ojo de gallo del cafeto coinciden con los meses de mayor precipitación que puede ir desde setiembre hasta noviembre; empezando a decaer a partir de diciembre en los meses más secos del año (Borbón *et al.* 1997, Wang y Avelino 1999). Según Vargas (2004), hay una inhibición completa de la dispersión de la enfermedad al llegar el tiempo seco. Sin embargo, Monterroso (1998) menciona que en periodos secos el hongo puede permanecer activo en las hojas más bajas del cafeto, en las cuales existe reserva de humedad, aunque también puede permanecer en otras plantas susceptibles entre las que se encuentran varios tipos de monocotiledóneas, dicotiledóneas y teridófitas (algunas de las cuales son malezas comunes), o en árboles de sombra en cafetales. Wellman (1950) menciona que la dispersión de la enfermedad también puede ser causada por vientos secos, insectos vellosos, por el hombre y por las malezas.

2.2. Medidas para el manejo de la enfermedad.

2.2.1. Combate cultural y químico.

A partir de 1954 se empezaron a usar en el país fungicidas a base de cobre con acción protectora, luego se utilizó el arseniato de plomo con muy buenos resultados para el combate de la

enfermedad, pero debido a la alta toxicidad del producto se suspendió su uso en los años noventa (Mora 1999).

Posteriormente, se han hecho varias investigaciones evaluando la capacidad de los fungicidas de combatir la enfermedad del ojo de gallo con resultados variables. Así, Quesada (1996) encontró que la adición de Metalosato de Calcio y Metalosato de Magnesio a los fungicidas sistémicos mejoró su efecto, alterando posiblemente la estructura y fisiología de las hojas de cafeto.

De igual manera, Borbón *et al.* (1997) y Borbón (1998), determinaron que los productos Amistar (312 g de PC/ha), Silvacur (0,75 L PC/ha), Atemi (0,5 L PC/ha) y algunas de sus mezclas (Atemi y Silvacur), resultaron efectivos para reducir el nivel de infección de la enfermedad pero, su nivel de control varió considerablemente en las diferentes zonas cafetaleras de Costa Rica, siendo efectivos cuando los niveles de infección fueron bajos (4-8%), y se realizaron prácticas de manejo integrado como podas de sanidad, ya que cuando los niveles de infección fueron altos (95% en la plantación sin tratamiento químico), el nivel de infección en las plantaciones tratadas con los fungicidas podría ser superior al 50% aún con el uso de estos productos en altas dosis.

Posteriormente, Mora y Vargas (1999) determinaron que los fungicidas sulfato de cobre (Cuprofix 5,0 g/L) y azufre (Tiovit 4,0 g/L) presentaron muy poco efecto sobre la reesporulación de las lesiones que se encontraban en las hojas enfermas, ya que a los trece días después de la aplicación ya había un 30 % de lesiones con cabecitas mientras que los fungicidas Atemi 10 SL y caldo bordelés (Fytosan 10 g/L) limitaron el proceso de reesporulación hasta por un periodo de tres semanas. A su vez, el Fytosan, óxido de cobre (Cobre Nordox 4,0 g/L) y el Cuprofix fueron los que mostraron un efecto protector en hojas sanas hasta por tres semanas.

Actualmente, el ICAFE (2011a) propone un manejo integrado de la enfermedad tomando en cuenta los siguientes aspectos: la densidad de siembra no debe ser mayor a 5 000 plantas por hectárea, se deben sustituir las variedades muy susceptibles a la enfermedad como los Catimores en zonas con una altitud superior a los 1 100 msnm por variedades como la Catuái o Caturra, se

deben podar las plantas agotadas o con muchas lesiones de Ojo de Gallo, deshijar dos veces al año dejando solo 2 ejes por punto de siembra, manejar la sombra y las malezas, fertilizar de acuerdo con los resultados del análisis de suelos y aplicar fungicidas de forma calendarizada tres veces al año sobre plantas en producción e hijos de poda.

La aplicación de los fungicidas concuerdan con los meses que presentan mayores picos de formación de gemas, con el fin de evitar el aumento de la severidad de la enfermedad al final del año, la cual se espera no sea superior a un 3%. La primera aplicación se efectúa a finales del mes de mayo o a principios del mes de junio, la segunda se hace a principios del mes de agosto y la tercera a finales del mes de setiembre (ICAFE 2011a).

En zonas muy favorables para el desarrollo de la enfermedad se recomiendan dos opciones de combinación de fungicidas: 1) cyproconazole (Atemi a una dosis de 0,5 L PC/ Ha) + validamicina A (Cepex a una dosis de 2 L PC/ Ha) en 400 L de agua, 2) tebuconazole+ triadimenol (Silvacur a una dosis de 0,7 L PC/Ha) + validamicina A (Cepex 2L PC/Ha) en 400 L de agua. Mientras que en las zonas con menor influencia del Ojo de Gallo se puede usar el fungicida tebuconazole (Orios 0,7 L/Ha), o bien el tebuconazole+ triadimenol (Silvacur a una dosis de 0,7 L/Ha) en 400 L de agua (Barquero 2009²).

2.2.2. Combate biológico

El combate biológico se puede definir como la reducción del inóculo o las actividades de un patógeno o parásito en su estado activo o de reposo, mediante la acción de uno o varios organismos (Baker y Cook 1982).

El combate biológico desde el punto de vista fitopatológico, ha sido estudiado más para hongos del suelo que para enfermedades foliares. En Costa Rica se han realizado varios estudios a nivel de

² BARQUERO, M. 2009. Combate químico del ojo de gallo del cafeto. (entrevista). Heredia, CR. ICAFE.

laboratorio, *in vitro*, *in vivo*, en invernadero y en campo; sobre el combate del ojo de gallo, mediante el uso del hongo *Trichoderma* spp. y *T. harziarum* los cuales presentaron acción parasítica y lítica sobre el micelio y cabecitas de *M. citricolor*. No obstante, factores como el pH del medio, la relación carbono/nitrógeno y la edad del cultivo afectan negativamente el parasitismo por *Trichoderma* (Páez 1976).

En un ensayo efectuado a nivel de campo en un cultivo de la variedad "Typica" altamente infectado con "ojo de gallo", realizado por Vargas (1984), se encontró que al aplicar por espolvoreo *T. harziarum* con oxiclورو de cobre (Cobox 88%) con broza de café con almidón de yuca, se logró una mayor reducción del número de lesiones con cabecitas y el de cabecitas por lesión; que cuando se aplicó únicamente el fungicida o el *T. harziarum*.

Por su parte, Curling (1986), encontró que las aplicaciones de *T. harziarum* a nivel de laboratorio lograron altos porcentajes de parasitismo sobre las cabecitas de "ojo de gallo"; no así a nivel de campo en el cual no logró reducir el promedio de lesiones con cabecitas, ni el promedio del número de cabecitas. Posiblemente, el micoparásito se vio afectado por las fuertes lluvias posteriores a la aplicación del patógeno y la fuerte presión de inóculo que presentaba la enfermedad.

En pruebas experimentales realizadas por Mora (1987), se aislaron inicialmente 64 tipos de bacterias del filoplano tomados de diferentes zonas cafetaleras del país, de las cuales fueron seleccionadas 9 bacterias que resultaron antagonistas al "ojo de gallo" del cafeto, siendo el mejor el tratamiento llamado "16 AT". Aparentemente, estas bacterias liberaban sustancias enzimáticas que desintegraban las masas compactas de hifas usándolas para su sobrevivencia.

Posteriormente, Calvo (1988) realizó pruebas a nivel de campo en la zona de Turrialba, con las bacterias antagonistas aisladas por Mora (1987); y determinó que al aplicar las bacterias contenidas en un caldo nutritivo con adherente se logró reducir el porcentaje de lesiones con cabecitas en un 67% y el número de cabecitas por lesión en un 47,5%; con respecto al testigo.

Años después, Quesada (1996) probó a nivel de campo una cepa bacteriana de aparente acción parasítica contra *M. citricolor* en dos épocas del año, primero en junio cuando el nivel de infección de la enfermedad era bajo y en setiembre cuando el nivel de infección era mayor. Los resultados mostraron que la bacteria tenía mayores posibilidades de establecerse y multiplicarse cuando se aplicó al inicio del periodo lluvioso y en condiciones de bajo nivel de infección utilizando la turba como acarreador y el almidón como adherente y sustrato alimenticio; la bacteria actuó en este caso como inhibitoria de la producción de cabecitas.

2.2.3. Uso de abonos orgánicos para el combate de enfermedades

Durante años los abonos orgánicos se han comercializado principalmente destacando sus efectos físico-químicos en el suelo. No obstante, en los últimos años existe interés en el estudio del componente vivo presente en los diferentes abonos orgánicos como un elemento de supresión de enfermedades causadas por patógenos foliares, vasculares y radicales (Hoitink *et al.* 1997, Domínguez *et al.* 2010).

La supresividad de los abonos orgánicos se define como la capacidad para impedir el desarrollo de enfermedades en las plantas, a pesar de que el agente causal se encuentre presente. El modo de acción de los abonos orgánicos puede asociarse a factores como la tolerancia y escape a la infección; además de la supresión biológica de enfermedades (Hoitink *et al.* 1997).

El escape se da por ejemplo cuando la aplicación de abonos orgánicos aumenta la cantidad de raíces en las plantas por lo que se dan menos infecciones en relación con el volumen radical, o por un mejoramiento de la estructura del suelo que favorece el drenaje y desfavorece la infección (Hoitink *et al.* 1997).

La tolerancia se da cuando la aplicación del abono mejora la condición de la raíz y aporta nutrimentos esenciales a la planta, lo cual le permite resistir mejor las enfermedades (Hoitink *et al.* 1997).

La supresión biológica de enfermedades involucra mecanismos de antagonismo del agente biocontrolador contra el patógeno a través de la competencia, antibiosis o hiperparasitismo; y mecanismos no antagónicos por medio de la alteración interna de la planta que impida o reduzca la infección o colonización de los tejidos por el patógeno, conocida como resistencia adquirida, la cual ocurre cuando las defensas de una planta susceptible a un determinado patógeno son activadas mediante agentes biológicos o abióticos, ocasionando que la planta se vuelva resistente al patógeno (Aráuz 2011).

La competencia se define como la lucha entre dos o más organismos para obtener la cantidad necesaria de un recurso principalmente nutrientes de alta energía como carbohidratos y nitrógeno, cuando la cantidad del mismo no es suficiente para ambos el mejor adaptado para utilizarlo será quien predomine en un hábitat dado (Aráuz 2011).

La antibiosis es la inhibición de un organismo por la acción de un producto metabólico de otro organismo llamado antibiótico (Hoitink *et al.* 1997, Aráuz 2011).

El hiperparasitismo es la relación entre dos organismos donde el hiperparásito es el organismo que parasita otro parásito (Aráuz 2011).

A partir de los años 90, se ha despertado el interés en nuevas opciones para usar los abonos orgánicos para el combate de enfermedades aéreas en diversos cultivos, mediante la preparación de “lixiviados de vermicompost” y los “Tés de Compost” (Ryan *et al.* 2005).

2.2.3.1. El vermicompost.

El vermicompost es el producto resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica, mediante la crianza sistemática de lombrices. Para el vermicompostaje es ampliamente usada la lombriz californiana *Eisenia foetida*, la cual fue seleccionada por Tomas Barret en 1930 en Estados Unidos, por su alta capacidad de reproducción, su capacidad de vivir en

altas densidades, el amplio rango de desechos orgánicos de los que se alimenta y su adaptación a diferentes condiciones climáticas (Nieves 2005).

Entre los factores más importantes para el establecimiento de la lombriz es el contenido de humedad de la cama, que debe estar alrededor del 70-75%, la temperatura entre 25-28° C y el pH en un rango entre 6,8 y 7,2 (Soto 2003, Nieves 2005).

Esta lombriz es hermafrodita, madura sexualmente a las 10-12 semanas a partir de las cuales se cruzan para el intercambio de esperma. Luego de este periodo cada individuo por si solo empieza a liberar cápsulas. La densidad poblacional que se espera en un criadero con actividad normal es de 40 000 a 50 000 lombrices por metro cuadrado, densidades mayores reducen la capacidad de trabajo y reproducción (González 2007).

2.2.3.2. El lixiviado de vermicompost.

Es la fracción líquida que se obtiene del proceso de vermicompostaje de los residuos orgánicos; se producen directamente de las camas de lombrices, es rico en elementos nutritivos y en microorganismos; se caracteriza por una coloración negruzca. Tradicionalmente, se ha utilizado como un fertilizante líquido orgánico (Larco 2004, Fortis *et al.* 2009, Aráuz 2011).

2.2.3.3. El té de compost.

El té de compost es un producto líquido hecho usualmente con la adición de agua, compost, y nutrientes (opcional), por un periodo de tiempo definido. La producción del té de compost se puede realizar de forma anaeróbica por un periodo de una a dos semanas, o aeróbicamente mediante el burbujeo continuo de aire por un lapso de tiempo de 24 horas. Tanto los lixiviados como los tés de compost se aplican como un spray foliar o al suelo en drench (Scheuerell y Mahaffee 2002, Larco 2004, Al-Mughrabi *et al.* 2008).

Los téis de compost aeróbicos aplicados como spray foliar ejercen una influencia en la filosfera al cubrir las hojas con microorganismos, los cuales pueden formar una barrera física contra los agentes que causan enfermedades y proveen un ambiente competitivo en el cual los patógenos son excluidos. Adicionalmente, los téis de compost pueden mejorar la salud y crecimiento de las plantas al ser fuente de nutrientes foliares, que las hace más resistentes al ataque de enfermedades. Los téis de compost aplicados al suelo en drench previo a la siembra o transplante, aportan nutrientes y microorganismos benéficos; además se reduce la necesidad de aplicar fertilizantes, ya que estimulan la mineralización de la materia orgánica y la solubilización de nutrientes atrapados en la partículas del suelo (Al-Mughrabi *et al.* 2008).

Se han realizado varios estudios para la supresión de enfermedades utilizando téis de compost aireados y no aireados; con resultados positivos para el combate de enfermedades como: *Botrytis cinerea* (moho gris) en el cultivo de frijol (Palmer *et al.* 2010), el mal del talluelo (*Pythium ultimum*) en plantas de pepino (Scheuerell 2003), la roña de la manzana (*Venturia inaequalis*), entre otros (Al-Mughrabi *et al.* 2008).

En Estados Unidos, se incorporó el uso de té de compost dentro del sistema de irrigación en aproximadamente 8 093 hectáreas de cultivos vegetales, con lo cual se incrementó el crecimiento de raíces, se disminuyó la aplicación de fertilizantes y se redujo las pérdidas a causa de enfermedades (Scheuerell 2003).

Los investigadores Ryan *et al.* (2005) realizaron un ensayo en papa, uva y calabaza, en el que encontraron que el té de compost no controló el tizón tardío en papa, pero aumentó la calidad y la consistencia del cultivo, incrementando la talla y uniformidad de los tubérculos. En el cultivo de uva el té de compost redujo la severidad del mildiu polvoso, mientras que en el cultivo de la calabaza por si solo el té de compost no suprimió el mildiú polvoso pero al combinarlo con otros materiales de biocontrol como el Serenade (*Bacillus subtilis*) se logró suprimir la enfermedad.

En otro ensayo, Arancón *et al.* (2007), registraron una reducción de las poblaciones de nematodos parásitos de plantas (géneros *Heterodera* y *Meloidogyne*) tras la aplicación de tés de vermicompost preparados con distintos residuos orgánicos al suelo. Se cree que la aplicación de los tés de vermicompost pudieron haber estimulado las poblaciones de microorganismos antagonistas a los quistes de los nematodos. Paralelamente, dichos autores utilizaron tés de vermicompost de residuos como estiércol de vaca, purín de cerdo, restos de comida y residuos de la industria papelera; como bioplaguicida contra los parásitos vegetales *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Plectosporium* y *Verticillium*, y observaron una reducción notable de la incidencia de estos patógenos en diferentes cultivos.

Por su parte, Al-Mughrabi *et al.* (2008) probaron la eficacia del compost y del té de compost aeróbico para aumentar el peso y tamaño de los tubérculos de papa, además de combatir varias enfermedades comunes del cultivo; obteniendo como resultado un mayor peso en los tubérculos de papa y una reducción en un 81% en la severidad de la enfermedad “roña común” (*Streptomyces scabies*) cuando aplicaron el té de compost aeróbico posterior a la siembra del cultivo.

Entre los factores que influyen la capacidad de supresión del té de compost se cita: El método de producción del té de compost, la materia prima que se usa en la elaboración del compost, la cantidad de agua usada, el potencial de dilución previo a la aplicación, el equipo de aplicación, el tiempo de aireación, los nutrientes adicionados, la temperatura, el pH y la mezcla de adyuvantes o microorganismos antagonistas específicos (Scheuerell y Mahaffee 2002, Scheuerell 2003).

Durante el proceso de producción del té de compost se puede adicionar algas solubles, proteínas de pescado, ácido húmico, polvo de roca, quitina coloidal o sustancias ricas en ésta como los desechos de camarón; con el fin de aumentar los contenidos de nutrientes o de microorganismos benéficos (Durham 2006).

En este sentido, la quitina es un producto de desecho de la industria camaronera, que además se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza como un polisacárido de largas cadenas monoméricas del azúcar N-acetilglucosamina. Estos monómeros se encuentran unidos por enlaces covalentes del tipo β 1-4, los cuales tienen un rol importante en su estructura molecular, por formar tejidos que le confieren resistencia y soporte a los organismos (San-Lang y Jau-Ren 2001). Estos residuos no son fácilmente reciclados en la naturaleza por lo que en algunos países se utilizan microorganismos que obtengan de manera directa o indirecta quitina a partir de estos desechos. Algunos de los microorganismos capaces de degradarlos son bacterias actinomicetes del género *Streptomyces* las cuales utilizan la quitina como fuente de carbono y/o nitrógeno y poseen un gran potencial como agentes de biocontrol de hongos patógenos como *M. citricolor*, a causa de que estos contienen quitina en sus paredes celulares (Scheuerell 2003, Salazar *et al.* 2006, Sastoque *et al.* 2007).

