

RELACIÓN DE *Glomus manihotis* Y *G. fasciculatum* CON EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE CAFÉ Y LA SEVERIDAD DE LA MANCHA DE HIERRO

Óscar Adrián Guzmán-Piedrahita*; Carlos Alberto Rivillas-Osorio**

RESUMEN

GUZMÁN P., O.A.; RIVILLASO., C.A. Relación de *Glomus manihotis* y *G. fasciculatum* con el crecimiento de plantas de café y la severidad de la mancha de hierro. Cenicafé: 58(3):236-257. 2007.

Chapolas de la variedad Caturra y la Línea CX2720 se inocularon con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* y se sembraron en un sustrato estéril (Turba+Lapilli). Sesenta días después de haber inoculado las dos especies de Micorrizas Arbusculares (MA), se inoculó *C. coffeicola* en tres tiempos de inoculación (90, 120 y 150 días después de asociadas las plantas con las MA). La concentración del hongo patógeno fue de 15.000 conidios/mL de agua aplicado mediante el sistema de aspersión. El efecto de las variedades (2) y los tiempos de inoculación del hongo patógeno (3) se evaluó mediante un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial 2 X 3 + 6 testigos. Las plantas asociadas con cada una de las MA, antes y después la inoculación con *C. coffeicola*, no presentaron diferencias estadísticas en la colonización de las raíces y en la biomasa, pero sí mostraron esas diferencias significativas con respecto a los testigos. Igualmente, esas plantas presentaron menores tasas de desarrollo de la mancha de hierro en relación con los testigos. En las plantas asociadas con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* e inoculadas con *C. coffeicola*, la severidad y las hojas caídas en la variedad Caturra tuvieron un valor de 10,3% y 38 hojas, y en la Línea CX2720 este valor fue de 7,35% de severidad y 13 hojas caídas. Estas plantas fueron estadísticamente diferentes a los testigos que presentaron una severidad de 100% en la variedad Caturra y 67,37% en la Línea CX2720, con 40 hojas caídas para ambas variedades. El período de incubación (PI) de *C. coffeicola* en las plantas tratadas con las MA en los tres tiempos de inoculación fue de 19 días, lo que indica que no hubo efecto del tiempo de la asociación de las micorrizas con la presencia del hongo patógeno.

Palabras clave: *Cercospora coffeicola*, período de incubación, Micorrizas Arbusculares, severidad, *Coffea arabica*.

ABSTRACT

Coffee seedlings of the Caturra variety and the CX2720 Line were inoculated with *G. manihotis* or *G. fasciculatum* and sown in a sterile substrate (Peat + Lapilli). Sixty days after having inoculated both Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) *C. coffeicola* was added using three times of inoculation (90, 120 and 150 days after micorrhizal association). The pathogenic fungus concentration was 15.000 conidia/mL of water applied through a sprinkling system. The effect of the varieties (2) and the inoculation times (3) of the pathogen fungus were evaluated using a completely randomized design in a factorial arrangement 2 X 3 + 6 controls. The plants associated with each species of AMF before and after the inoculation with *C. coffeicola* did not exhibit significant statistical differences neither in both root colonization nor in the biomass, but they were significantly different with respect to the controls. In those plants associated with *G. manihotis* or *G. fasciculatum* and inoculated with *C. coffeicola* the severity and defoliation in Caturra variety had a value of 10.3% and 38 fallen leaves whereas in CX2720 Line this value was 7.35% of severity and 13 fallen leaves. These plants were statistically different regarding the control which exhibited a severity of 100% in the Caturra variety and 67.37% in CX2720 Line with a value of 40 fallen leaves for both varieties. The incubation period (IP) of *C. coffeicola* in coffee plants treated with the AMF in the three times of inoculation was 19 days, result that indicates that there was no effect of the time of the micorrhizal association with the presence of the pathogen presence.

Keywords: *Cercospora coffeicola*, incubation period, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, severity, *Coffea arabica*.

* Investigador asociado. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, hasta el 30 de abril de 2007. Chinchiná, Caldas, Colombia.