Debido a que la quitina no se encuentra presente en plantas y vertebrados se puede utilizar de forma segura en el control de plagas y enfermedades al promover las poblaciones de microorganismos quitinolíticos (Cohen 2001). Así por ejemplo, la quitina ha sido aplicada como sustrato junto con la bacteria *Bacillus cereus* cepa 304 para el control de la mancha foliar en maní causada por *Cercospora arachidicola*, incrementándose el tamaño poblacional de la bacteria sobre las hojas y resultando en un control significativo de la enfermedad (Kokallis Burelle *et al.* 1992).

Por su parte, investigadores como Osorio *et al.* (2004), Sastoque (2005), Sastoque *et al.* (2007), Farfán y Gutiérrez (2009) y Castro *et al.* (2011) han evaluado el uso de la quitina comercial o los residuos de camarón en la dinámica poblacional de bacterias y actinomicetes quitinolíticos con potencial para el combate de enfermedades radicales y foliares, ya sea por antagonismo de los microorganismos quitinolíticos contra los patógenos, o un efecto derivado de la quitina como el aporte de N para las plantas o la producción de compuestos nitrogenados tóxicos como el amoniaco y el ácido nitroso (Oka 2000).

Hasta la fecha, no se han documentado pruebas del uso de los lixiviados de vermicompost para la supresión de enfermedades, sino como fuente de nutrientes para mejorar la fertilidad de las plantas (García *et al.* 2008). No obstante, en Costa Rica la Cooperativa Coopepalmares, ha usado los lixiviados de vermicompost de broza de café a una dosis de 40 litros de lixiviado por hectárea en mezcla con otros fungicidas o fertilizantes, y aseguran notar efectos positivos sobre la supresión del ojo de gallo (Vargas 2010³). Adicionalmente, en el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad de Costa Rica, se han efectuado pruebas preliminares que refuerzan la hipótesis de un efecto supresivo sobre *M. citricolor*.

³ VARGAS, F. 2010. Combate biológico del ojo de gallo del cafeto. (entrevista). Palmares, CR. Coopepalmares.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización.

El trabajo de investigación se realizó durante el año 2010 y 2011 en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica.

3.2. Material experimental.

3.2.1. Lixiviados y té de vermicompost.

Se utilizaron lixiviados y té de vermicompost obtenidos a partir de materias primas de origen animal y vegetal. Los vermicompost y lixiviados de vermicompost producidos a partir de estiércol equino, bovino y caprino fueron proporcionados por el Ing. David Mora de la Estación Experimental Alfredo Volio Mata de la Universidad de Costa Rica; ubicada en la zona de Ochomogo, Cartago. Los vermicompost y los lixiviados de vermicompost producidos a partir de broza de café y broza de café con residuos de camarón, fueron procesados y facilitados por el Ing. Freddy Vargas de la Cooperativa Coopepalmares localizada en Palmares, Alajuela. La elaboración de los vermicompost y obtención de los lixiviados se detalla en el Apéndice.

Se utilizó además un vermicompost de estiércol bovino proveniente del Módulo Lechero de la Sede de Turrialba de la Universidad de Costa Rica con el cual se preparó un té de vermicompost.

3.2.2. Cepa de *Mycena citricolor*.

Se utilizó la cepa de *Mycena citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc "My 59", perteneciente a la clase Basidiomycete, subclase Homobasidiomycete, orden Agaricales y a la familia Agaricaceae (Wang y Avelino, 1999), la cual fue proporcionada por el Ing. Miguel Barquero del Instituto Costarricense del Café (ICAFE). Para la reproducción del hongo *in vitro*, se tomó como referencia la metodología propuesta por González (2003). Dentro de la cámara de flujo laminar previamente desinfectada

con alcohol de 70%, se transfirió una sección de 6 mm de diámetro de un cultivo de 12 días del hongo utilizando una pipeta Pasteur estéril. Se colocaron cuatro círculos con micelio en cada placa de Petri con medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) acidificado con ácido láctico al 10%. Las placas de Petri inoculadas se colocaron en una caja de plástico en un sitio con iluminación natural y a temperatura ambiente. La esporulación del hongo se produjo alrededor de dos semanas después de la transferencia a las placas Petri (Figura 1). Este procedimiento se realizó en repetidas ocasiones con el fin de contar con el material necesario para los diferentes ensayos.



Figura 1. Crecimiento del micelio y de los cuerpos fructíferos (cabecitas o gemas) del hongo *M. citricolor* en medio de cultivo *in vitro*.

3.2.3. Plantas de cafeto.

Se utilizaron hojas de plantas de cafeto (*Coffea arabica* L.) (Orden: Rubiales, familia Rubiaceae) de la variedad Catuaí Rojo, con una edad aproximada de un año. Las plantas fueron proporcionadas por la Cooperativa Coopepalmares y se mantuvieron en el invernadero del Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad de Costa Rica durante el periodo de realización de los ensayos. Las plantas se trasplantaron a potes de plástico (número 400) con suelo proveniente de la misma zona. Las plantas se fertilizaron con 6 g de 10-30-10 a los 7 días después del trasplante y a los 2 meses. Además se complementó la nutrición con dos aplicaciones foliares del fertilizante fórmula 20-20-20 (Nitrógeno, Potasio y Fósforo) + elementos menores de la marca “Evergreen. La

primera aplicación se hizo a los 30 días después del trasplante y la segunda una semana después, esto con el fin de que las plantas se mantuvieran en buen estado y produjeran la cantidad de hojas necesarias para cada ensayo. Debido a que las plantas empezaron a presentar problemas de deshidratación por las altas temperaturas en el invernadero, fue indispensable colocar un sarán al 50% para alcanzar un ambiente más fresco. Se trajeron plantas nuevas de cafeto para el último ensayo, las cuales se fertilizaron con 2g/planta de la fórmula 12-11-18+MgO+SO₃ de “Hidrocomplex” al trasplante y se regaron dos veces por semana.

3.3. Efecto de la aplicación de téis de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con *M. citricolor*.

3.3.1. Preparación de los téis de vermicompost.

Los téis de vermicompost se prepararon mediante un proceso de incubación aeróbica de los vermicompost producidos a partir de cada una de las diferentes materias primas de origen animal: estiércol equino, bovino y caprino; y de fuente vegetal: broza de café y broza de café enriquecida con desechos de camarón de la siguiente manera:

Se colocaron 100 g del vermicompost en una bolsa hecha con una malla, que se ubicó dentro de un recipiente de plástico sin tapa, con capacidad para 10 litros (Figura 2). Se adicionaron 5 litros de agua y 10 ml de melaza dentro del recipiente. La mezcla se incubó bajo aeración constante con la ayuda de una bomba para pecera para 19 L, durante 24 horas. A los tratamientos que adicionalmente llevaban quitina al 0,4%, se agregaron 20 g de la quitina comercial de Sigma Aldrich (Shrim Shell, practical grade) en el balde junto con los otros ingredientes (Rodríguez y Morgan 1987).



Figura 2. Preparación de los té de vermicompost aeróbicos por 24 horas.

3.3.2. Análisis de la calidad química y microbiológica de los té de vermicompost.

Se determinó la composición química y microbiológica de los vermicompost utilizados en la preparación de los té de compost, así como la inocuidad y estabilidad de los mismos. Para ello se tomó una muestra de 500g de cada uno de los vermicompost en una bolsa plástica y una muestra de un litro de cada uno de los diferentes té de vermicompost en una botella de plástico. Todas las muestras se llevaron al Laboratorio de Suelos y Foliares del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica para hacer un análisis químico que incluía los contenidos totales de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn, Zn y B, el porcentaje de humedad y valor del pH, según la metodología propuesta por Soil and Plant Analysis Council, INC (1998).

Además, se tomó una muestra de 500g de cada uno de los abonos sólidos y 100 ml de los diferentes té de vermicompost, para efectuar el recuento microbiológico del número de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos, determinar la presencia de *Escherichia coli* y evaluar la estabilidad de los abonos orgánicos sólidos. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad de Costa Rica (Ver apéndice).

3.3.3. Evaluación del tiempo de aplicación del té de vermicompost.

Con el fin de determinar el tiempo de aplicación del té de vermicompost antes de la inoculación del patógeno, se realizó un ensayo en el que se evaluó la población de grupos específicos de microorganismos a las 24 y 48 horas posteriores a la aplicación del té.

Se usó un diseño experimental irrestricto al azar con 5 repeticiones. La unidad experimental estuvo compuesta por cinco hojas de café con un tamaño uniforme dispuestas en una caja de plástico transparente "cámara húmeda". La cámara húmeda estuvo conformada por una bandeja de plástico transparente con tapa y con capacidad para 4 702,5 cm³, dentro de la cual se colocó una capa de papel toalla estéril sobre la que se dispusieron las hojas de café. El papel toalla se mantuvo humedecido con agua estéril para conservar una atmósfera con humedad relativa alta necesaria para el desarrollo de la enfermedad. A cada unidad experimental se le aplicaron 10 ml del té de vermicompost con ayuda de un aspersor manual con capacidad para un litro. Se utilizaron dos tratamientos: té de vermicompost y un control al que se asperjó agua desionizada estéril.

Se evaluaron las poblaciones de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes sobre las hojas de café a las 24 y 48 horas después de la aplicación de los tratamientos. Para cada uno de los tratamientos a evaluar se tomaron las cinco hojas de café que conformaban la unidad experimental y se pusieron en una bolsa plástica transparente estéril con 90 mL de agua desionizada estéril. Luego se colocaron dentro del Stomacher® 400 Circulator por un periodo de tres minutos y a 300 revoluciones por minuto, con el fin de que los microorganismos presentes en la superficie de la hoja quedaran suspendidos en el agua, a la cual se le realizó el recuento microbiológico de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos. Adicionalmente se evaluó la presencia de *E. coli* en la forma descrita en el Apéndice. Los datos de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de los recuentos microbiológicos se transformaron con el Log₁₀, previo al análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p < 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

3.3.4. Efecto de los té de vermicompost a base de estiércoles en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

Se evaluó si el tipo de estiércol usado para preparar el té y el enriquecimiento con quitina, tenían efecto supresor sobre el desarrollo de *M. citricolor* inoculado en hojas de cafeto. Para ello se utilizaron los siguientes tratamientos:

1. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol equino
2. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol bovino
3. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol caprino
4. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol equino + quitina
5. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol bovino + quitina
6. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de estiércol caprino + quitina
7. *M. citricolor* + agua desionizada (control)

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, la unidad experimental estuvo compuesta por cinco hojas de cafeto dispuestas en una cámara húmeda. Se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento. A cada unidad experimental se le asperjó 10 ml del té de vermicompost correspondiente o agua desionizada estéril, humedeciendo totalmente las hojas. Se realizó una única aplicación 24 horas antes de la inoculación de las hojas de cafeto con *M. citricolor* (según el resultado obtenido en el ensayo de la sección 3.3.3); en cada hoja se hicieron dos puntos de inoculación en los cuales se colocaron 5 cabecitas de *M. citricolor* en cada uno.

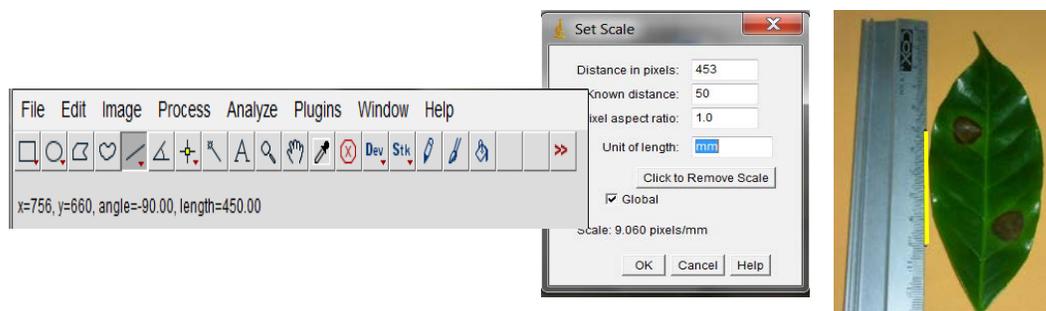
Se determinó la presencia de *E. coli* y se cuantificó la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en las hojas de cafeto inoculadas con los té de vermicompost de estiércoles al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 19), siguiendo la metodología descrita en la sección 3.3.3.

Se evaluó el número de hojas con lesiones, número de lesiones totales, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas dos veces por semana durante tres semanas.

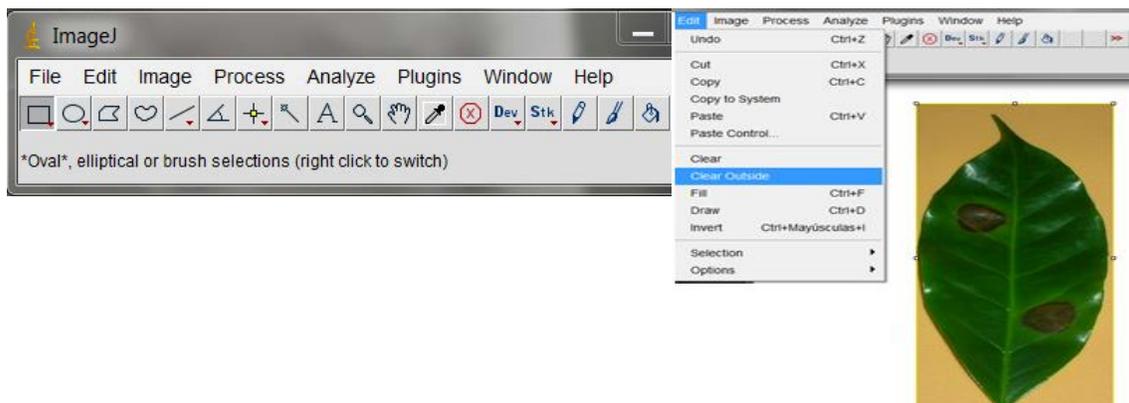
En la última evaluación se determinó el porcentaje de hojas enfermas y el porcentaje del área foliar dañada. Para la obtención del área de la hoja y el área de la hoja con lesiones, previo a la realización de los recuentos microbiológicos se tomó una fotografía a cada una de las hojas junto con una referencia de longitud (regla de 30 cm). Luego cada fotografía fue analizada con el programa Image J⁴ según la metodología descrita a continuación:

Determinación del área de la hoja.

Se calibró la escala, para ello se dibujó una línea de 50 mm sobre una sección de la regla y se eligió la opción **Analyze** → **Set Scale**. En la ventana “Distance in pixels” se digitó la medida del trazo (en este ejemplo 450 indicada por “length”), luego se digitó 50 en “Known Distance” y se indicó mm en la “Unit of length”, se seleccionó la opción “Global” y se marcó “OK”. Luego se dibujó una nueva línea sobre la regla para confirmar que la escala de medida era correcta.

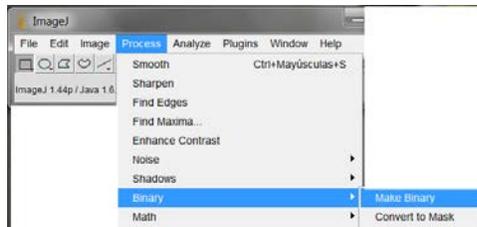


Se utilizó la herramienta de selección rectangular para rodear la hoja, se eliminó el contenido externo usando la opción “**Edit** → **Clear Outside**”.

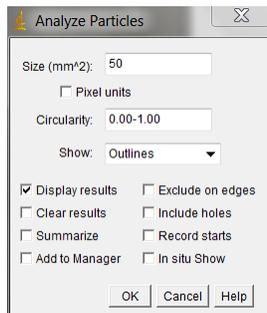


⁴ Disponible en: <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>

Se ajustó la imagen utilizando la opción **“Process → Binary → Make Binary”**.



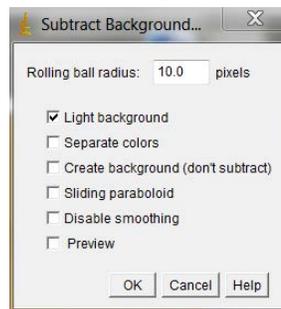
Para calcular el área de la hoja se eligió la opción **“Analyze → Analyze Particles”**, se digitó **50** como el **“minimum particle size”**, se marcó **“Show Outlines”**, **“Display Results”** y **“OK”**. El área se registró en la hoja de salida **“Results”**.



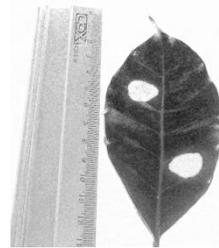
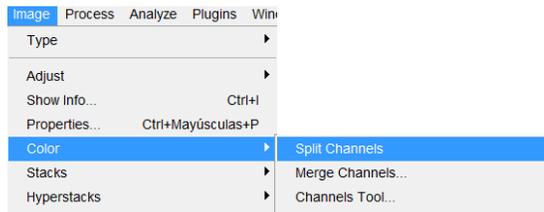
| Area | Mean | Min | Max |
|------------|------|-----|-----|
| 1 6485.814 | 255 | 255 | 255 |

Calculo del área de la lesión.

Se abrió una nueva imagen y se seleccionó **“Process → Subtract background”**; en la ventana **Rolling Ball radius** se digitó **10** para obtener un buen contraste y se seleccionó **“light background”** y **“OK”**.



Se separó la imagen utilizando **“Image → Color → Split channels”**. Se generaron tres archivos: xx.jpg (green) (33.3%), xx.jpg (blue) (33.3%) y xx.jpg (red) (33.3%). Se seleccionó el archivo **“xx.jpg red”**.



Se ajustó la imagen utilizando **“Process → Binary → Make Binary”**



Se seleccionó del menú **“Edit → Invert”**. Posteriormente, se rodearon las lesiones con la herramienta de selección de trazo libre y se eliminó el fondo usando **“Edit → Clear Outside”**.



Se eligió la opción **“Analyze → Analyze Particles”**. Se digitó **10** (dependiendo del tamaño de la lesión) como el **“minimum particle size”**, se marcó **“Show Outlines”**, **“Display Results”** y **“OK”**. El área de las dos lesiones se registró en la hoja de salida **“Results”**.



| | Area | Mean | Min | Max |
|---|----------|------|-----|-----|
| 1 | 6485.814 | 255 | 255 | 255 |
| 2 | 193.339 | 255 | 255 | 255 |
| 3 | 228.535 | 255 | 255 | 255 |

Se guardó el archivo “**results**” como una hoja de Excel, en la cual se calculó el porcentaje del área foliar dañada.

Los datos de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de los recuentos microbiológicos se transformaron con el Log10, previo al análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

Las variables de: número de hojas con lesiones, número de lesiones, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas, se transformaron usando la “transformación de promedios alineados” y se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para una $p \leq 0,10$ (Wobbrock *et al.* 2011).

Los datos del Porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área foliar dañada se analizaron por medio del análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,07$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

3.3.5. Efecto de los tés de vermicompost a base de broza de café en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

Se evaluó el efecto de la aplicación de los tés de vermicompost a base de broza y su enriquecimiento con quitina y/o desechos de camarón, sobre el desarrollo del ojo de gallo del cafeto mediante la aplicación de los siguientes tratamientos:

1. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de broza de café
2. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de broza de café enriquecido con camarón
3. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de broza de café + quitina
4. *M. citricolor* + té de vermicompost a base de broza de café enriquecido con camarón + quitina
5. *M. citricolor* + agua desionizada (control)

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, la unidad experimental estuvo compuesta por cinco hojas de cafeto dispuestas en una cámara húmeda y se hicieron cinco repeticiones por tratamiento.

Se asperjó a cada unidad experimental, 10 ml del té de vermicompost o agua estéril, con la ayuda de un aspersor manual de un litro de capacidad. Se realizó una única aplicación 24 horas antes de la inoculación de las hojas de cafeto con *M. citricolor*; en cada hoja se pusieron tres puntos de inoculación en los cuales se colocaron 5 cabecitas de *M. citricolor* en cada uno.

Se determinó la presencia de *E. coli* y se cuantificó la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en las hojas de cafeto inoculadas con los tés de vermicompost de broza de café al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 18), siguiendo la metodología descrita en la sección 3.3.3.

Se evaluó el número de hojas con lesiones, número de lesiones totales, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas dos veces por semana durante tres semanas. El porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área foliar dañada se determinaron en la última evaluación siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.3.4.

Los datos de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de los recuentos microbiológicos se transformaron con el Log₁₀, previo al análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p < 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

Las variables de: número de hojas con lesiones, número de lesiones, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas, se transformaron usando la “transformación de promedios alineados” y se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para una $p \leq 0,10$ (Wobbrock *et al.* 2011).

Los datos del Porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área foliar dañada se analizaron por medio del análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

3.4. Efecto de la aplicación de lixiviados de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con *M. citricolor*.

3.4.1. Análisis de la calidad química y microbiológica de los lixiviados de vermicompost.

Se tomó una muestra de un litro de cada uno de los lixiviados de vermicompost diluidos al 10% en una botella de plástico. Las muestras se llevaron al Laboratorio de Suelos y Foliar del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica para hacer un análisis químico que incluía el contenido total de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn, Zn y B y el valor del pH según la metodología propuesta por Soil and Plant Analysis Council, INC (1998).

Se recolectó una muestra de 100 ml de cada uno de los lixiviados de vermicompost diluidos al 10% en un recipiente plástico con tapa esterilizado, a las cuales se les evaluó la presencia de *E. coli* y se determinó mediante recuento en plato el número de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos.

3.4.2. Efecto de los lixiviados de vermicompost en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

Para evaluar el efecto de los lixiviados de vermicompost de origen animal y vegetal, sobre la supresión de *M. citricolor* se utilizaron los siguientes tratamientos:

1. *M. citricolor* + lixiviado a base de broza de café
2. *M. citricolor* + lixiviado a base de broza de café enriquecido con camarón
3. *M. citricolor* + lixiviado a base de estiércol bovino
4. *M. citricolor* + agua desionizada (control)

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, la unidad experimental estuvo compuesta por cinco hojas de cafeto con un tamaño uniforme, las cuales estuvieron dispuestas en una “cámara húmeda” y se hicieron cinco repeticiones por tratamiento.

En cada unidad experimental se asperjaron 10 ml del lixiviado diluido al 10% con agua sobre las hojas de cafeto, humedeciéndolas completamente. Transcurridas 24 horas desde la aplicación de los tratamientos se inocularon tres puntos por hoja con 5 cabecitas de *M. citricolor* cada uno.

Se determinó la presencia de *E. coli* y se cuantificó la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en las hojas de cafeto inoculadas con los lixiviados de vermicompost al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 20), siguiendo la metodología descrita en la sección 3.3.3.

Se evaluó el número de hojas con lesiones, número de lesiones totales, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas dos veces por semana durante tres semanas. El porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área de la lesión se determinaron en la última evaluación, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.3.4.

Los datos de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de los recuentos microbiológicos se transformaron con el Log10, previo al análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p < 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

Las variables de: número de hojas con lesiones, número de lesiones, número de lesiones esporuladas y número de cabecitas, se transformaron usando la “transformación de promedios

alineados" y se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskall Wallis para una $p \leq 0,10$ (Wobbrock *et al.* 2011).

Los datos del Porcentaje de hojas enfermas y porcentaje del área foliar dañada se analizaron por medio del análisis de varianza y se procedió a separar las medias con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la aplicación de tés de vermicompost sobre hojas de cafeto inoculadas con *M. citricolor*.

4.1.1. Evaluación del tiempo de aplicación del té de vermicompost.

La aplicación de té de compost a las superficies de las hojas se basa en la idea de inocular las plantas con altas poblaciones de microorganismos. El té de estiércol bovino utilizado en este ensayo presentó una población de bacterias y hongos superior a la reportada por Mansour y El-sayed (2011) en tés de compost preparados a partir de una mezcla de estiércoles animales con granza de arroz, en los cuales la población de bacterias se mantuvo entre 6,8 a 7,7 log₁₀ (UFC/mL) y la de hongos entre 3,5 a 4,6 log₁₀ (UFC/mL), en cuanto a los actinomicetes se encuentran dentro del rango de 5,8 a 6,8 log₁₀ (UFC/mL) obtenido por dichos autores (Cuadro 1). En general, en las investigaciones con tés de compost los autores determinan las poblaciones de bacterias y hongos no así de levaduras y lactobacilos, razón por la cual no hay una referencia que permita compararla con los resultados obtenidos en este ensayo.

Cuadro 1. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en el té de vermicompost de excretas de bovino.

| Material | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|-----------|---|---------------|--------|-----------|--------------|
| | ------(Log ₁₀ UFC ⁺ /ml)----- | | | | |
| TÉ BOVINO | >8,7 | 6,3 | 5,0 | 7,1 | 7,8 |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

En términos generales, se encontró una alta población de microorganismos presentes de manera natural sobre las hojas de cafeto, principalmente bacterias, actinomicetes y hongos (Cuadro 2). Esto concuerda con lo observado por Blakeman y Fokkema (1982) y Aráuz (2011), los cuales mencionan que en el filoplano de las plantas hay numerosos microsítios que permiten el establecimiento y desarrollo de una abundante población epífita compuesta primordialmente por

bacterias, actinomicetes y hongos filamentosos, que pueden ser antagonistas o patógenos. Estos sitios se localizan a lo largo de las venas, en las depresiones entre las paredes anticlinales de las células epidérmicas o en la base de los tricomas donde la liberación de nutrientes y humedad pueden ser mayores.

Con respecto al factor tratamiento, se observó que la aplicación del té de vermicompost sobre las hojas de café produjo un incremento estadísticamente significativo en las variables población de bacterias, levaduras y lactobacilos, mientras que las poblaciones de actinomicetes y hongos presentes en la superficie de las hojas no mostraron diferencias significativas por efecto de la aplicación del té (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la adición del té de vermicompost sobre la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de café.

| Tratamiento | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|---|-----------|---------------|---------|-----------|--------------|
| ------(Log10 UFC ⁺ /ml)----- | | | | | |
| TÉ DE VERMICOMPOST | 7,9 (b)* | 4,4 (a) | 3,6 (a) | 6,3 (b) | 6,3 (b) |
| TESTIGO | 7,2 (a) | 5,1 (a) | 3,9 (a) | 5,0 (a) | 5,3 (a) |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Este resultado puede deberse a que los té de vermicompost poseen una alta cantidad de nutrientes que sirven de sustento para los microorganismos contenidos en ellos (Al-Mughrabi *et al.* 2008), y/ o a la adición al tratamiento inoculado de las poblaciones de microorganismos presentes en el té (ver Cuadro 1).

Por otro lado, los resultados presentes en el Cuadro 3, muestran que la población de bacterias en las hojas de café disminuyó significativamente en el tiempo; mientras que la población de actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos no mostraron diferencias significativas en los tiempos evaluados.

Cuadro 3. Efecto de la adición del té de vermicompost sobre la población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de cafeto a las 24 y 48 horas después de la aplicación.

| Tiempo | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|--|-----------|---------------|---------|-----------|--------------|
| (Log ₁₀ UFC ⁺ /ml) | | | | | |
| 24 HORAS | 7,8 (b)* | 5,1 (a) | 3,8 (a) | 5,6 (a) | 6,2 (a) |
| 48 HORAS | 7,3 (a) | 4,3 (a) | 3,7 (a) | 5,7 (a) | 5,5 (a) |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Los microorganismos presentes en el filoplano de manera natural o por la inoculación a través del té de compost deben competir entre ellos por los nutrientes disponibles (principalmente C y N) y la colonización del filoplano, siendo favorecidos aquellos que logren usar los recursos más eficientemente. Es posible que las bacterias no logran competir adecuadamente con los otros grupos funcionales o entre ellas, debido a que fueran más susceptibles a factores bióticos o abióticos que los otros grupos y por ello su población se vio reducida en el tiempo. Además, se dan otras interacciones entre microorganismos como la inhibición, antagonismo, depredación y antibiosis que influyen en la dinámica poblacional (Aráuz 2011).

Es de suma importancia que los abonos orgánicos se encuentren libres de patógenos humanos, para lo cual se utiliza la detección de indicadores como la presencia de *Escherichia coli*. Esta es una bacteria miembro del grupo de los coliformes fecales y es un habitante normal de la flora microbiana intestinal de animales de sangre caliente. Su detección en las muestras indica contaminación de origen fecal y la posible presencia de patógenos humanos (Clesceri *et al.* 1998).

En el té de vermicompost bovino se encontró la presencia de dicha bacteria. Este hallazgo concuerda con lo reportado por Scheuerell (2003) y Ryan *et al.* (2005) quienes indican que es muy común encontrar *E. coli* en los tés de compost hechos a base de estiércol y en especial cuando se ha agregado melaza a la mezcla inicial, ya que éste producto favorece la multiplicación de *E. coli* y puede reducir la diversidad microbiológica del té al promover el crecimiento de más microorganismos competitivos.

Además, Durham (2006) menciona que aditivos como el alga soluble, las proteínas de pescado, el ácido húmico y el polvo de roca pueden estimular el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella*. El autor encontró que la adición de aditivos al té de compost preparados con cantidades muy bajas de dichas bacterias (menos de 2 células por mililitro de té), favoreció la multiplicación de *E. coli* y *Salmonella*, mientras que en los tés de compost preparados sin aditivos estas bacterias no fueron detectadas. Ello sugiere que aunque se mantengan las condiciones aeróbicas que favorezcan el aumento de la biomasa de bacterias aeróbicas en el té de compost, éstas van a inhibir el crecimiento de bacterias patógenicas.

E. coli también se encontró presente en las hojas de cafeto tratadas con el té de compost a las 24 y 48 horas después de la aplicación, lo cual demuestra la permanencia de la bacteria en las hojas aplicadas con el abono y su potencial de causar enfermedades humanas si dicho té se hubiese aplicado en plantas de consumo fresco como lechugas o repollo, entre otros.

Debido a que la población de bacterias en las hojas de cafeto tendió a disminuir en el tiempo posterior a su aplicación y el objetivo es tener altas poblaciones de microorganismos sobre las hojas previo a su inoculación con el hongo *Mycena citricolor*, se eligió 24 horas como el tiempo adecuado para la inoculación de las hojas con el hongo (Cuadro 3).

4.1.2. Características generales de los vermicompost utilizados para la elaboración de los tés.

4.1.2.1. Características químicas.

En forma general, los contenidos de N, P y K obtenidos en los diferentes vermicompost de origen animal y vegetal concuerdan con los valores reportados por Castro *et al.* (2009) en diferentes compost y vermicompost.

En cuanto a los elementos mayores el vermicompost de estiércol bovino presentó las concentraciones más altas de N (2,00%), P (1,60%) y Mg (0,75%); mientras que el vermicompost de

estiércol caprino mostró los valores más altos de Ca (2,65%), K (2,22%) y S (0,42%). Por su parte, el vermicompost de estiércol equino con excepción del N y K presentó los valores más bajos de macronutrientes de los tres vermicompost (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características químicas de los vermicompost preparados a partir de excretas animales o desechos de broza de café.

| Vermicompost | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Cu | Zn | Mn | B | pH |
|---------------------------|-------------|------|------|------|------|------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | -----%----- | | | | | | -----mg/Kg----- | | | | | |
| EQUINO | 1,90 | 0,95 | 1,79 | 1,40 | 0,54 | 0,34 | 5497 | 60 | 345 | 397 | 20 | 8,4 |
| BOVINO | 2,00 | 1,60 | 1,75 | 2,33 | 0,75 | 0,37 | 1929 | 101 | 267 | 314 | 13 | 8,9 |
| CAPRINO | 1,43 | 1,51 | 2,22 | 2,65 | 0,73 | 0,42 | 12619 | 82 | 486 | 521 | 39 | 9,2 |
| BROZA DE CAFÉ | 4,59 | 0,38 | 4,08 | 2,39 | 0,38 | 0,58 | 11481 | 76 | 139 | 517 | 110 | 9,8 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 4,36 | 0,58 | 5,07 | 3,18 | 0,43 | 0,61 | 11432 | 79 | 178 | 494 | 108 | 9,8 |

Al respecto, Loh *et al.* (2004) reportaron en un vermicompost de origen bovino y caprino valores de N y P más bajos a los presentes en este trabajo, mientras que Durán y Henríquez (2007) encontraron concentraciones de nutrientes en un vermicompost vacuno similares a los observados en este estudio. Por su parte, Castro *et al.* (2009) obtuvieron en este mismo tipo de vermicompost un contenido de N, P, K, Ca, Mg superiores a los obtenidos en este ensayo.

El vermicompost de estiércol caprino presentó los valores más altos de Zn (486 mg/Kg), Mn (521 mg/Kg), B (39 mg/Kg) y Fe (12 619 mg/Kg) siendo éste último particularmente más alto que en los vermicompost de origen equino (5 497 mg/Kg) y bovino (1 929 mg/Kg). En tanto que el vermicompost de estiércol bovino mostró los contenidos más bajos de estos elementos. Estos contenidos de nutrientes son menores a los reportados por Castro *et al.* (2009) en un vermicompost vacuno.

Por otro lado, en los vermicompost de broza de café, se encontró que los valores más altos de P, K, Ca, Mg y Zn los mostró el vermicompost a base de broza de café con residuos de camarón,

mientras que el Fe y el Mn se encontraron en una mayor concentración en el vermicompost de broza de café.

En términos generales estos valores superan los reportados por Siles (1997) en varios vermicompost de broza de café, pero los contenidos de P, Mg, Cu, Zn, Mn y Fe fueron menores a los observados por Durán y Henríquez (2007) en un vermicompost de este material.

La variabilidad en los diferentes tipos de abonos orgánicos es muy alta y depende mucho de las condiciones de elaboración de los abonos, el tipo de desecho utilizado, la proporción usada, el estado de descomposición del material, las condiciones en las cuales se lleve a cabo el vermicompostaje y el tiempo de almacenamiento (Durán y Henríquez 2007).

Así se observó que el tipo de materia prima usado influyó en el contenido de nutrientes en el producto final, ya que los vermicompost preparados con broza de café y broza de café enriquecido con residuos de camarón presentaron un mayor contenido de nutrientes como N, K, Ca, S, Mn y B que los vermicompost elaborados con los estiércoles de equino, bovino y caprino.

Cabe destacar que los diferentes vermicompost evaluados en este estudio superan los contenidos de N (2%) y P (0,15-1,5%) propuestos por Paul y Clark (1996) como aceptables para un abono. Además, son superiores a los parámetros de calidad nutricional para abonos orgánicos en Europa que son un contenido de N de 0,60%, P de 0,22%, K de 0,25%, Ca de 1,42% y Mg de 0,18 % (Alvarado y Briceño 2002).

En cuanto al valor de pH observado en los vermicompost de estiércoles se encontró entre 8,4 y 9,2. Este hallazgo concuerda con lo descrito por Fortis *et al.* (2009) y Otero (2010) quienes obtuvieron valores de pH alcalinos de 9,3 y 8,1 en vermicompost de estiércoles. Moreno-Caselles *et al.* (2002) mencionan que los estiércoles son en general alcalinos, fundamentalmente por liberar nitrógeno en forma de urea, que se descompone formando amoniaco.

En el caso de los vermicompost de broza de café el valor del pH en ambos abonos sólidos se encontró en 9,8. Esto supera el valor de pH reportado por Durán y Henríquez (2007) en un vermicompost de broza de café que fue de 6,9, similar al reportado por Siles (1997) quien encontró un pH de 7 en un vermicompost de este material. Al respecto Bollo (1999) menciona que la función de las glándulas de Morren dentro de la morfología de la lombriz, es secretar carbonato cálcico y producir una digestión alcalina, por lo que es de esperar valores de pH ligeramente alcalinos en los diferentes humus de lombriz. Sin embargo, Soto (2003) sugiere que la lombriz crece mejor en un rango de pH de 6,8-7,2 y Rodríguez y Córdova (2006) indican que en una vermicompostera, al término del proceso, el pH se estabiliza entre 7 y 8, lo que permite la degradación y la maduración de la materia orgánica, mientras que un valor superior a 8 provoca pérdidas de nitrógeno en forma de amoníaco. Esto concuerda con lo reportado por Otero (2010) en un vermicompost de estiércol de caprino cuyo pH inicial fue de 8,4 y final de 7,6. Únicamente el vermicompost de estiércol equino se encuentra dentro del rango de valores de pH permitidos según la normativa de calidad de abonos orgánicos en Europa que corresponde a un pH de 8,5 (Alvarado y Briceño 2002).