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

Una de las principales enfermedades en el cultivo de café es la mancha de hierro (MH), producida por un hongo parásito facultativo (5), que presenta en su ciclo de vida dos estados reproductivos, el estado sexual o teleomorfo causado por *Mycosphaerella coffeicola* (*M. coffea*) y el estado asexual o anamorfo causado por *Cercospora coffeicola*, Berk y Cooke (*C. coffea*) (1, 5, 17, 29). Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en la mayoría de los países cafeteros, y en la etapa de almácigo del café ocasiona infección y defoliación y en el campo causa lesiones en hojas y frutos. Esta enfermedad produce en los frutos pequeñas lesiones circulares de color pardo claro o marrón rojizo, de 1 a 3mm de diámetro, las cuales se desarrollan hasta unirse, y finalmente, necrosan los tejidos. El centro de la lesión se caracteriza por un color blanquecino o grisáceo, que en su conjunto está constituido por los conidióforos y conidios del hongo, rodeado por un anillo rojizo. En la parte externa de la lesión, el tejido forma un halo amarillento que contrasta con el color verde del tejido sano (1, 7, 10, 12, 17, 18, 29).

El principal daño causado por *C. coffeicola* en el almácigo es la defoliación. Las hojas enfermas se caen prematuramente, y disminuye el vigor de las plantas hasta ocasionar su muerte, cuando es muy alta la severidad de esta enfermedad (17, 36, 53). Los niveles de defoliación pueden llegar hasta el 90% en plantas de seis meses de edad, que se han desarrollado en suelos con bajo contenido de nutrientes, a plena exposición solar y sin la aplicación de fungicidas. Cuando el hongo ataca a los almácigos que se desarrollan bajo sombrío, la defoliación se reduce en un 20% en comparación con los almácigos que crecen a libre exposición solar (7, 17). Cuando la enfermedad ataca plantas establecidas en el campo, se produce un deterioro de la calidad de los frutos, asociada con pérdidas de peso, con la producción de un alto porcentaje de

café pasilla y con deficientes factores de conversión (1, 17, 29).

Como alternativa para favorecer la toma y asimilación de los nutrientes minerales del suelo están las Micorrizas Arbusculares (MA), que son un grupo de hongos del suelo que forman simbiosis con las raíces de las plantas (13, 43, 48, 50). En éstas, el micelio del hongo coloniza la corteza radical a modo de organismo endófito, y proyecta sus hifas tanto dentro como fuera de las raíces. La planta le suministra al hongo fuentes de carbono procedentes del proceso de la fotosíntesis, además de un nicho ecológico protegido de los fenómenos de antagonismo microbiano en la rizosfera, y el hongo le ayuda a la absorción y al transporte de macro y micronutrientes, especialmente los poco móviles como son el fósforo, el zinc y el cobre, lo cual lleva a un mayor aprovechamiento de los nutrientes provenientes de los fertilizantes y a un mayor crecimiento de las plantas (13, 19, 23, 30, 48). Las MA prestan otros beneficios a las plantas como una mayor capacidad de absorción de agua y tolerancia a la sequía, protección de las raíces contra patógenos presentes en el suelo y desintoxicar las plantas de metales pesados. En el suelo los beneficios son la estabilización de agregados de partículas de suelo, que permiten mejorar las propiedades físicas del mismo, y la estimulación de otros microorganismos simbióticos integrantes de la comunidad microbiana de la micorrizósfera (4, 19, 26, 31, 32, 48).

Las MA son un insumo biológico de importancia en el cultivo del café y en otros cultivos (6, 13, 45, 48). En varios trabajos de investigación, bajo diferentes condiciones edáficas y climáticas (en el invernadero y el campo), se ha demostrado que cuando el sistema radical de plantas de café está asociado con *Glomus manihotis*, se estimula

el crecimiento y la altura de las plantas, y se obtiene un mayor desarrollo de las raíces, lo cual permite una mayor absorción de nutrimentos tales como N, P, Ca y Mg, en comparación con otras especies de MA y con cafetos sin éstas (3, 16, 33, 34, 41, 42, 46). Leguizamón (28), encontró que plantas de café de la variedad Caturra que se inocularon con MA y a las cuales un mes después se les adicionó el nematodo fitoparásito *Meloidogyne incognita*, al realizar la evaluación de las raíces a los cinco meses, se registraron niveles de infección del 9% en las plantas tratadas mientras que los testigos tuvieron un 97% de infección. Así mismo, Castro (11) encontró que plantas de café de la Variedad Castillo® asociadas desde el momento de la siembra en el almácigo con *G. manihotis*, y después inoculadas con el agente causal de la llaga negra del cafeto (*Rosellinia bunodes*), no mostraron síntomas ni signos de esta enfermedad.

En el estado de almácigo, Joao y Rivera (27), Sánchez de P. (46) y Sánchez *et al.* (47), inocularon plantas de café variedad Caturra con *G. fasciculatum* en un suelo ferralítico rojo, en suelo fersialítico pardo + lombrinaza (5:1 y 7:1 v/v) y en un suelo fersialítico pardo rojizo, respectivamente, y encontraron mayores índices de crecimiento en estas plantas en cuanto a la altura, el diámetro del tallo, el número de pares de hojas, el área foliar y el peso seco de la parte aérea de la planta, en comparación con aquellas inoculadas con otras especies del género *Glomus* spp. Al hacer uso de las MA, se pueden llevar plantas sanas al campo con mejor respuesta a las condiciones abióticas, con la conservación del medio ambiente, y el aumento de las posibilidades de adecuados niveles de producción, con la subsecuente sostenibilidad del cultivo y la disminución en los costos de producción para el caficultor.

Debido a la poca información que se tiene en el uso de las MA como opción de manejo de patógenos aéreos en cultivos comerciales, se realizó esta investigación con el propósito de generar resultados que permitan contribuir al conocimiento del efecto de *G. manihotis* y *G. fasciculatum* en el crecimiento de plantas de café en el almácigo, y su relación con la incidencia y la severidad de la mancha de hierro (*C. coffeicola*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento y material vegetal. Esta investigación se realizó en plantas de café en la etapa de almácigo, en una casa de mallas situada en Cenicafé (Planalto), a una altitud de 1.400m, con un promedio de temperatura de 21,5°C, humedad relativa de 79,5% en promedio, y precipitación anual de 2.662mm.

Se utilizaron 390 chapolas de café, de las cuales 195 fueron chapolas de la variedad Caturra y 195 chapolas de la Línea CX2720, componente de la Variedad Castillo®.

Éstas se sembraron en bolsas de polietileno de 17 x 23cm, en un sustrato inerte esterilizado (Turba-Lapilli, relación 1:1 v/v), y al momento de la siembra, de manera aleatoria para las chapolas de ambas variedades, se seleccionaron 65 chapolas que se inocularon con la MA *Glomus manihotis*, otras 65 se inocularon con *G. fasciculatum*, y se dejaron 65 chapolas como testigo. Para cada MA y variedad se desarrollaron los mismos tratamientos (Tabla 1).

El inóculo de *G. manihotis* se obtuvo a través de cultivos multiespóricos (41), y el de *G. fasciculatum* fue el inóculo comercial Biocas (producido por la Secretaría de Agricultura del Casanare). El análisis químico

del sustrato Turba-Lapilli (expresado en base seca) presentó N (<0,10%), P (0,06%), K (0,07%), Ca (0,23%), Mg (0,30%), Fe (11.250ppm), Mn (77ppm), Zn (20ppm), Cu (8ppm) y B (40ppm).

Inoculación de las MA. La inoculación de cada una de las chapolas de café con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* se realizó utilizando 30g de inóculo completo por especie de MA. En el inóculo de *G. manihotis* la concentración de esporas por gramo de suelo fue de 52, con fragmentos de raíces colonizados en el 80%. En el inóculo de *G. fasciculatum* la concentración de esporas por gramo de suelo fue de 20. En la superficie del sustrato del almácigo se hizo el orificio de siembra, y en cada uno de éstos se depositó el inóculo, el cual se dejó en las paredes del orificio y en las raíces de las chapolas (41).