4.1.2.2. Determinación de la estabilidad y el porcentaje de humedad de los vermicompost.

En términos generales, los vermicompost de estiércoles presentaron un porcentaje de humedad superior al de los vermicompost de broza de café. Teniendo los primeros entre 73% y 80% de humedad, datos que concuerdan con Otero (2010) y los segundos de 55%- 58% de humedad (Cuadro 5).

Los resultados para los vermicompost de broza de café se encuentran dentro del porcentaje de humedad recomendado por la etiqueta ecológica europea para un abono terminado que sería 55% (Alvarado y Briceño 2002), aunque superan lo recomendado por Paul y Clark (1996) que es una humedad menor del 40%. Es probable que la diferencia en el porcentaje de humedad final de

los vermicompost de estiércoles y de broza de café se deba a diferencias en el proceso de secado de los vermicompost.

Cuadro 5. Estabilidad y porcentaje de humedad de los vermicompost preparados a partir de excretas animales y broza de café.

| Tipo de vermicompost | Estabilidad (mg CO ₂ /g SV t) | Características | Porcentaje de humedad |
|---------------------------|--|-----------------|-----------------------|
| EQUINO | 2,5 | Estable | 80 |
| BOVINO | 4,3 | Estable | 80 |
| CAPRINO | 5,3 | Estable | 73 |
| BROZA DE CAFÉ | 0,4 | Muy Estable | 55 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 2,8 | Estable | 58 |

El vermicompost de broza de café presentó una tasa de respiración más baja que el vermicompost de broza de café con camarón y los vermicompost de estiércoles (Cuadro 5). A medida que un compost o vermicompost es más estable la tasa de respiración es más baja y según la norma de interpretación para la estabilidad de los compost usada por The U.S. Composting Council (TMECC 2002), los vermicompost de estiércoles y de broza de café con camarón son clasificados como “estables”. Esto sugiere que son compost con características favorables en los cuales el proceso de descomposición no continúa, y cuyos nutrientes estarían relativamente disponibles para la liberación en el suelo; además tienen poca producción de olores y un limitado potencial para la fitotoxicidad (Uribe, 2003).

4.1.2.3. Características microbiológicas.

Los resultados obtenidos en el Cuadro 6 muestran una alta población de bacterias y actinomicetes en los vermicompost estudiados, que son similares a lo reportado por Uribe (2003).

En cuanto a los vermicompost de estiércoles, el de origen caprino presentó la mayor población de actinomicetes y levaduras. Según Sanchez-Yañez (2006) la población de los actinomicetes se ve afectada por el porcentaje de humedad y el pH, ya que por ser bacterias aeróbicas no crecen bien

en condiciones de humedad superior al 85% y en pH ácidos; mientras que se ve favorecida por pH alcalinos (8-9), en los cuales pueden alcanzar poblaciones de 8-11 log₁₀ UFC/g de suelo. Lo anterior explica la alta población de actinomicetes en este vermicompost cuyo pH fue de 9,2 y la humedad de 73%. Por otro lado, Uribe (2007) indica que las levaduras son hongos anaerobios facultativos capaces de crecer de forma saprofítica en una amplia variedad de sustratos y rangos de pH de 2,8-8,5.

Cuadro 6. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los vermicompost hechos a partir de excretas animales o broza de café.

| Tipo de vermicompost | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|---------------------------|--|---------------|--------|-----------|--------------|
| | -----(Log₁₀ UFC⁺/g)----- | | | | |
| EQUINO | 8,8 | 8,2 | 4,5 | 5,4 | 7,3 |
| BOVINO | 9,0 | 6,9 | 4,1 | 5,9 | 7,2 |
| CAPRINO | 8,8 | 8,7 | 5,0 | 6,1 | <4,0 |
| BROZA DE CAFÉ | 7,4 | 6,6 | 4,9 | 5,3 | 6,9 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 7,7 | 7,0 | 6,0 | 5,7 | 6,6 |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

En el vermicompost de origen caprino la población de lactobacilos fue particularmente baja (<4,0 Log₁₀ UFC/g) ya que no se pudo contabilizar en la menor dilución evaluada, mientras que en los vermicompost de estiércol equino y bovino la población de lactobacilos fue superior a 7,0 log₁₀ (UFC/g). Es posible que este resultado se deba a que el vermicompost de origen caprino presentó el mayor valor de pH, el cual limitó las poblaciones de los lactobacilos ya que estos crecen mejor en pH ácidos de 4,0-6,8 (Uribe 2003).

En general, en los vermicompost existe una tendencia a una mayor población de microorganismos que en los compost en los cuales durante la etapa termofílica mueren gran cantidad de microorganismos y ocurre una selección de los mismos (Domínguez *et al.* 1997). Sin embargo, los cambios en la población microbiana de los abonos orgánicos se ven influenciados por las transformaciones sufridas por los desechos al ser ingeridos por la lombriz, los cambios en el pH y

la inoculación con la flora microbiana existente en el tracto de la lombriz (Uribe 2003), la cual puede alcanzar 500 mil millones de microorganismos (Bollo 1999).

En el caso de los vermicompost preparados a partir de broza de café con y sin desechos de camarón la población de los microorganismos fue bastante similar entre ambos, con excepción de la población de hongos, que fue mayor en el vermicompost enmendado con residuos de camarón. Este sustrato, con moléculas más difíciles de degradar podría favorecer la presencia de hongos. Sin embargo, la población de hongos en los dos vermicompost de broza de café se encuentran dentro de los valores reportados por Nieves (2005) en vermicompost de broza de café de 3,0 a 6,1 Log₁₀ UFC/g.

Scheuerell (2003) sugiere que es posible encontrar en algunos compost de estiércoles una mayor población de microorganismos que en los compost de residuos vegetales debido a la alta biomasa microbiana presente en los estiércoles. Sin embargo, esta condición solo se presentó en las poblaciones de bacterias y actinomicetes que fueron superiores en los vermicompost de estiércoles que en los de broza de café, con y sin desechos de camarón. Las poblaciones de hongos y levaduras fueron similares en todos los vermicompost evaluados, mientras que los lactobacilos se encontraron en mayor concentración en los vermicompost de broza de café.

4.1.3. Características generales de los téis de vermicompost.

4.1.3.1. Características químicas.

Un aspecto importante a considerar es que el resultado de análisis de nutrimentos totales no provee la información necesaria para conocer la disponibilidad de los mismos; no siempre un abono que contenga más nutrimentos es el que los libera con más facilidad (Vandevivere y Ramírez 1995). Esta observación coincide con lo observado en este estudio debido a que nutrimentos como el P, Mg, Cu, Zn y Mn presentes en los vermicompost de estiércoles y broza de

café no se encontraron disponibles en los té de vermicompost elaborados a partir de dichas materias primas (Cuadros 7 y 8).

Pese a ello, la tendencia general es que los abonos orgánicos con altas concentraciones de nutrimentos tienen mayor posibilidad de aportar mayores cantidades de los mismos al sistema luego de su descomposición (Bertsch 1998). Tal es el caso del vermicompost de estiércol caprino que presentó el mayor contenido de K de los tres abonos sólidos de estiércol evaluados y también el mayor contenido de K disponible en el té elaborado con esta materia prima (Ver Cuadros 4 y 7).

En el caso de los té de vermicompost de estiércoles, se encontró azufre únicamente en el té de vermicompost bovino con quitina (88 mg/L); mientras que el Fe solamente se presentó en el té de vermicompost equino (1 mg/L) y el B en los té de vermicompost equino (1 mg/L) y bovino (2 mg/L).

Cuadro 7. Composición química de los té de vermicompost elaborados con los abonos orgánicos sólidos provenientes de excretas de equino, bovino y caprino.

| Té de vermicompost | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Cu | Zn | Mn | B | pH |
|---------------------|----------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | -----mg/L----- | | | | | | | | | | | |
| EQUINO | 69 | -- | 156 | 47 | -- | -- | 1 | -- | -- | -- | 1 | 5,3 |
| EQUINO CON QUITINA | 68 | -- | 105 | 38 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 6,1 |
| BOVINO | 69 | -- | 148 | 102 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 2 | 7,0 |
| BOVINO CON QUITINA | 101 | -- | 129 | 76 | -- | 88 | -- | -- | -- | -- | -- | 6,2 |
| CAPRINO | 56 | -- | 203 | 91 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 5,3 |
| CAPRINO CON QUITINA | 84 | -- | 177 | 62 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 5,3 |

Los té de vermicompost de estiércoles enriquecidos con quitina presentaron un mayor contenido de N en comparación con los mismos té sin quitina, con excepción del té de vermicompost equino (Cuadro 7). En el caso del té de origen bovino la adición de quitina aportó 32 mg/L de N y en el té de origen caprino aportó 28 mg/L de N. El mayor contenido de N lo presentó el té de vermicompost bovino con quitina (101 mg/L) y el menor el té de vermicompost caprino (56 mg/L).

Los téis de vermicompost enriquecidos con quitina presentaron niveles menores de K y Ca que los téis de vermicompost sin este aditivo. El K se encontró presente en mayor concentración en los téis de vermicompost caprino, con y sin quitina (203 mg/L) y (177 mg/L) respectivamente. Por su parte, el té de vermicompost bovino mostró el mayor contenido de Ca (102 mg/L) y el té de vermicompost equino con quitina mostró los valores más bajos de Ca y K.

En lo que respecta al pH se observó que el té de vermicompost equino y los téis de vermicompost caprino, con y sin quitina, mostraron los valores más bajos de pH (5,3); mientras que el té de vermicompost bovino tuvo un pH neutro (7,0). La adición de quitina al té de vermicompost bovino ocasionó que el pH del medio bajara, no así en el té de vermicompost equino en el cual la adición de quitina causó que el pH subiera a 6,1.

En los téis preparados a partir de los desechos de broza de café, se observó que el mayor contenido de N se encontró en el té de broza de café con residuos de camarón (105 mg/L), y el menor en el té de broza de café (73 mg/L). Mientras que el contenido de K osciló entre 459 mg/L y 310 mg/L, encontrándose el mayor contenido en el té de broza de café con quitina y el menor en el té de broza de café (Cuadro 8).

Los residuos de camarón incorporados al vermicompost al igual que la quitina comercial adicionada a los téis de vermicompost, son materiales con un alto contenido de N que puede ser utilizado por las poblaciones de microorganismos presentes en los abonos orgánicos para aumentar su biomasa microbiana y a la vez aumentar la producción de sustancias promotoras del crecimiento o la liberación de nutrientes contenidos en los abonos sólidos (Sastoque *et al.* 2007; Castro *et al.* 2011).

El Ca se encontró presente solo en el té de broza de café con quitina (10 mg/L) y el S en el té de broza de café con camarón con quitina (38 mg/L). El contenido de Fe fluctuó entre 4-8 mg/L y el contenido de B se encontró entre 1-4 mg/L, presentando el té de broza de café con camarón y quitina los menores valores de dichos elementos.

Cuadro 8. Composición química de los té de vermicompost elaborados con los abonos orgánicos sólidos provenientes de broza de café.

| Té de vermicompost | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Cu | Zn | Mn | B | pH |
|--|----------------|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|---|-----|
| | -----mg/L----- | | | | | | | | | | | |
| BROZA DE CAFÉ | 73 | -- | 310 | -- | -- | -- | 8 | -- | -- | -- | 3 | 6,7 |
| BROZA DE CAFÉ CON QUITINA | 97 | -- | 459 | 10 | -- | -- | 6 | -- | -- | -- | 4 | 6,3 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 105 | -- | 367 | -- | -- | -- | 8 | -- | -- | -- | 2 | 7,2 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN Y QUITINA | 79 | -- | 315 | -- | -- | 38 | 4 | -- | -- | -- | 1 | 7,0 |

Los té de broza de café con camarón, con y sin quitina presentaron valores de pH neutros; mientras que en el té de broza de café y broza de café con quitina los valores del pH fueron un poco menores. Los residuos de camarón tienen un pH alcalino superior a 9 (Sastoque *et al.* 2007), lo cual explicaría la razón por la cual los té de broza con camarón tienen un pH superior a los otros té de broza de café. Sin embargo, la adición de quitina a los té de broza de café, con o sin camarón generó una pequeña disminución en el valor del pH.

En términos generales, el contenido de nutrientes presente en los té de vermicompost de estiércoles y de broza de café son más bajos que los obtenidos por Preciado *et al.* (2011) en un té preparado con un vermicompost comercial en el cual, el contenido de N fue de (101 mg/L), el P (15 mg/L), el K (357,6 mg/L), el Ca (178 mg/L), el (Mg 59 mg/L) y el S (831 mg/L). Según los autores con la aplicación de este té a plantas de tomate en invernadero se logró obtener buenos resultados de rendimiento.

La alta cantidad de microorganismos presente en los vermicompost (Cuadro 6), e inoculada en los té afectó la cantidad de nutrientes presentes en el té, ya que la biomasa microbiana en los abonos orgánicos actúa como sumidero y fuente importante de nutrimentos tales como el C, N y P. A medida que los materiales son descompuestos por los microorganismos que los utilizan como fuente de energía en el caso del C o para la formación de proteínas y crecimiento en el caso del N, la biomasa microbiana aumenta, por lo cual los contenidos de N y P disponibles para las plantas se

reducen pues son inmovilizados por ellos. Un caso similar puede ocurrir con otros elementos tales como el Mg, K y S, lo cual explicaría por qué algunos elementos no se detectaron en los análisis químicos (Paul y Clark 1996, Meléndez 2003).

4.1.3.2. Características microbiológicas.

En el Cuadro 9 se puede observar que, al igual que en los abonos sólidos, en los té de vermicompost de estiércoles se observó una alta población de bacterias, siendo particularmente superior la población de bacterias en el té de vermicompost caprino, con valores mayores a 8,5 Log₁₀ UFC/ml. Es posible que la alta concentración de nutrientes en este vermicompost favoreciera, en general una mayor biomasa microbiana.

Cuadro 9. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los té de vermicompost preparados a partir de excretas animales.

| Té de vermicompost | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|---|-----------|---------------|--------|-----------|--------------|
| -----Log ₁₀ ⁺ UFC/ml----- | | | | | |
| EQUINO | 8,5 | 6,3 | 3,5 | 7,0 | 6,6 |
| EQUINO CON QUITINA | 8,5 | 6,5 | 3,3 | 7,0 | 7,0 |
| BOVINO | 8,3 | <5,0 | 2,9 | 6,0 | 6,0 |
| BOVINO CON QUITINA | 8,5 | <5,0 | 2,6 | 5,7 | 6,2 |
| CAPRINO | >8,5 | 7,7 | 4,7 | 6,3 | 7,1 |
| CAPRINO CON QUITINA | 8,6 | 6,3 | 4,3 | 6,6 | 6,7 |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

En forma general, en los té de vermicompost de origen bovino, con y sin quitina, se presentaron las menores poblaciones de microorganismos, siendo particularmente baja la población de actinomicetes (menor de 5,0 log₁₀ UFC/ml). El vermicompost de estiércol bovino fue el que presentó la menor población de actinomicetes y hongos de los tres vermicompost estudiados, lo que podría explicar por qué los té preparados con dicho abono presentaron las menores poblaciones de estos microorganismos. Además, los actinomicetes crecen lentamente en comparación con las bacterias, siendo malos competidores cuando hay fuentes de C fácilmente

disponibles, por lo que al elevar la cantidad de nutrientes orgánicos al hacer un té, su número disminuye por la presión de competencia biológica con otros grupos (Sanchez-Yañez 2006, Farfán y Gutiérrez 2009). Es probable que en los tés de origen bovino con y sin quitina, al altos valores de pH afectaran negativamente la población de lactobacilos que crece mejor a pH ácido que básico (Uribe 2003).

Contrariamente, en los tés de vermicompost de origen caprino se encontraron los contenidos más altos de actinomicetes y hongos, posiblemente debido a este tipo de vermicompost tuviera alguna sustancia química que estimulara las poblaciones de estos microorganismos y/o a la habilidad que tienen estos grupos microbianos para la degradación de sustancias complejas.

Con respecto, a los tés de vermicompost preparados a partir de los abonos sólidos de broza de café se observó una alta población de bacterias superior a 8,5 Log₁₀ UFC/ml (Cuadro 10).

Cuadro 10. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presentes en los tés de vermicompost preparados a partir de broza de café.

| Té de vermicompost | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|-------------------------------------|---|---------------|--------|-----------|--------------|
| | -----Log ₁₀ ⁺ UFC/ml----- | | | | |
| BROZA DE CAFÉ | >8,5 | 6,3 | 2,3 | >7,5 | 7,1 |
| BROZA DE CAFÉ CON QUITINA | >8,5 | 6,6 | 4,0 | 5,6 | 5,0 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | >8,5 | 7,3 | 2,8 | >7,5 | 7,1 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN Y QUITINA | >8,5 | 7,3 | 2,3 | >7,5 | 7,7 |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

En el caso de los actinomicetes la población fue mayor en los tés de broza de café con desechos de camarón con y sin quitina. Al respecto Sastoque *et al.* (2007) mencionan, que los residuos de camarón pueden ser utilizados como fuente de C y N por bacterias y actinomicetes quitinolíticos, lo cual se refleja en un incremento de su biomasa microbiana.

La población de levaduras fue superior a 7,5 Log₁₀ UFC/ml en los tés de broza de café con excepción del té de broza de café con quitina, cuya población fue de 5,6 Log₁₀ UFC/ml. Según Pacheco (2003), las levaduras se ven favorecidas por la presencia de altas concentraciones de azúcares, en caso contrario las bacterias se desarrollan mejor en concentraciones de azúcares más bajas. Además, Uribe (2007) indica que el rango de pH que estimula el crecimiento de las levaduras se encuentra entre 2,8 y 8,5 con un óptimo de 4,5-6,5.