Riego. Después que las chapolas de café se inocularon con *G. manihotis* o con *G. fasciculatum* se regó el sustrato con agua de acueducto, hasta los 60 días, con un intervalo de 2 a 3 días, con el fin de mantener el suelo de los almácigos a capacidad de campo y favorecer la colonización de las MA. Las chapolas de café que no se inocularon con las MA (testigos), recibieron aplicaciones de la solución nutritiva de Hoagland (50%) (15), cada ocho días, desde la siembra de las plantas hasta el final del experimento. Cuando fue necesario, se realizaron riegos alternos con agua de acueducto (cada 2 ó 3 días), para mantener una adecuada humedad en las plantas. Para la determinación del volumen (mL) de agua por planta hasta los 60 días y del volumen (mL) de la solución nutritiva después de este período, se tuvieron como base los resultados de Rivillas (42), quien determinó el volumen de agua para el riego de las plantas en el almácigo con valores iniciales de 30mL por planta (en la primera semana) y valores finales de 200mL por planta (para la semana 26).

Después de 60 días de sembradas las chapolas de café, se realizó un muestreo destructivo de las plantas inoculadas con las MA. Para ello, por especie de MA y variedad, se tomaron aleatoriamente cinco plantas, para determinar el porcentaje de colonización. A partir de ese momento se iniciaron, con intervalo de ocho días, las aplicaciones en el sustrato de la solución nutritiva de Hoagland (50%), en las plantas inoculadas con *G. manihotis* o con *G. fasciculatum*, y se continuó aplicando en los testigos.

Aislamiento, incremento e inoculación de *C. coffeicola*. Para obtener el inóculo de *C. coffeicola* se tuvo en cuenta que en las hojas de café de las variedades Caturra y Colombia, el aislamiento de *C. coffeicola* que produce la más alta incidencia y severidad en las hojas, se aisló de la Subestación Experimental de Maracay (Quindío) (18, 37). Con base en ese resultado, se recolectaron en esta Subestación hojas de cafetos de la variedad Caturra (almácigo) infectadas con *C. coffeicola*, para luego aislar, purificar e incrementar el hongo en el laboratorio de Fitopatología de Cenicafé. Las hojas con síntomas característicos de mancha de hierro, se lavaron con agua de acueducto y se desinfectaron sumergiéndolas en agua destilada estéril (ADE) por 5min y luego se lavaron con ADE. Las hojas se colocaron en una cámara húmeda (completa oscuridad, temperatura de 24°C y humedad relativa del 100%) y 20 horas después, se observaron los conidios sobre las lesiones, y se transfirieron a cajas de Petri que contenían 20mL de medio de cultivo PDA estéril y acidificado (ácido láctico del 90%, pH 4,0). De las cajas con crecimientos puros, 15 días después se tomaron muestras y se transfirieron al medio de cultivo extracto de hojas de café y avena - agar (CAA), por ser selectivo para el crecimiento de *C. coffeicola* (37).

La colonia obtenida en el medio de cultivo PDA se mezcló con 10mL de agua destilada

estéril por 10s en un tubo de ensayo, de donde se tomaron diez alícuotas de 1mL cada una, que se dispersaron en las cajas de Petri con el medio de cultivo CAA. Las siembras (cajas de Petri) se ubicaron en un fitotrón y se expusieron a luz continua, con 20 lámparas de luz fluorescente de 20watts, ubicadas a 20cm de la superficie donde se encontraban las cajas. Durante 15 días, las cajas estuvieron en un ambiente a 24°C para la producción de conidios, y después de esto, se preparó la suspensión de conidios (21).

La inoculación de las plantas de café con *C. coffeicola* se realizó sobre el segundo y tercer par de las hojas, bien expandido, de arriba hacia abajo de la planta. Las hojas se inocularon por el envés con una suspensión de 15.000 conidios/mL de agua destilada estéril (36). A cada lado de la nervadura central, se hicieron las inoculaciones individuales de

manera uniforme a una distancia de 15cm entre el microaspersor y las hojas. Las plantas se llevaron a un cuarto oscuro y se ubicaron en una cámara húmeda durante 48 horas, y posteriormente, se dejaron 24 horas expuestas a una lámpara de luz blanca, para favorecer el secado de las hojas y su adaptación a la luz del día, antes de llevarlas a la casa de mallas. Después de estar allí, las hojas inoculadas con el patógeno se asperjaron con agua con un atomizador manual, hasta quedar húmedas. Esta actividad se realizó a las 8:00 a.m. y a las 5:00 p.m., durante 8 días.

Tiempos de inoculación de *C. coffeicola*. Después de la evaluación inicial de la colonización de las chapolas, por cada especie de MA, variedad y testigos, se asignaron aleatoriamente 60 plantas, y tres tiempos de inoculación de *C. coffeicola* (90, 120 y

Tabla 1. Descripción de los tratamientos. Plantas asociadas y sin asociar con *Glomus manihotis* o *G. fasciculatum*.

Tratamiento	Variedad	Inoculación de los microorganismos		
		<i>G. manihotis</i>	<i>G. fasciculatum</i>	<i>C. coffeicola</i> (días)*
1				90
2	Caturra	Al momento de siembra	Al momento de siembra	120
3				150
4				90
5	Línea CX2720	Al momento de siembra	Al momento de siembra	120
6				150
7				90
8	Caturra	Testigo sin MA	Testigo sin MA	120
9				150
10				90
11	Línea CX2720	Testigo sin MA	Testigo sin MA	120
12				150

150 días después de la siembra) (la unidad experimental fue la planta). Es decir, que por cada especie de MA se tuvieron 12 tratamientos, conformados por: dos variedades y en cada variedad tres tiempos de inoculación de *C. coffeicola*, y seis testigos comunes para ambas especies de MA y tiempos de inoculación. Para cada MA, el efecto de variedades y de tiempos de inoculación se evaluó bajo el diseño experimental completamente aleatorio en arreglo factorial 2 x 3 + 6 (Tabla 1).

Para determinar el porcentaje de colonización (técnica de Phillips y Hayman modificada por Rivillas, (41)) y el peso de la materia seca (peso seco), tanto de la raíz como de la parte aérea de la planta (muestreo destructivo), a los 90 días de sembradas las chapolas de café e inoculadas con cada MA, se tomaron diez plantas por tratamiento. Las otras diez plantas por tratamiento se inocularon con *C. coffeicola* (primer tiempo de inoculación).

Ocho días después de la primera inoculación con *C. coffeicola* y durante 12 semanas, cada dos días en las plantas inoculadas con el hongo se registró, por unidad experimental, el tiempo (días) transcurrido entre la inoculación y la aparición de síntomas del patógeno en, al menos, el 50% de las plantas inoculadas en la

unidad experimental (período de incubación). También se registró el porcentaje de área de las hojas afectadas por la mancha de hierro (índice de severidad) y el porcentaje de defoliación. Al cabo de las 12 semanas, a todas las unidades experimentales se les determinó la biomasa y el porcentaje de colonización, por medio de un muestreo destructivo. Igualmente se procedió para los otros dos tiempos de inoculación de *C. coffeicola*.

Las plantas asociadas con las MA para la primera (90 días), segunda (120 días) y tercera (150 días) inoculaciones de las hojas con el patógeno, recibieron 3, 7 y 11 aplicaciones de la solución nutritiva de Hoagland, y aquellas que no se inocularon con las MA recibieron 11, 15 y 19 aplicaciones, de esa misma solución nutritiva.

Evaluación de la mancha de hierro. Para cuantificar con precisión y rapidez la severidad de la mancha de hierro se utilizó el programa analizador de imagen (Matlab, versión 7.0) desarrollado por Guzmán *et al.* (22), el cual incluye técnicas de procesamiento de imágenes y reconocimiento por color, y permite determinar el área foliar y el área afectada por la mancha de hierro. Para determinar el área de la hoja y el área afectada por la

Tabla 2. Colonización de *G. manihotis* o *G. fasciculatum* en raíces de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720, 60 días después de la siembra.

Micorriza arbuscular	Variedad	Colonización (%)	C.V.
<i>G. manihotis</i>	Caturra	72,02 a*	13,19
	Línea CX2720	69,33 a	26,03
<i>G. fasciculatum</i>	Caturra	35,25 b	37,52
	Línea CX2720	18,58 b	48,42

*Dentro de las columnas, los valores seguidos por la misma letra no se diferencian significativamente de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5 %.