En cuanto a la población de hongos, esta fue particularmente alta en el té de vermicompost de broza de café con quitina con respecto a la observada en los otros tés de vermicompost de broza de café. Por su parte, la población de lactobacilos fue considerablemente menor en el té de broza de café con quitina que en los demás tés, en los cuales la población fue superior a 7,1 Log₁₀ UFC/ml.

4.1.4. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost a base de estiércoles sobre hojas de cafeto inoculadas con *M. citricolor*.

4.1.4.1. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de estiércoles sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto.

La población de bacterias y hongos en las hojas de cafeto tratadas con los diferentes tés de vermicompost de excretas animales, presentaron una interacción estadísticamente significativa por el tipo de té utilizado y el tiempo de evaluación (Cuadro 11).

Así, se observa que la menor población inicial de bacterias se presentó en el tratamiento testigo, siendo inclusive menor a la reportada por Mora (1987) creciendo en el filoplano de hojas de cafeto que fue de 6-8 log₁₀ UFC/ml bacterias. Mientras que los tratamientos con el té de origen equino con y sin quitina mostraron los valores más altos al inicio del ensayo (día 1). Sin embargo, dicha población disminuyó significativamente con el tiempo (día 19) en las hojas inoculadas con el té de origen equino. En los tratamientos a los que se aplicó el té de vermicompost caprino con y sin

quitina la población se mantuvo estable en el tiempo; en tanto que en los tratamientos con té de vermicompost bovino con y sin quitina y el testigo, la población aumentó al final del ensayo (día 19). Lo cual refleja que la aplicación de los té de vermicompost de estiércoles sobre las hojas de café hicieron un aporte de bacterias a la población presente naturalmente en las hojas al inicio del ensayo, sin embargo, no hubo influencia significativa en la población final de bacterias en comparación con la encontrada en el testigo.

Cuadro 11. Efecto de la adición de los té de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias y hongos en hojas de café.

| Tratamiento | Tiempo | Bacterias (Log10 UFC ⁺ /ml) | Hongos (Log10 UFC/ml) |
|------------------------|--------|--|-----------------------|
| TÉ EQUINO | Día 1 | 8,0 (e) | 2,5 (a) |
| | Día 19 | 7,3 (bcd) | 3,3 (b) |
| TÉ EQUINO CON QUITINA | Día 1 | 7,5 (de) | 2,6 (a) |
| | Día 19 | 7,3 (bcd) | 3,4 (b) |
| TÉ BOVINO | Día 1 | 6,8 (b) | 2,6 (a) |
| | Día 19 | 7,5 (cde) | 3,3 (b) |
| TÉ BOVINO CON QUITINA | Día 1 | 7,0 (bc) | 2,5 (a) |
| | Día 19 | 7,6 (de) | 3,3 (b) |
| TÉ CAPRINO | Día 1 | 7,1 (bcd) | 3,3 (b) |
| | Día 19 | 7,4 (cd) | 3,5 (b) |
| TÉ CAPRINO CON QUITINA | Día 1 | 7,2 (bcd) | 2,8 (a) |
| | Día 19 | 7,3 (bcd) | 3,4 (b) |
| TESTIGO | Día 1 | 4,9 (a) | 2,6 (a) |
| | Día 19 | 7,3 (bcd) | 4,0 (c) |

⁺ UFC: Unidades formadoras de colonias.

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Por su parte, la población de hongos al inicio del ensayo fue significativamente mayor en las hojas tratadas con el té de vermicompost caprino que en los demás tratamientos; mientras que al final del ensayo (día 19) la población en las hojas aumentó significativamente para todos los tratamientos, especialmente en el tratamiento testigo. Este resultado puede deberse a la inoculación del hongo *M. citricolor* el cual contribuyó al aumento de la población de hongos en el

recuento final y posiblemente al aumento de la población de microorganismos descomponedores que utilizaron el tejido infectado como fuente de energía.

Los resultados presentes en el Cuadro 12 muestran que la mayor población de actinomicetes se presentó en las hojas tratadas con el té de caprino con y sin quitina con respecto al testigo, mientras que la menor población se presentó en las hojas tratadas con el té bovino sin mostrar diferencias significativas con el tratamiento testigo. En el caso de la población de los lactobacilos no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos con un promedio de 4,5 log₁₀ UFC/ml.

Cuadro 12. Población de actinomicetes en hojas de cafeto tratadas con tés de vermicompost de excretas animales.

| Tratamiento | Actinomicetes (Log ₁₀ UFC/ml) |
|---------------------|--|
| TÉ EQUINO | 5,3 (bc)* |
| TÉ EQUINO+ QUITINA | 5,5 (bcd) |
| TÉ BOVINO | 5,0 (ab) |
| TÉ BOVINO +QUITINA | 4,6 (a) |
| TÉ CAPRINO | 5,7 (cd) |
| TÉ CAPRINO+ QUITINA | 6,1 (d) |
| TESTIGO | 4,9 (ab) |

+UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Cabe recalcar que la población de levaduras en las hojas de cafeto tratadas con los tés de vermicompost de estiércoles animales al inicio del ensayo (día 1) fue superior a la población presente en el tratamiento testigo, siendo significativamente mayor en las hojas tratadas con el té de equino (Cuadro 13). Además, la población aumentó considerablemente en el tiempo con valores superiores a 5,7 log₁₀ UFC/ml al final del ensayo en todos los tratamientos. Algunas levaduras pueden colonizar epifíticamente el filoplano y competir por nutrientes con otros microorganismos aumentando considerablemente sus poblaciones (Aráuz 2011).

Cuadro 13. Población de levaduras en hojas de cafeto tratadas con té de vermicompost de excretas animales.

| Tratamiento | Levaduras (Log10 UFC ⁺ /ml) |
|------------------------|--|
| TÉ EQUINO | 5,3 (c)* |
| TÉ EQUINO CON QUITINA | 4,1 (b) |
| TÉ BOVINO | 4,7 (bc) |
| TÉ BOVINO CON QUITINA | 4,7 (bc) |
| TÉ CAPRINO | 4,2 (b) |
| TÉ CAPRINO CON QUITINA | 4,1 (b) |
| TESTIGO | 2,3 (a) |

+UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, el factor tiempo influyó significativamente en la dinámica poblacional de los lactobacilos (Cuadro 14) los cuales decrecieron al final del ensayo (día 19). A pesar de que en la mayoría de los té se encontraban en valores superiores a 7,0 Log UFC/ml, su cantidad sobre las hojas de cafeto fue de más de 100 veces más baja.

Cuadro 14. Población de lactobacilos en hojas de cafeto tratadas con té de vermicompost de excretas animales al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 19).

| Tiempo | Lactobacilos (Log10 UFC ⁺ /ml) |
|--------|---|
| DÍA 1 | 4,7 (b)* |
| DÍA 19 | 4,2 (a) |

+UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Cabe destacar que la prueba realizada para evaluar la presencia de *E. coli* en los tres vermicompost preparados a partir de excretas animales y los té de vermicompost preparados con o sin quitina dio positiva, en tanto que en el tratamiento testigo no se encontró esta bacteria.

4.1.4.2. Efecto de los té s de vermicompost de estiércoles en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

La menor incidencia de la enfermedad del ojo de gallo evaluada como el porcentaje de hojas enfermas, se presentó en el tratamiento al que se le aplicó el té de origen bovino, mientras que la aplicación de té caprino aumentó la incidencia con respecto a los té s equino, bovino, bovino con quitina y caprino con quitina (Cuadro 15).

Cuadro 15. Efecto de la aplicación de los té s de vermicompost de estiércoles sobre la incidencia y severidad del ojo de gallo del cafeto.

| Tratamiento | Incidencia (% hojas enfermas) | Severidad (% área foliar dañada) |
|------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| TÉ EQUINO | 20 (a)* | 2.6 (a) |
| TÉ EQUINO CON QUITINA | 40 (ab) | 6.6 (a) |
| TÉ BOVINO | 16 (a) | 1.3 (a) |
| TÉ BOVINO CON QUITINA | 28 (a) | 4.2 (a) |
| TÉ CAPRINO | 60 (b) | 19.0 (b) |
| TÉ CAPRINO CON QUITINA | 20 (a) | 1.3 (a) |
| TESTIGO | 40 (ab) | 2.5 (a) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.07$).

En cuanto a la severidad de la enfermedad determinada por el porcentaje del área foliar dañada, los tratamientos que presentaron la menor severidad fueron los inoculados con el té de origen bovino y el té caprino con quitina, mientras que el tratamiento inoculado con el té caprino fue significativamente superior a los demás tratamientos.

En términos generales, los té s de vermicompost presentaron los menores valores de las variables relacionadas con el desarrollo de la enfermedad, aunque no se diferenciaron significativamente del testigo; con excepción del té de vermicompost caprino que favoreció al hongo *M. citricolor* (Figura 3).

Cabe recalcar que aunque el té de vermicompost caprino favoreció el desarrollo de la enfermedad, la adición de quitina al té de caprino tuvo un efecto significativo en la reducción de la incidencia y severidad del ojo de gallo. Este efecto podría deberse a que la quitina favoreciera el crecimiento de microorganismos con actividad quitinolítica que afectaran el desarrollo del hongo *M. citricolor* o cambios en la composición química del té que redujera el efecto favorecedor de este té hacia el desarrollo de la enfermedad.

Otro factor que pudo haber incidido en los resultados obtenidos es la conductividad eléctrica (CE) de los vermicompost utilizados. En este estudio no se evaluó la CE de los tés de vermicompost, pero el vermicompost de caprino tuvo una CE de 14,5 mS/cm, lo cual coincide con lo reportado por Moreno-Caselles *et al.* (2002), quienes indican que comúnmente el estiércol de origen caprino tiene una CE superior a la de otros estiércoles como el bovino, lo que implica una mayor capacidad de producir toxicidad a las hojas, lo que podría favorecer al patógeno *M. citricolor*. Se desconoce si la adición de quitina tiene algún efecto en la reducción de la salinidad por lo que habría que determinar la CE de los tés con y sin quitina.

En términos generales se encontró que el tratamiento inoculado con el té de vermicompost de origen bovino, presentó el menor número de hojas con lesiones, el menor número de lesiones esporuladas y menor número de cabecitas. En cuanto al número de hojas con lesiones en el té de vermicompost bovino fue significativamente menor que en los tratamientos con el té de origen caprino y el té de equino con quitina y tendió a ser menor que el tratamiento testigo presentado la mitad de hojas con lesión. El testigo no difirió estadísticamente de ninguno de los tratamientos con tés de vermicompost, sin embargo presentó después del tratamiento inoculado con té caprino y té equino con quitina los valores más altos (Cuadro 16).

Con respecto a la variable número de lesiones esporuladas las hojas inoculadas con el té de origen caprino presentaron un número significativamente mayor que el testigo y el tratamiento al que se aplicó el té de origen bovino. Lo cual parece indicar que el té de origen caprino favorece la esporulación de las lesiones.

El tratamiento de té de origen bovino presentó un número significativamente menor de cabecitas que el té de estiércol caprino y los tés de estiércol equino con quitina y bovino con quitina. Lo cual refleja que el té de origen bovino tuvo un efecto inhibitorio sobre la esporulación del hongo, pero la adición de quitina a dicho té disminuyó la capacidad de supresión de la enfermedad. Al adicionar quitina al té de origen bovino el contenido de N aumentó mientras que el contenido de K y el Ca bajó; esto pudo haber afectado la capacidad de supresión del té de bovino con quitina ya que altos contenidos de N pueden aumentar la susceptibilidad a enfermedades en las plantas mientras que los altos contenidos de K y Ca contribuyen a darles mayor resistencia contra el ataque de enfermedades (Bertsch 1998).

Cuadro 16. Efecto de la aplicación de los tés de vermicompost de estiércoles sobre hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo.

| Tratamiento | Nº hojas con lesión | Nº lesiones esporuladas | Nº cabecitas |
|------------------------|---------------------|-------------------------|--------------|
| TÉ EQUINO | 15,5 (ab)* | 15,9 (abc) | 17,6 (ab) |
| TÉ EQUINO CON QUITINA | 23,9 (b) | 22,4 (bc) | 22,1 (b) |
| TÉ BOVINO | 8,6 (a) | 9 (a) | 9 (a) |
| TÉ BOVINO CON QUITINA | 17,4 (ab) | 22,6 (bc) | 23,4 (b) |
| TÉ CAPRINO | 27,4 (b) | 27,1 (c) | 26,1 (b) |
| TÉ CAPRINO CON QUITINA | 15,3 (ab) | 15,6 (abc) | 14,2 (ab) |
| TESTIGO | 17,9 (ab) | 13,4 (ab) | 13,6 (ab) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,10$).

Es destacable que el té de vermicompost de origen bovino logró disminuir la producción de las cabecitas que son las estructuras de diseminación de la enfermedad en el campo (Carvajal 1939). Es posible que el resultado se deba a que este té mostró el mayor contenido de Ca y según Vargas (1996), la aplicación de formulaciones de Ca a las hojas de cafeto tienen un efecto positivo en el combate de la enfermedad, ya que al aumentar el contenido de calcio en los tejidos se logra contrarrestar en parte el efecto del ácido oxálico sobre el secuestro del calcio estructural de las paredes celulares que debilita los tejidos y facilita la entrada de la hifa de *M. citricolor* (Rao y Tewari 1988).

Se desconoce si la capacidad supresora de los vermicompost depende del material de origen, de la especie de lombriz de tierra y del proceso de vermicompostaje. En este sentido, Lores *et al.* (2006) demostraron que, en función de la especie de lombriz empleada y del residuo de partida, las comunidades microbianas originadas tras el proceso de vermicompostaje fueron diferentes, lo que podría implicar distintas capacidades para la supresión de enfermedades.

Al respecto cabe mencionar que el vermicompost de estiércol caprino elaborado con las excretas de los machos, fue degradado más lentamente por las lombrices que el de bovino o equino, según observaciones del Ingeniero a cargo de la elaboración de las vermicompostas (Mora 2010⁵).

Además, los aditivos agregados a los té de compost para promover el crecimiento microbiano presente en ellos, podría favorecer el crecimiento saprofitico de patógenos de plantas y neutralizar el potencial de control biológico (Scheuerell y Mahaffee 2006). Así, por ejemplo, Scheuerell, (2003), observó que con la adición de melaza al 0,01% a un té de compost aeróbico, la capacidad del mismo de suprimir la enfermedad conocida como “damping off” en plantas de pepino se redujo debido a que el patógeno fue estimulado por la melaza.

Algunas veces no se obtiene una reducción significativa de las poblaciones del patógeno, porque las comunidades bacterianas presentes en el té de compost no logran establecerse en la superficie foliar de la planta o ellas pueden ser lavadas en el tiempo por las aplicaciones de foliares (Al-Mughrabi *et al.* 2008).

⁵ MORA, D. Preparación de los vermicompost de estiércoles animales. (entrevista). Ochoмого, CR.



Figura 3. Lesiones de ojo de gallo en hojas de cafeto a los 19 días de ser tratadas con: (A) Té de origen equino, (B) Té de bovino, (C) Té de caprino, (D) Té de origen equino con quitina, (E) Té de origen bovino con quitina, (F) Té de vermicompost caprino con quitina, (G) Agua estéril Testigo.

4.1.5. Efecto de la aplicación de los té de vermicompost a base de broza de café sobre hojas de cafeto inoculadas con *M. citricolor*.

4.1.5.1. Efecto de la aplicación de los té de vermicompost de broza de café sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto.

La población de bacterias, hongos, levaduras y lactobacilos en las hojas de cafeto tratadas con los diferentes té de vermicompost de broza de café, presentó una interacción estadísticamente significativa por el tipo de té utilizado y el tiempo de evaluación (Cuadro 17).

En forma general, se observó que la aplicación de los diferentes té de vermicompost aumentó significativamente la cantidad de bacterias en la superficie de las hojas. La mayor población de bacterias se encontró en las hojas de cafeto inoculadas con el té de broza de café. En todos los casos se observó un aumento significativo de la población de bacterias en el tiempo. A pesar de que la menor población inicial (día 1) de bacterias se presentó en las hojas de cafeto con el tratamiento testigo, al final del ensayo (día 18) la población del testigo fue similar a la encontrada en los demás tratamientos. Esto concuerda con lo mencionado por Mora (1987) quien sugiere que las bacterias constituyen el grupo más numeroso de organismos en la microflora de la hoja ya que cuentan con un crecimiento muy rápido y una habilidad para utilizar diferentes formas de nutrimentos en diversas condiciones sin ser superado por ningún otro grupo.

Cuadro 17. Efecto de la adición de los té de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias, hongos, levaduras y lactobacilos en hojas de cafeto.

| Tratamiento | Tiempo | Bacterias | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|-------------------------------------|--------|-----------|----------|-----------|--------------|
| (Log10 UFC ⁺ /ml) | | | | | |
| TÉ BROZA CAFÉ | DIA 1 | 7,5 (c)* | 2,8 (a) | 6,8 (c) | 5,5 (bc) |
| | DIA 18 | 8,7 (e) | 6,7 (d) | 6,3 (bc) | 6,4 (de) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON QUITINA | DIA 1 | 7,5 (c) | 2,8 (a) | 6,3 (bc) | 5,9 (cd) |
| | DIA 18 | 8,3 (d) | 5,8 (c) | 6,0 (b) | 6,3 (d) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | DIA 1 | 6,9 (b) | 2,9 (ab) | 6,1 (b) | 5,1 (b) |
| | DIA 18 | 8,2 (d) | 5,4 (c) | 5,8 (b) | 5,9 (cd) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON CAMARON Y QUITINA | DIA 1 | 7,2 (bc) | 3,5 (b) | 6,1 (b) | 5,8 (bcd) |
| TESTIGO | DIA 18 | 8,5 (de) | 5,9 (c) | 6,2 (b) | 7,0 (e) |
| TESTIGO | DIA 1 | 5,8 (a) | 2,9 (ab) | 4,5 (a) | 3,4 (a) |
| | DIA 18 | 8,2 (d) | 5,5 (c) | 6,2 (b) | 5,4 (bc) |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

En cuanto a la población de hongos al inicio del ensayo (día 1) se observó que fue mayor en las hojas de cafeto inoculadas con el té de broza de café con camarón y quitina que en las hojas inoculadas con los té de broza de café con y sin quitina; sin diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo. No obstante, la población de hongos al final del ensayo (día 18) aumentó

en todos los tratamientos siendo solo significativamente mayor en las hojas de cafeto tratadas con el té de broza de café con respecto a los demás tratamientos. La inoculación del hongo *M. citricolor* contribuyó a este resultado.