mancha de hierro, se fotografiaron las hojas individualmente por la haz, con una cámara digital OLYMPUS® C- 3040 ZOOM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el experimento, los promedios de la temperatura y de la humedad relativa registrados en la casa de mallas fueron de 21°C y 83%, respectivamente. Estos valores, según Fernández *et al.* (17), Agrios (2) y Carisse *et al.* (8), están en un rango adecuado para la esporulación de conidios de hongos del género *Cercospora* spp., y para el desarrollo de la mancha de hierro, entre 18 y 28°C con un óptimo de 25°C, y entre 70 y 100% de humedad relativa con un óptimo de 98 a 100%, principalmente durante la noche. Así mismo, durante el estudio, la temperatura mínima fue de 15°C y la máxima de 30°C, las cuales fueron propicias para que se desarrollaran adecuadamente las plantas de café. Estos registros se sustentan con los obtenidos por Jaramillo y Guzmán (25), quienes afirman que la temperatura óptima para el crecimiento de plantas de café es de 21°C, con un límite inferior de 10°C y uno superior de 32°C, fuera de estos rangos de temperatura el crecimiento de la planta hubiera sido muy deficiente.

Es importante tener presente, que algunos factores climáticos como la precipitación (rocío sobre las hojas), la temperatura y la humedad relativa, influyen directamente en la germinación de conidios y en la esporulación de hongos del género *Cercospora* spp. (24, 35), debido a que estas estructuras se producen durante la noche, siempre y cuando hayan diez o más horas de rocío y/o lluvia sobre las hojas y que la temperatura sea mayor a 21°C (9, 44).

Colonización por las MA. A los 60 días después de la siembra de las chapolas, se

realizó el primer muestreo destructivo de las plantas inoculadas con *G. manihotis* o *G. fasciculatum*. Para la variable colonización no se encontraron diferencias estadísticas entre las variedades inoculadas con la misma especie de MA, pero sí hubo diferencias entre las especies de MA (promedio 71% y 27%, respectivamente) (Tabla 2). Estos resultados muestran el rápido y efectivo establecimiento de estas especies de MA en las raíces de café, con una mayor capacidad de colonización de *G. manihotis* en comparación con *G. fasciculatum*. El tipo de sustrato donde se formuló cada especie de MA, la diferencia en la concentración del inóculo utilizado y la conocida agresividad de colonización de *G. manihotis* en las raíces de varios hospedantes, pudieron ser las principales razones para las diferencias en la colonización por las dos MA. Resultados similares fueron reportados por Vaast y Zasoski (51), quienes encontraron colonización en raíces de café y un mayor crecimiento de esas plantas después de dos meses de la inoculación con *Acaulospora melleae*, *G. intrarradices* y *G. clarum*.

Colonización por la MA antes y después de inocular *C. coffeicola*. En todos los muestreos destructivos (antes y después de inocular *C. coffeicola* a los 90, 120 y 150 días) las plantas de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. manihotis*, tuvieron niveles de colonización entre el 69% y el 83%. No se presentaron diferencias estadísticas entre la variedad Caturra y la Línea en los muestreos realizados (Tabla 3). Resultados similares se apreciaron en las plantas de café asociadas con *G. fasciculatum*, las cuales tuvieron niveles de colonización entre el 60% y el 83%, sin haber encontrado diferencias estadísticas entre los materiales de café en los muestreos realizados (Tabla 3).

Igualmente, se demostró cómo a medida que aumentaba la edad de la planta, el

Tabla 3. Colonización radical de *G. manihotis* o *G. fasciculatum* en raíces de café, antes de inocular *C. coffeicola* y después de evaluar la mancha de hierro, en la variedad Caturra y en la Línea CX2720, a los 90, 120 y 150 días después de la siembra.

Micorriza Arbuscular	Variedad	Colonización (%)					
		90 días		120 días		150 días	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
<i>Glomus fasciculatum</i>	Caturra	62 a*	76 a	60 a	75 a	74 a	80 a
	Línea CX2720	60 a	79 a	70 a	77 a	83 a	80 a
<i>Glomus manihotis</i>	Caturra	69 a	73 a	75 a	80 a	83 a	80 a
	Línea CX2720	76 a	76 a	73 a	78 a	76 a	78 a

*Dentro de las columnas, los valores seguidos por la misma letra no se diferencian significativamente de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5 %.

porcentaje de colonización de las raíces, por ambas especies de MA, se mantuvo constante o incluso aumentó (Tabla 3), lo cual indica que en la medida que aumentaba la biomasa de la raíz la colonización del hongo simbionte continuó siendo rápida y eficaz. Estos valores indican que *C. coffeicola* no desestimuló el desarrollo de las plantas, ni afectó la colonización radical de las MA, en ninguno de los tiempos de inoculación del patógeno.