La adición de los diferentes té de vermicompost causó un aumento en la población de levaduras con respecto al tratamiento control al momento de la inoculación (día 1). Con excepción del tratamiento testigo, la población de levaduras en las hojas de cafeto inoculadas con los diferentes té de broza de café se mantuvo estable en el tiempo. En el caso de las hojas de cafeto para el tratamiento testigo la población final del ensayo (día 18) aumentó al punto de que no fue significativamente distinta a la presente en los demás tratamientos.

La población de lactobacilos aumentó significativamente con el tiempo para todos los tratamientos incluyendo al testigo, con excepción del tratamiento del té de broza de café con quitina. Encontrándose la mayor población final en las hojas de cafeto inoculadas con el té de broza de café con camarón y quitina.

En el caso de los actinomicetes no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos y se encontró una población promedio de 6,2 Log₁₀ UFC/ml, pero se pudo observar que la población inicial (día 1) de actinomicetes en las hojas de cafeto inoculadas con los té de broza de café aumentó significativamente al final del ensayo (día 18) (Cuadro 18).

Cuadro 18. Población de actinomicetes en hojas de cafeto tratadas con té de vermicompost de broza de café al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 18).

| Tiempo | Actinomicetes (Log ₁₀ UFC ⁺ /ml) |
|--------|--|
| DÍA 1 | 5,5 (A)* |
| DÍA 18 | 6,8 (B) |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

En los diferentes téis de vermicompost de broza de café se encontró presente la bacteria *E. coli*, a pesar de que en los abonos sólidos no se había detectado. Al respecto, cabe mencionar que en el galerón en el cual se prepararon los vermicompost de broza de café a pesar de ser bajo techo, no era totalmente cerrado, lo cual permitía el ingreso de perros y aves que podían servir de fuente de contaminación de *E. coli* a través de sus excretas sobre las camas de lombrices (Clesceri *et al.* 1998) y la adición de melaza al té pudo favorecer la multiplicación de la bacteria.

4.1.5.2. Efecto de los téis de vermicompost de broza de café en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

La incidencia y severidad de la enfermedad del ojo de gallo fue mayor en las hojas inoculadas con los téis de vermicompost de broza de café que en el tratamiento testigo (Cuadro 19). De manera que de un 80-92% de las hojas inoculadas con los téis de vermicompost de broza de café presentaron lesiones, las cuales abarcaron de un 13,6-24,3% del área de la hoja, mientras que en el tratamiento testigo se infectaron un 60% de las hojas y el área foliar dañada fue del 5,4 %.

Cuadro 19. Efecto de la aplicación de los téis de vermicompost de broza de café en la incidencia y la severidad de la enfermedad del ojo de gallo en hojas de cafeto.

| Tratamiento | Incidencia (% hojas enfermas) | Severidad (% área foliar dañada) |
|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| TÉ BROZA DE CAFÉ | 92 (b)* | 24,3 (c) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON QUITINA | 88 (b) | 13,6 (ab) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | 80 (ab) | 16,7 (bc) |
| TÉ BROZA CAFÉ CON CAMARON Y QUITINA | 88 (b) | 22,3 (bc) |
| TESTIGO | 60 (a) | 5,4 (a) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Contrario a lo esperado, la adición de quitina a los téis de vermicompost no produjo un efecto supresivo sobre el patógeno.

La materia prima utilizada en la elaboración del vermicompost pudo haber tenido efecto sobre la supresión de la enfermedad, ya que según Scheuerell (2003), los téis de vermicompost de

estiércoles tienen mayor capacidad supresora que los téis hechos con vermicompost de restos vegetales, así por ejemplo, observó que el té de compost de gallinaza tuvo un mayor efecto supresor contra la enfermedad del mildiú polvoso en rosas que el té de compost de desechos de jardín.

La aplicación de los diferentes téis de vermicompost elaborados a partir de broza de café no tuvieron un efecto supresivo contra el hongo *M. citricolor*; sino por el contrario favorecieron el desarrollo de la enfermedad (Figura 4), ya que el número de lesiones de ojo de gallo en las hojas de cafeto fue significativamente menor en el tratamiento testigo que en las hojas inoculadas con los diferentes téis de vermicompost (Cuadro 20).

Cuadro 20. Efecto de la aplicación de los téis de vermicompost de broza de café sobre hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo.

| Tratamiento | N° lesiones | N° cabecitas |
|-------------------------------------|-------------|--------------|
| TE BROZA CAFÉ | 17,8 (b)* | 6,4 (a) |
| TE BROZA CAFÉ CON QUITINA | 13,3 (b) | 13,9 (ab) |
| TE BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | 15,3 (b) | 16,6 (b) |
| TE BROZA CAFÉ CON CAMARON Y QUITINA | 14,8 (b) | 18,6 (b) |
| TESTIGO | 3,8 (a) | 9,5 (ab) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,10$).

En cuanto al número de cabecitas en las hojas de cafeto del tratamiento testigo, este no presentó diferencias significativas con los tratamientos con los diferentes téis de vermicompost. Sin embargo, el té de broza de café presentó un menor número de cabecitas nuevas con respecto a los tratamientos del té de broza de café con camarón con y sin quitina.

Estos resultados sugieren que el patógeno pudo haber utilizado los nutrientes contenidos en los diferentes téis de vermicompost de broza de café como fuente de energía, lo cual se reflejó en un mayor número de lesiones en los tratamientos inoculados con los téis que en el tratamiento testigo, en el cual los nutrientes eran limitados. Además, los téis de broza de café con camarón con y sin quitina promovieron una mayor esporulación de las lesiones del hongo, que el té de broza de

café, esto podría deberse a que los residuos de camarón aportaron microelementos u otras sustancias que pudieron haber sido usadas por el patógeno.



Figura 4. Lesiones de ojo de gallo en hojas de café a los 18 días de ser tratadas con: (A) Té de vermicompost de broza de café, (B) Té de vermicompost de broza de café con quitina, (C) Té de vermicompost de broza de café con camarón, (D) Té de vermicompost de broza de café con camarón y quitina, (E) Agua estéril Testigo.

4.2. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost sobre hojas de café inoculadas con *M. citricolor*.

4.2.1. Características generales de los lixiviados de vermicompost.

4.2.1.1. Características químicas.

Los lixiviados han sido considerados tradicionalmente, como un fertilizante líquido orgánico debido a los altos contenidos de nutrientes presentes en ellos (García *et al.* 2008).

El mayor contenido de N, P y K se encontró en el lixiviado de vermicompost de broza de café con residuos de camarón que presentó 76 mg/L de N, 21 mg/L de P y 668 mg/L de K; mientras que el lixiviado de vermicompost bovino mostró los menores valores de dichos elementos (Cuadro 21). Estos resultados superan los contenidos de N, P y K encontrados por Preciado *et al.* (2011) en un lixiviado de vermicompost diluido hasta obtener una CE de 2,0 dS/m, pero son menores a los reportados por García *et al.* (2008) en un lixiviado de vermicompost de estiércol bovino sin diluir.

Según García *et al.* (2008), los lixiviados de vermicompost se deben diluir antes de aplicarlos a las plantas debido a que la alta concentración de nutrimentos pueden causar problemas de toxicidad por el alto contenido de sales, por lo cual recomienda diluirlo al menos al 50% para evitar los problemas de toxicidad.

Cuadro 21. Composición química de los lixiviados diluidos al 10% obtenidos de la preparación de vermicompost de broza de café, broza de café con desechos de camarón y excretas de bovino.

| Tipo de lixiviado | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Cu | Zn | Mn | B | pH |
|---------------------------|------|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | mg/L | | | | | | | | | | | |
| BROZA DE CAFÉ | 45 | 19 | 427 | -- | -- | 62 | 92 | -- | -- | -- | 2 | 8,0 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 76 | 21 | 668 | -- | -- | 33 | 24 | -- | -- | -- | 1 | 8,2 |
| BOVINO | 20 | 14 | 352 | -- | -- | 29 | 2 | -- | -- | -- | -- | 9,5 |

El mayor contenido de S (62 mg/L) y Fe (92 mg/L) se presentó en el lixiviado de vermicompost de broza de café, mientras que en el lixiviado de vermicompost bovino se encontraron los valores más bajos de S y Fe, sin ser detectado el contenido de Boro. Estos contenidos de azufre son cinco veces inferiores al reportado por Preciado *et al.* (2011) en un lixiviado de vermicompost.

Los contenidos de Ca, Mg, Cu, Zn y Mn no pudieron ser detectados en ninguno de los lixiviados, mientras que Preciado *et al.* (2011), reportó contenidos de Ca de 12,6 mg/L y de Mg de 6,84 mg/L en un lixiviado de vermicompost.

Los resultados del pH muestran que el valor más alto se encontró en el lixiviado de vermicompost bovino (9,5), seguido del lixiviado de broza de café con camarón con un valor de 8,2 y el lixiviado de broza de café con un pH de 8,0. Este resultado supera al valor de pH observado por García *et al.* (2008) en un lixiviado de vermicompost de estiércol bovino sin diluir con un pH de 7,8.

4.2.1.2. Características microbiológicas

En términos generales, el lixiviado de broza de café con camarón presentó una población de microorganismos mayor que los lixiviados de broza de café y de estiércol bovino (Cuadro 22). Probablemente debido a los mayores contenidos de N, P y K presentes en este lixiviado que favorecieron el crecimiento de la biomasa microbiana (Meléndez 2003).

Cuadro 22. Población de bacterias, actinomicetes, hongos, levaduras y lactobacilos presente en los lixiviados de vermicompost.

| Tipo de lixiviado | Bacterias | Actinomicetes | Hongos | Levaduras | Lactobacilos |
|---------------------------|---|---------------|--------|-----------|--------------|
| | ------(Log10 UFC ⁺ /ml)----- | | | | |
| BROZA DE CAFÉ | 6,0 | 4,3 | 2,0 | 2,0 | 6,1 |
| BROZA DE CAFÉ CON CAMARÓN | 6,9 | 5,8 | 2,3 | 3,2 | 6,5 |
| BOVINO | 6,1 | 4,1 | 2,0 | 2,5 | 3,8 |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

Las poblaciones de los grupos de microorganismos evaluados fueron altas tomando en cuenta que corresponden a la población presente en los lixiviados diluidos al 10%. Esto concuerda con lo reportado por Fortis *et al.* (2009), quien sugiere que los lixiviados de vermicompost son ricos en elementos nutritivos y en microorganismos.

En cuanto a la población de bacterias, actinomicetes y hongos esta fue similar entre los lixiviados de broza de café y el lixiviado bovino. Mientras que la población de lactobacilos fue considerablemente mayor en el lixiviado de broza de café y broza de café con camarón que en el lixiviado bovino. Es posible que el alto valor del pH (9,5) del lixiviado bovino limitara el

crecimiento de la población de lactobacilos, además, de que el lixiviado de vermicompost de origen bovino tenía el contenido más bajo de nutrientes de los tres lixiviados lo cual pudo tener un efecto en la menor producción de biomasa microbiana (Meléndez 2003).

4.2.2. Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost en las hojas de cafeto.

4.2.2.1 Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost sobre la población de microorganismos en las hojas de cafeto.

Se presentó un efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost y el tiempo de incubación sobre las poblaciones de bacterias y levaduras en las hojas de cafeto (Cuadro 23). La población de bacterias al inicio del ensayo (día 1) fue significativamente mayor en las hojas tratadas con el lixiviado de broza de café con residuos de camarón que en las hojas del tratamiento testigo. Al final del ensayo (día 20) la población de bacterias en las hojas aumentó para todos los tratamientos, pero fue significativamente más alta en el tratamiento con lixiviado bovino que en lixiviado de broza de café con camarón, sin diferencias estadísticas con el testigo.

Cuadro 23. Efecto de la adición de los lixiviados de vermicompost y el tiempo de incubación sobre la población de bacterias y levaduras en hojas de cafeto.

| Tratamiento | Tiempo | Bacterias (Log10 UFC ⁺ /ml) | Levaduras (Log10 UFC/ml) |
|----------------------------------|--------|--|--------------------------|
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ | DIA 1 | 5,1 (ab)* | 3,1 (b) |
| | DIA 20 | 7,5 (cd) | 5,2 (c) |
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | DIA 1 | 5,2 (b) | 3,2 (b) |
| | DIA 20 | 7,4 (c) | 5,1 (c) |
| LIXIVIADO BOVINO | DIA 1 | 4,8 (ab) | 3,3 (b) |
| | DIA 20 | 7,9 (d) | 4,9 (c) |
| TESTIGO | DIA 1 | 4,7 (a) | 2,4 (a) |
| | DIA 20 | 7,7 (cd) | 5,3 (c) |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

En lo que respecta a la población de levaduras en las hojas de café se encontró que la población inicial (día 1) fue significativamente mayor en las hojas tratadas con los lixiviados de vermicompost que en las hojas del tratamiento testigo. No obstante, la población de levaduras aumentó con el tiempo y al final del ensayo (día 20) no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

Por otra parte, la población de actinomicetes y de lactobacilos fue significativamente mayor en las hojas de café inoculadas con los lixiviados de broza de café y broza de café con camarón que en las hojas inoculadas con el lixiviado bovino y el testigo (Cuadro 24). Mientras que, en el caso de la población de hongos observados en las hojas de café no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos y se encontró en un valor promedio de 2,9 log₁₀ UFC/ml.

Cuadro 24. Población de actinomicetes y lactobacilos en hojas de café tratadas con lixiviados de vermicompost.

| Tratamiento | Actinomicetes (Log ₁₀ UFC ⁺ /ml) | Lactobacilos (Log ₁₀ UFC/ml) |
|----------------------------------|--|---|
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ | 4,7 (b)* | 5,2 (b) |
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | 5,2 (b) | 4,6 (b) |
| LIXIVIADO BOVINO | 4,0 (a) | 3,5 (a) |
| TESTIGO | 3,7 (a) | 3,0 (a) |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Como se observa en el Cuadro 25, la población de actinomicetes, hongos y lactobacilos aumentó significativamente con el tiempo.

Cuadro 25. Población de actinomicetes, hongos y lactobacilos en hojas de café tratadas con lixiviados de vermicompost al inicio del ensayo (día 1) y al final (día 20).

| Tiempo | Actinomicetes (Log ₁₀ UFC ⁺ /ml) | Hongos (Log ₁₀ UFC/ml) | Lactobacilos (Log ₁₀ UFC/ml) |
|--------|--|-----------------------------------|---|
| DÍA 1 | 3,3 (a)* | 2,1 (a) | 2,9 (a) |
| DÍA 20 | 5,5 (b) | 3,7 (b) | 5,2 (b) |

⁺UFC: Unidades formadoras de colonias

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Cabe mencionar que en los lixiviados estudiados no se observó la presencia de *E. coli*, esto concuerda con lo reportado por García *et al.* (2008), quienes no encontraron la presencia de las bacterias *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella* en varios lixiviados de vermicompost bovino evaluados; lo cual sugiere que la acción microbiana de los organismos presentes en la cama de lombrices y su posterior paso por el tracto digestivo de las lombrices actúan como un biofiltro de los microorganismos patógenos, así mismo el alto valor del pH de los lixiviados no permitió el crecimiento de *E. coli*.

4.2.2.2 Efecto de la aplicación de los lixiviados de vermicompost en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo del cafeto.

La aplicación de los lixiviados de vermicompost sobre las hojas de cafeto no tuvo un efecto significativo sobre la incidencia y severidad de la enfermedad del ojo de gallo, con respecto al testigo (Cuadro 26). Sin embargo, se observa una tendencia a un menor porcentaje de hojas enfermas en los tratamientos inoculados con los lixiviados de broza de café y de broza de café con residuos de camarón.

Cuadro 26. Efecto de la inoculación de las hojas de cafeto con lixiviados de vermicompost diluidos al 10% sobre el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo.

| Tratamiento | Incidencia (% hojas enfermas) | Severidad (% área foliar dañada) |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ | 4 (a)* | 1,2 (a) |
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ CON CAMARÓN | 8 (a) | 0,8 (a) |
| LIXIVIADO BOVINO | 16 (a) | 1,3 (a) |
| TESTIGO | 24 (a) | 0,8 (a) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En este ensayo la infección de las hojas de cafeto con la enfermedad del ojo de gallo fue baja inclusive en el tratamiento testigo (Figura 5), comparada con los resultados obtenidos en las pruebas de supresión con los tés de vermicompost de estiércoles y los tés de vermicompost de

broza de café, a pesar de que se mantuvieron condiciones similares a las utilizadas para los otros ensayos.

Una posible explicación es que la cepa de *M. citricolor* utilizada en este ensayo ya tenía algunos meses de estar en refrigeración, y cuando se empezó a reproducir de nuevo la esporulación y el crecimiento de micelio fue que el observado en los ensayos anteriores, por lo cual se podría creer que la virulencia de la cepa se vio afectada por el tiempo de almacenamiento. Además, Barquero (2012)⁶ mencionó que en pruebas realizadas en el ICAFE inoculando hojas de cafeto con cabecitas de *M. citricolor* la capacidad de infección de las cabecitas es muy diversa, algunas son muy infectivas y otras nunca germinan. Además, existen otros factores que influyen en el éxito de la infección de las cabecitas como el tipo de hoja utilizada, si eran hojas nuevas o adultas, si las plantas estuvieron en el campo o en invernadero, ya que inclusive hay respuestas variables entre hojas de una misma planta.

Según Litterick *et al.* (2004) los lixiviados de compost se pueden utilizar para el control de plagas y enfermedades, puesto que tienen una gran abundancia y diversidad de microorganismos benéficos. Además, contienen químicos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de hongos patógenos.

En las hojas de cafeto inoculadas con los lixiviados de vermicompost de broza de café y broza de café con camarón se presentó el menor número de lesiones esporuladas y número de cabecitas con respecto al tratamiento testigo. El lixiviado bovino no difirió estadísticamente de ninguno de los tratamientos (Cuadro 27).

⁶ BARQUERO, M. 2012. Manejo del hongo *M. citricolor in vitro*. (entrevista). San José, UCR.

Cuadro 27. Efecto de la aplicación de lixiviados de vermicompost diluidos al 10% sobre las hojas de cafeto en el desarrollo de la enfermedad del ojo de gallo.

| Tratamiento | N° lesiones esporuladas | N°cabecitas |
|-------------------------|-------------------------|-------------|
| LIXIVIADO BROZA CAFÉ | 8 (a)* | 8 (a) |
| LIXIVIADO BROZA CAMARON | 8 (a) | 8 (a) |
| LIXIVIADO BOVINO | 10 (ab) | 9,6 (ab) |
| TESTIGO | 16 (b) | 16,4 (b) |

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,10$).

Este resultado es prometedor, ya que los lixiviados de broza de café tuvieron un efecto inhibitorio sobre las estructuras de diseminación de la enfermedad en el campo, lo cual refleja el potencial de la utilización de los lixiviados de broza de café para combatir el ojo de gallo y reducir el inóculo de *M. citricolor* capaz de generar nuevas infecciones en las plantas.

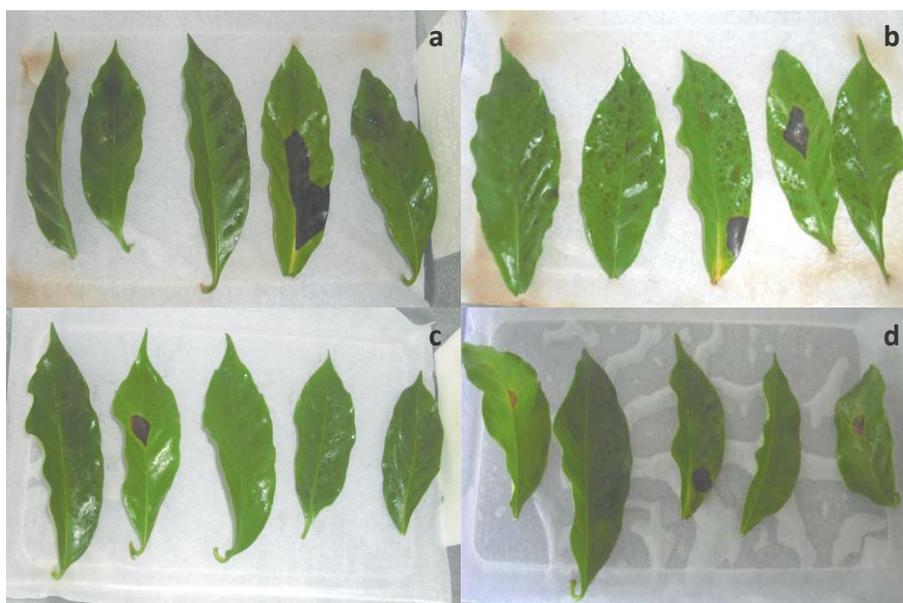


Figura 5. Lesiones de ojo de gallo en hojas de cafeto a los 20 días de ser tratadas con: (a) Lixiviado de vermicompost de broza de café, (b) Lixiviado de vermicompost de broza de café y desechos de camarón, (c) Lixiviado de vermicompost bovino, (d) Agua estéril Testigo.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La materia prima utilizada en la elaboración de los vermicompost para la obtención de lixiviados o preparar los tés influyó en las características químicas, microbiológicas y la capacidad de suprimir al hongo *M. citricolor*.

La aplicación de los lixiviados y tés de vermicompost hizo un aporte de microorganismos a las hojas de cafeto, las cuales tendieron a aumentar con el tiempo.

Se encontró la presencia de la bacteria *E. coli* en los diferentes tés de vermicompost no así en los lixiviados de vermicompost. Lo que implica que los lixiviados de vermicompost son inocuos por lo que podrían ser aplicados a plantaciones cuyo producto final es para consumo fresco tales como lechuga, tomate, pepino, entre otros; sin el riesgo de estar inoculando posibles bacterias patógenas capaces de causar enfermedades en los seres humanos. Sin embargo, los tés de vermicompost no fueron inocuos por lo cual se recomendaría primero evaluar la presencia de *E. coli*, antes de aplicarlos en algún cultivo para conocer su potencial de contaminarlo con bacterias patógenicas humanas.

El programa Image J fue una herramienta exitosa para determinar el área de la hoja y el área de las lesiones.

No se puede generalizar que todos los tés de vermicompost son efectivos en el combate de enfermedades, ya que el té de vermicompost de estiércol bovino tuvo un efecto en la disminución de la enfermedad del ojo de gallo, mientras que el té de vermicompost caprino favoreció el desarrollo del hongo *M. citricolor*.

La adición de quitina a los tés de vermicompost tuvo un efecto diverso, ya que en el té de vermicompost caprino la adición de quitina redujo la enfermedad con respecto al té de origen

caprino, mientras que en los tés de bovino y equino el enriquecimiento con quitina favoreció el desarrollo de *M. citricolor*.

En los tés de vermicompost de broza de café el enriquecimiento con desechos de camarón o la adición de quitina no mostraron un efecto significativo en la capacidad de supresión del té sobre el hongo *M. citricolor*, ya que en todos los tratamientos con estos tés el hongo se vio favorecido.

Los lixiviados de vermicompost de broza de café con y sin desechos de camarón diluidos al 10% mostraron un efecto positivo en la supresión de la enfermedad del “ojo de gallo” en condiciones de laboratorio.

En futuras investigaciones se podría dar continuidad al estudio del té de vermicompost bovino con y sin la adición de melaza, para ver su efecto en las poblaciones de microorganismos incluyendo *E. coli* y su efecto en la capacidad de supresión del ojo de gallo del cafeto.

Se podrían evaluar distintas concentraciones de los lixiviados de broza de café para el combate del “ojo de gallo” del cafeto en condiciones de laboratorio, invernadero y campo.

Sería recomendable analizar el efecto de la aplicación del té de vermicompost bovino y los lixiviados de broza de café en hojas infectadas previamente con el hongo *M. citricolor*.

Evaluar otras variables que podrían influir en la capacidad de supresión de los lixiviados y tés de vermicompost tales como la relación C/N de los vermicompost y la conductividad eléctrica de los abonos líquidos.

6. LITERATURA CITADA

- AL-MUGHHRABI, K.I.; BERTHELEME, C.; LIVINGSTON, T.; BURGOYNE, A.; POIRIER, R., VIKRAM, A. 2008. Aerobic compost tea, compost and a combination of both reduce the severity of common Scab (*Streptomyces scabiei*) on Potato tubers. *Journal of Plant Sciences* 3(2):168-175.
- ALVARADO, G.; BRICEÑO, J.A. 2002. Metodologías recomendadas para el análisis de abonos orgánicos. En *Materia Orgánica: Características y uso de los insumos en suelos de Costa Rica*. 1 ed. EUNA. Heredia, Costa Rica. P 89-95.
- ARANCON, N.Q.; C. A. EDWARDS, R. DICK, L. DICK. 2007. Vermicompost tea production and plant growth impacts. *Biocycle*. 48: 51-52.
- ARAUZ, L. F. 2011. *Fitopatología un Enfoque Agroecológico*. 2.ed. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 519p.
- AVELINO, J.; TOLEDO, J.; MEDINA, B. 1993. Desarrollo del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en una finca del norte de Guatemala y evaluación de los daños provocados por esta enfermedad. XVI. Simposio sobre Caficultura Latinoamericana. Nicaragua, IICA. P 1-8.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. 1982. *Biological control of plant pathogens*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 433p.
- BARQUERO, M. 2011. Consideraciones sobre la relación beneficio/costo del control químico del ojo de gallo. ICAFE. Instituto del café de costa rica Revista informativa I-2011. 5 (1): 1-4
- BERTSCH, F. 1998. *La fertilidad de los suelos y su manejo*. ACCS, San José, Costa Rica. 157p.

- BLAKEMAN, J. P; FOKKEMA, N. J. 1982. Potential for biological combate of plant disease on the phylloplane. *Annual Reviews Phytopathology* 20: 167-192.
- BOLLO, E. 1999. Lombricultura: una alternativa de reciclaje. Soboc Grafic. Quito, Ecuador. 149 p.
- BONILLA, G. J. 1980. Estudio del ojo de gallo causado por *Mycena citricolor*. III Simposio Latinoamericano sobre caficultora, Honduras, IICA. P 177-188.
- BORBON, O. 1998. Tecnología del café. Manejo Integrado del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en diferentes zonas de Costa Rica. En: Memoria IX Seminario Resultados y Avances de Investigación 1998.
- BORBON, O. 1999. Consideraciones sobre la problemática del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en Costa Rica 1999. En: Memoria Manejo de Cultivos XI Congreso Nacional Agronómico de Recursos Naturales, IV Congreso Nacional de Fitopatología y V Congreso Nacional de Entomología. Editorial EUNED. San José, Costa Rica. Volumen II. Pp 423-452.
- BORBON, O., MORA, O., CISNEROS, B., OBANDO, J. J., RODRIGUEZ, G., ALPIZAR, J. M., ARIAS, J. E., 1997. Tecnología del café. Estudios de control químico y manejo del ojo de gallo (*Mycena citricolor*). En: Memoria Resultados y Avances de Investigación 1997. CICAFAE – ICAFE.
- BULLER, A. H. R.; VANTERPOOL, T. C. 1926. The bioluminiscense of *Omphalia flavida* a leaf- spot fungus. *Phytopathology* 16: 63.
- CALVO, S. 1988. Combate biológico de *Mycena citricolor* mediante el uso de bacterias parasíticas en café establecido. Tesis Lic. Ing, Agr. UCR . San José, Costa Rica. 40p.
- CARVAJAL, B. F. 1939. Ojo de gallo (*Omphalia flavida*). *Revista del Instituto de Defensa del Café de Costa Rica* 7 (52): 535-576.

- CASTRO, A.; HENRIQUEZ, C.; BERSTCH, F. 2009. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía costarricense* 33(1): 31-43.
- CASTRO, L.; FLORES, L.; URIBE, L. 2011. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne Incognita* en tomate a nivel de invernadero. *Agronomía Costarricense* 35(2): 21-32.
- CHAVES, O. C., 1996. Características biológicas del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cultivo del café en Costa Rica y su control. Hojas divulgativas. San José, CR, Sandoz Agro S. A. 4p.
- CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E. and EATON, A.D. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. American Public Health Association, Washington, 1998; 1325 p.
- COHEN, E. 2001. Chitin synthesis and inhibition: a revisit. *Pest Management Science*. 57: 946-950.
- CURLING, F. 1986. Combate biológico del ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk y Curt)Sacc. por medio de *Trichoderma harziarum* Rifai, en el café. Tesis Lic. Ing. Agr. UCR. San José, CR. 48pp.
- DI RIENZA, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2008. InfoStat versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOMÍNGUEZ J.; EDWARDS, E.; SUBLER, S. 1997. A comparison of vermicomposting and composting. *BioCycle* 38(4):57-59.
- DOMINGUEZ, J.; GOMEZ, M.; LAZCANO, C. 2010. Propiedades bioplaguicidas del vermicompost. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* Número Especial 2: 373-383.

- DURAN, L.; HENRIQUEZ, C. 2007. Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense* 31(1): 41-51.
- DURHAM, S. 2006. *Agricultural Research*. Sep 2006. 54(9): 22. Disponible en: <http://www.ars.usda.gov/is/pr2006/060921.htm>
- ECHEVERRI, R.J. 1997. ¿Cómo vivir con el ojo de gallo? I Parte. *Noticiero del Café (Costa Rica)* 100: 1-4.
- FARFÁN, D. M; GUTIÉRREZ, C. 2009. Determinación de la actividad quitinolítica de cepas nativas de actinomicetos y su efecto antagónico sobre microorganismos fitopatógenos. Tesis de grado Microbiología Ambiental. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 154 p.
- FINCH, D. W.; FINCH, A. N. 1987. *Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina*. México D.F., Editorial Trillas. 188p.
- FORTIS, M. LEOS, J. A.; PRECIADO, P.; ORONA, I.; GARCIA, J. A.; GARCIA, J. L.; OROZCO, J. A. 2009. Aplicación de abonos orgánicos en la producción de maíz forrajero con riego por goteo. *TERRA Latinoamericana*, Vol 27, Nº 4 oct-dic 2009. Pp 329-336. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57313040007>
- GARCIA, R.C.; DENDOOVEN, L.; GUTIERREZ, F. A. 2008. Vermicomposting leachate (Word Tea) as liquid fertilizer for maize (*Zea mays* L.) forage production. *Assian Journal for Plant Sciences* 7 (4): 360-367.
- GONZALEZ, C. 2007. Como iniciarse en la lombricultura. En: *Memoria de la XIX Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED*. Noviembre, 2007. Universidad Juárez del Estado de Durango, Venecia, Durango, México. 26p.

- GONZALEZ, M. 2003. Cultivo in vitro de Ojo de gallo. Hoja Técnica. Nº 44. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica). (67): 91-93.
- HOITINK, H. A. J.; STONE, A. G.; HAN, D. J. 1997. Supresión de enfermedades de plantas mediante compost. *Agronomía Costarricense* 21(1): 25-33.
- ICAFE (Instituto del Café de Costa Rica). 2011a. Guía Técnica para el Cultivo del Café. ICAFE-CICAFE. Heredia, Costa Rica. 2011. 72 p.
- . 2011b. Informe sobre la actividad cafetalera de Costa Rica. Preparado en el Instituto del Café de Costa Rica para los Delegados al XL Congreso Nacional Cafetalero Ordinario San José, Costa Rica 4 de diciembre, 2011. 35pp.
- KOKALIS-BURELLE, N; BACKMAN, P. A; RODRIGUEZ-KABANA, R; PLOPER, L. D. 1992. Potential for biological control of early leafspot of peanut using *Bacillus cereus* and chitin as foliar amendments. *Biological Control*. 2: 321–328.
- LARCO, E. 2004. Preparación de lixiviados de compost y lombricompost. Hoja Técnica Nº 49. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) Nº 73. 79-82p. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1897E/A1897E.PDF>
- LITTERICK, A.M.; HARRIER, L.; WALLACE, P.; WATSON, C.A.; WOOD, M. 2004. The Role of Uncomposted Materials, Composts, Manures, and Compost Extracts in Reducing Pest and Disease Incidence and Severity in Sustainable Temperate Agricultural and Horticultural Crop Production—A Review. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23(6):453–479.
- LOH T.C; LEE Y.C; LIANG J.B; TAN, D. 2004. Vermicomposting of cattle and goat manures by *Eisenia foetida* and their growth and reproduction performance. *Biores. Technol.* 96: 111-114.

- LOPEZ, L. M. 1994. Uso de entomopatógenos y parasitoides como control biológico de plagas y enfermedades en el cultivo del café. MAG, Costa Rica. 97pp.
- LORES, M.; GOMEZ-BRANDON, M.; PEREZ-DIAZ, D.; DOMINGUEZ, J. 2006. Using FAME profiles for the characterization of animal waste and vermicompost. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2993-2996.
- MANSOUR, F.S.; EL-SAYED, GA.M. 2011. Soil Amendment and Seed Treatments with Compost Tea as Alternative Fungicide for Controlling Root Rot Disease of Bean Plants. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 21(1): 19-26.
- MELENDEZ, G. 2003. Fracción orgánica del suelo: Residuos orgánicos y materia orgánica del suelo. En: *Abonos orgánicos: Principios, aplicaciones e impacto en la agricultura*. CIA, UCR. San José, Costa Rica. P: 1-20.
- MENDEZ, R. 1937. Algunas enfermedades del cafeto. *Revista del Instituto de Defensa del Café de Costa Rica* IV (27-28): 504-507.
- MONTERROSO, D. 1998. Posibilidades de Manejo Integrado de la enfermedad "Ojo de gallo" del café. Hoja Técnica Nº24. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). Nº 47: i-iv.
- MORA, F. 1987. Combate Biológico del Ojo de Gallo (*Mycena citricolor*) Berk y Curt Saac, en café mediante bacterias antagonistas. Tesis Lic. Ing. Agr. San José, CR. UCR. 56 p.
- MORA, J. 1999. El papel del MAG en el combate del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cultivo de café. En: Memoria Manejo de Cultivos XI Congreso Nacional Agronómico de Recursos Naturales, IV Congreso Nacional de Fitopatología y V Congreso Nacional de Entomología. San José, Costa Rica, Editorial EUNED. Volumen II. pp 17-19.

- ; VARGAS, L. 1999. Manejo químico del efecto residual del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en café (*Coffea arabica*). Resumen 65. XI Congreso Nacional Agronómico/ IV Congreso Nacional de Fitopatología 1999. P 67.
- MORA, N. 2008. Agrocadena del café. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección Regional Huetar Norte, enero 2008. Disponible en: www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00080.pdf
- MORENO-CASELLES, J; MORAL, R; PEREZ-MURCIA, R; PEREZ-ESPINOSA, A; RUFETE, B. 2002. Nutrient value of animal manures in front of environmental hazards. COMMUNICATIONS IN SOIL SCIENCE AND PLANT ANALYSIS Vol. 33, Nos. 15–18, pp. 3023–3032, 2002.
- NIEVES, L. 2005. Cuantificación de la composición microbiológica de cuatro abonos orgánicos usando EM (microorganismos eficaces) como índice comparativo. Tesis Lic. Agronomía. EARTH. Costa Rica. 26 p.
- OKA, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendment. A review. Applied Soil Ecology 44: 101-115.
- OSORIO, L; PATIÑO, L. F; BUSTAMANTE, E; RODRÍGUEZ. P. 2004. Selección y evaluación de bacterias quitinolíticas provenientes de la zona de Urabá, para el control de la Sigatoka Negra. In. Boletín Técnico de Cenibanano. (6): 8-13.
- OTERO, O. 2010. “Producción y evaluación de vermicomposta en Hormigueros Sierra Nanchititla, México”. Tesis de Lic. Ciencias Ambientales. México. Universidad Autónoma del Estado de México. 52 p.
- PACHECO, F. 2003. Producción, utilización y algunos aspectos técnicos de los biofermentos. En: Abonos orgánicos: Principios, aplicaciones e impacto en la agricultura. CIA, UCR. San José, Costa Rica. P: 123-172.

- PAEZ, C. A. 1976. Factores que afectan el hiperparasitismo de *Trichoderma* spp., en el control biológico del ojo de gallo del café causado por *Mycena citricolor*. Tesis Lic. Ing. Agr. San José, CR. UCR. 77p.
- PALMER, A.K.; EVANS, K.J.; METCALF, D.A. 2010. Characters of aerated compost tea from immature compost limit colonization of bean leaflets by *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology* 109: 1619-1931.
- PAUL, E.; CLARK, F. 1996. *Soil microbiology and biochemistry*. 2 ed. Academic Press. San Diego, CA, USA. 340p.
- PRECIADO, P.; FORTIS, M.; GARCIA, J.L.; RUEDA, E.; ESPARZA, J.R.; LARA, A.; SEGURA, M.A.; OROZCO, J. 2011. Evaluación de soluciones nutritivas orgánicas en la producción de tomate en invernadero. *Interciencia* 36 (9): 689-693.
- QUESADA, D. 1996. Efecto del adherente y época de aplicación de una bacteria antagonista en el combate de ojo de gallo (*Mycena citricolor*) Bert y Curt Sacc. Tesis Lic. Ing. Agr. San José, CR. UCR. 41pp.
- RAMIREZ, V.C. 1994. Estudio preliminar sobre el efecto del manejo nutricional y de la luz en el contenido de cera cuticular, y el uso de coberturas foliares en la infección de *Mycena citricolor* (Berk. y Curt.)Sacc. en hojas de cafeto. Tesis Lic. Ing. Agr. San José, CR. UCR. 70p.
- RAO, D. V., TEWARI, J. P. 1988. Suppression of the symptoms of American leaf spot of coffee with calcium hydroxide. *Plant disease* (EEUU) 72(8): 688-690.
- ROBERT, A. 1999. El ojo de gallo (*Mycena citricolor*), una enfermedad muy importante en el café de altura en Costa Rica. XI Congreso Nacional Agronómico/ IV Congreso Nacional de Fitopatología. Conferencia 56. Pg: 13-15.

- RODRÍGUEZ, M.A; CÓRDOVA, A. 2006. Manual de compostaje municipal. Tratamiento de residuos sólidos urbanos. SEMARNAT, INE, GTZ. México. 102 p.
- RODRIGUEZ, R.; MORGAN, G. 1987. Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonist. *Plant and Soil* (100): 237-247.
- RYAN, M.; WILSON, D.; HEPPELY, P.; TRAVIS, J.; HALBRENDT, N.; WISE, A. 2005. Compost Tea potential still brewing. *BioCycle* 46(6):30-32.
- SALAS, A. C. HANCOCK, J.G. 1972. Production of the perfect stage of *Mycena citricolor* (Berk and Curt) Sacc. *Hilgardia* 41(9): 213-234.
- SALAZAR, L.M.; PATIÑO, L.F.; BUSTAMANTE, E. 2006. Sustratos foliares para el incremento de bacterias quitinolíticas y gluconolíticas en la filosfera de banano. *Revista Facultad Nacional de agronomía-Medellín* 59(2): 3449-3465. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=179914075004>
- SANCHEZ-YAÑEZ, J. M. 2006. Las interacciones microbianas, su importancia para el suelo y la agricultura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich, México. Disponible en: <http://www.monografias.com>
- SANG-LANG WANG, K; JAU-REN HWANG. 2001. Microbial reclamation of shellfish wastes for the production of chitinases. *Enzyme and Microbial Technology*. 28: 376-382.
- SASTOQUE, L. 2005. Aislamiento y selección de microorganismos productores de quitinasas a partir de residuos de concha de camarón con potencial biocontrolador. Tesis grado Microbiólogo Industrial, Agrícola y Veterinario. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá Colombia. 118p.

- ; MERCADO, M; MARTÍNEZ, M. M; QUEVEDO, B; PEDROZA, A. M. 2007. Producción de quitinasas extracelulares con una cepa alcalófila halotolerante de *Streptomyces* sp. aislada de residuos de camarón. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 6 (2): 137-146.
- SCHUEJERELL, S. 2003. Understanding how Compost Tea can control disease. BioCycle 44 (2): 20, 26.
- ; MAHAFFEE, W. 2002. Compost Tea: Principles and Prospect for Plant Disease Control. Compost Science and Utilization. 10 (4):313-338.
- SILES, J. 1997. Producción de abono orgánico con pulpa de café mediante el lombricompostaje. CATIE. Postgrado, Turrialba, Costa Rica. 93pp.
- SOTO, G. 2003. Abonos orgánicos: definiciones y procesos. En: Abonos Orgánicos: Principios, características e impacto en la agricultura. CIA. UCR. San José, CR. 21-48 p.
- SOIL AND PLANT ANALYSIS COUNCIL. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. Ed. K Yash. CRC Press. Washington DC. 320 p.
- TMECC, 2002. Test methods for the examination of composting and compost. The Composting Council Research and Education Foundation. Disponible en: www.compostingcouncil.org
- TEWARI, J. P. 1990. Mecanismo de patogénesis del ojo de gallo causado por *Mycena citricolor*. Taller regional sobre roya, ojo de gallo y otras enfermedades del cafeto. Resúmenes IICA-PROMECAFE, Costa Rica. 48 p.

- UMAÑA, G.; VARGAS, L.; GONZALEZ, M.; VARGAS, E. 1990. Epidemiología del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en dos zonas cafetaleras del Costa Rica. Taller Regional sobre roya, ojo de gallo y otras enfermedades del cafeto. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, 48 p.
- URIBE, L. 2003. Calidad Microbiológica e inocuidad de abonos orgánicos. En Abonos Orgánicos: Principios, aplicaciones e impacto en la Agricultura. CIA. UCR. San José, CR. p: 179-197.
- URIBE, L.A. 2007. Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filosfera de mora. Tesis de grado, Pontificia Universidad javeriana. Bogotá, Colombia 154pp.
- URIBE, L.; CASTRO, L. 2010. Calidad biológica e inocuidad de abonos orgánicos. En XIII Congreso Agropecuario y Forestal CONAGROF. 4-6 Agosto 2010, CR.
- VANDEVIVERE, P.; RAMIREZ, C. 1995. Microorganismos y nutrimentos en abonos orgánicos: bioensayo microbiano para determinar los nutrimentos disponibles en abonos orgánicos. Boletín Técnico de la estación experimental Fabio Baudrit M. 28(2): 90-96
- VARGAS, E. 1984. Interacciones de tratamiento biológico y químico en el combate del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cafeto. Agronomía costarricense 8(2):91-97.
- , 1996. Opciones al uso de fungicidas en el combate del ojo de gallo en café. En: Memoria X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales, III Congreso Nacional de Fitopatología, II Congreso Nacional de Suelos. San José, Costa Rica. Editorial EUNED. Volumen II. Pp 3-6.
- , VARGAS, A., UMAÑA, G., GONZALEZ, M. 1990. Descripción de *Mycena citricolor* (Berk. y Curt) Sacc. Taller Regional sobre roya, ojo de gallo y otras enfermedades del cafeto. San José, CR, UCR. 48 pp.

- VARGAS, L.G., 2004. Bases epidemiológicas para el desarrollo de un sistema de pronóstico en Ojo de Gallo (*Mycena citricolor* Berk. Y Curt) Sacc. en cafeto (*Coffea arabica*). Tesis MSc. San José, CR. UCR. 118p.
- VARGAS, L.G.; SANCHEZ, E.; IWASAWA, H. 1999. Microscopía electrónica de barrido del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cultivo de café. Resumen 29. En: XI Congreso Nacional Agronómico/ IV Congreso Nacional de Fitopatología 1999. Pg:27.
- VILLEGAS, W. 2011. Caficultores se preparan ante el cambio climático. Revista informativa ICAFE I-2011. 5 (1): 7-8.
- WANG, A. 1988. Variation in *Mycena citricolor* of coffee in Costa Rica. MSc. Thesis, University of Alberta, Alberta, Canada. 86 p.
- WANG, A.; AVELINO, J. 1999. El ojo de gallo del cafeto *Mycena citricolor*. En: Desafíos de la caficultura en Centroamérica. Centro de Investigación en Protección de Cultivos, Universidad de Costa Rica. Centre de Cooperatio Internationale en Recherche Agronomique pour le Developpement, France. IICA-PROMECAFE. Editores: B. Bertrand y B. Rapidel. Pp 243-260.
- WELLMAN, F.L. 1950. Disemination of *Omphalia* leaf spot of coffee. Turrialba (Costa Rica) I (1): 12-27.
- WOBBROCK, J.; FINDLATER, L.; GERGLE, D.; HIGGINS, J. 2011. The Aligned Rank Transform for nonparametric Factorial Analyses Using Only ANOVA Procedures. CHI 2011, May 7-12, 2011, Vancouver, BC, Canada. 4p.

7. APÉNDICE

1. Preparación de los vermicompost y obtención de los lixiviados

El proceso de producción del vermicompost a base de broza de café se realizó en la Cooperativa Coopepalmares. Para la alimentación de las lombrices se utilizó broza que fue composteada durante 30 días, los volteos se realizaron tres veces por semana utilizando un BOB CAT (Figura 1). El material composteado se aplicó a razón de 20 kilos por metro cuadrado de lecho de lombriz cada semana, formando una capa de 10 centímetros de alto. A los 8 días se recolectó el vermicompost. En el caso del vermicompost de broza de café enriquecido con camarón, cada semana se adicionó además de la broza, un kilo de cáscara de camarón por metro cuadrado de lecho de lombriz (estos procesos están registrados con los procedimientos que son requisitos en la Norma ISO 14000 2004) (Vargas 2010⁷).



Figura 1. Preparación del vermicompost de broza de café. (a) Composteo de la broza de café por 30 días, (b) cama de lombrices para el vermicomposteo por 8 días.

⁷ VARGAS, F. 2010. Preparación de los vermicompost de broza de café. (entrevista). Palmares, CR. Coopepalmares.

Las camas de lombrices se mantuvieron con una humedad al 60% por medio de regaderas microaspersoras de agua, con el fin de regular la temperatura y mantener un ambiente adecuado para la alimentación y reproducción de las lombrices. El drenaje del lixiviado del vermicompost de broza se recolectó en un tanque de 5 000 litros de capacidad, mientras que el lixiviado de la cama de lombrices con vermicompost de broza de café con desechos de camarón se recolectó en un recipiente aparte (Vargas 2010).

Los vermicompost de estiércoles se prepararon en la Estación Experimental Alfredo Volio, para lo cual se utilizaron camas de lombrices formadas por una estructura de block de aproximadamente 1,5m x 1,5m con un piso de plástico y manteniendo una pequeña pendiente para facilitar la recolección de los lixiviados en el canal recolector (Figura 2). En cada cama se colocó una capa pequeña de vermicompost a la que se adicionaron dos kilos de lombriz y semanalmente se agregaron entre 10 y 12 kilos de estiércol fresco. La preparación del vermicompost a base de estiércol bovino, se realizó disponiendo la boñiga en tres líneas sobre la cama de vermicompost, mientras que en el caso del vermicompost a base de excretas de equino y caprino éstas se distribuyeron uniformemente en toda la cama. La boñiga se dispuso de esta manera ya que, al tratarse de un material con mucha humedad al ser aplicado de manera uniforme podría limitar la disponibilidad de oxígeno (Mora 2010⁸).

En los tres casos las lombrices se alimentaron durante dos meses. El contenido de humedad de las camas se mantuvo utilizando un sistema de riego por aspersión, la cual se verificó según el método propuesto por Ferruzi (1986), el cual consiste en comprimir un puñado del material con la mano y comprobar que no suelta agua, en este caso la humedad correspondería a un 70-80%. Transcurrido ese tiempo las camas de lombrices se dejaron en reposo por un mes previo a su recolección (Mora 2010).

⁸ MORA, D. 2010. Elaboración de los vermicompost de estiércoles. (entrevista). Ochoмого, CR. UCR.



Figura 2. Estructura utilizada en la elaboración de las camas de lombrices para el vermicompostaje de los estiércoles y recolección de los lixiviados.

2. Metodología para los análisis microbiológicos y de estabilidad de los abonos orgánicos.

2.1. Recuentos de microorganismos en diferentes sustratos.

Se pesó con una espátula estéril 10 g de suelo y se colocó en una botella que contenía 90 mL de agua destilada estéril. En el caso de líquidos se inocularon 10 ml de la muestra en 90 mL de agua estéril.

En la cámara de transferencia se hicieron diluciones seriadas 1:10 de las muestras obtenidas anteriormente. Para ello se adicionaron utilizando una micropipeta, 1 mL de la muestra diluida al próximo tubo que contenía 9 mL de agua estéril.

A partir de las diferentes diluciones se transfirió una alícuota de 100 μ l de cada dilución a los respectivos platos con los medios de cultivo y las diluciones que se utilizaron (Cuadro 1).

Cuadro 1. Medios de cultivo y diluciones utilizados en los recuentos de microorganismos.

| Recuento | Dilución en tubo | Dilución en plato | Medio de cultivo |
|---------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Hongos | $10^2, 10^3, 10^4$ | $10^3, 10^4, 10^5$ | PDA |
| Bacterias y Actinomicetes | $10^3, 10^4, 10^5$ | $10^4, 10^5, 10^6$ | Albuminato de sodio |
| Levaduras | $10^2, 10^3, 10^4$ | $10^3, 10^4, 10^5$ | Extracto de Malta |
| Lactobacilos | $10^1, 10^3, 10^5$ | $10^2, 10^4, 10^6$ | MRS |

Las asas de Digrafsky se desinfectaron por flameo después de sumergirlas en alcohol de 95%. Luego, se colocó el plato petri sobre el plato giratorio, se levantó la tapa y se extendió la alícuota con el asa. Los platos se invirtieron e incubaron a temperatura ambiente.

El conteo de las unidades formadoras de colonias se realizó aproximadamente a los cuatro días para hongos, levaduras y lactobacilos; y a los 8 días para bacterias y actinomicetes.

2.2. Determinación de Coliformes Fecales y *Escherichia coli* en abonos orgánicos líquidos y sólidos.

El número más probable de coliformes (NMP) presentes en una muestra está basado en fórmulas de probabilidad y es un estimado de la densidad promedio de bacterias coliformes. Deriva de los resultados obtenidos al sembrar una porción de la muestra en caldos de cultivo apropiados, que contienen lactosa y campanas invertidas que permiten la observación de la presencia de CO₂, a partir de la lactosa. Después de incubar los tubos, se examinó la presencia de crecimiento y gas (tubos positivos).

Se inoculó un alícuota de 1 mL de los abonos, los téis de compost y los lixiviados, en cinco tubos de caldo lauril triptosa (CLT) con campanas de Durham para detectar la producción de gas. Los tubos inoculados se incubaron a 35°C por 48 horas, la lectura de la presencia de gas se hizo a las 24 y 48 horas. Si había gas en alguno de los tubos, la prueba se consideraba positiva.

Los tubos positivos se transfirieron al medio caldo bilis verde brillante. Los tubos que presentaron producción de gas a las 24 o 48 horas de incubación a 35°C, se consideraron positivos.

Los tubos procedentes de la prueba de coliformes fecales se subcultivaron en caldo triptona y se incubaron 24 horas a 44,5°C para evaluar la formación de indol, para ello se adicionó 0,5 mL de xilol, se agitó y se adicionó 0,5 mL de L Naftol. Una prueba positiva era indicada por la formación de una coloración rosada en la interfase (Anillo rojo después de la adición del L-Naftol).

2.3. Determinación de la estabilidad de abonos orgánicos

Se pesó 10g del abono que se secó a 70° C durante 1 día para determinar el peso seco. Las muestras de vermicompost se preincubaron a temperatura ambiente durante 3 días. Se reajustó el contenido de humedad al 70-85%.

Se pesaron 20g del abono por duplicado en beakers y se colocaron en la jarra de incubación. Dentro de la jarra se colocó un recipiente con 10 mL de agua y otro con 20 ml de NaOH 1 Molar.

Se prepararon 4 blancos colocando 4 beakers que contenían 20 ml de NaOH 1M en la jarra de incubación. El envase se cerró herméticamente y se incubó a 35°C. Posteriormente, se determinó la cantidad de CO₂ absorbida por el NaOH durante un período de 4 días, para ello se adicionó al recipiente con NaOH 20 mL de BaCl. Se transfirió cuantitativamente a un erlenmeyer y se adicionaron 3 gotas de fenoftaleína. La solución se tituló utilizando HCl 0,5M.

Cálculos: Estabilidad

$$\text{CO}_2 \text{ (mg CO}_2 \text{ g}^{-1}\text{SV d}^{-1}\text{)} = [(B-V) \times (M_{\text{HCl}} E)]: [\text{Pf} \times \text{UM}]$$

B= mL de HCl consumidos al titular el NaOH del blanco.

V= mL de HCl consumidos al titular el NaOH de la muestra.

M= Molaridad del HCl

E= Peso equivalente del C en el CO₂.C del NaOH

Pf= Peso fresco de la muestra

UM= Unidad de masa, fracción de sólidos volátiles determinada a 550°C .

t= Duración de la incubación (días)

SV= Sólidos volátiles. Se colocó la muestra en una mufla (500 °C) y se calculó el porcentaje de sólidos volátiles (g VS g⁻¹ compost).