En diferentes estudios se ha encontrado que las MA incrementan la tolerancia de la planta al ataque de hongos patógenos del sistema radical (11, 20) y reducen el nivel de infección por nematodos fitopatógenos (28, 46, 52). En el caso de las raíces del café asociadas con MA y afectadas por enfermedades foliares no se conocen reportes relacionados con los efectos de estas MA en la planta y su relación con patógenos de las hojas.

Peso seco de la raíz y de la parte aérea antes y después de inocular *C. coffeicola*.

Antes de inocular *C. coffeicola*, 90 días después de la siembra de las chapolas de café (Figura 1A), se observó que las plantas de la var. Caturra asociadas con *G. manihotis* presentaron mayor peso seco de la raíz y de la parte aérea en relación con la Línea CX2720 (incremento de 0,14 y 0,33g, respectivamente) y los testigos (incremento de 0,24 y 0,5g, respectivamente) (Tabla 4).

A las 12 semanas, después de evaluar la mancha de hierro (Figura 1B), nuevamente se encontró que las plantas de café de la var. Caturra asociadas con *G. manihotis* presentaron mayor peso seco de la raíz y de la parte aérea en relación con la Línea CX2720 (incremento de 0,58 y 0,81g, respectivamente) y los testigos (incremento de 2,16 y 4,4g, respectivamente). Los testigos no presentaron diferencias estadísticas entre ellos, con promedios de 0,09 y 0,43g de peso seco de raíz y 0,50 y 0,60g de peso

seco de la parte aérea, antes y después de inocular el patógeno (Tabla 4).

Las plantas de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. fasciculatum*, presentaron diferencias estadísticas significativas para la variable peso seco de la raíz antes de inocular el patógeno. Se observó que la variedad Caturra tuvo 0,09g más de peso que la Línea CX2720 (Tabla 4). En el peso seco de raíz después de evaluar la mancha de hierro no se presentaron diferencias estadísticas entre la variedad Caturra y la Línea CX2720 asociada con *G. fasciculatum*, con un valor promedio de 2,37g. Estas plantas asociadas con las MA presentaron diferencias estadísticas con los testigos (Tabla 4). En la variable peso seco de la parte aérea antes de inocular el patógeno, la variedad Caturra y la Línea

CX2720 inoculadas con *G. fasciculatum*, fueron estadísticamente iguales, con un valor promedio de 0,78g. Sin embargo, la Línea CX2720 tratada con este hongo tuvo un valor estadísticamente igual al del testigo Caturra. Después de evaluar la enfermedad, la Línea CX2720 asociada con *G. fasciculatum* tuvo el valor más alto en el peso seco (5,86g) con diferencias estadísticas con la variedad Caturra (4,74g) y con los testigos, que presentaron valores similares (promedio de 0,60g) (Tabla 4).

Las plantas de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. manihotis*, a los 120 (Figura 2A) y 150 días (Figura 3A) antes de inocular *C. coffeicola*, no presentaron diferencias significativas en las variables peso seco de raíz (promedio de 0,87 y 1,9g, respectivamente) y parte aérea (2,36 y 4,58g). Igualmente, 12 semanas después de evaluar la mancha de hierro (Figuras 2B y 3B), tampoco hubo diferencias estadísticas por este concepto en la raíz (3,35 y 10,14g, respectivamente) y en la parte aérea (8,64 y 17,82g, respectivamente). Estas variables mostraron una tendencia lineal, lo que indica que en la medida que transcurría el tiempo, aumentaba el peso seco de la raíz y de la parte aérea de los cafetos (Tabla 4). Las plantas asociadas con las dos especies de MA presentaron diferencias estadísticas en la evaluación final con los testigos, y estos últimos tuvieron los menores valores de biomasa y fueron estadísticamente iguales (promedio de 0,48 y 0,48g; 0,62g y 0,93g, respectivamente). En los testigos el peso seco de la parte aérea de la planta mostró una tendencia lineal, mientras que en la raíz no se observó una tendencia definida. Fueron evidentes en cada uno de los tiempos de evaluación, las diferencias presentadas entre las plantas con las MA y los testigos, las cuales se debieron a la ausencia de estos hongos simbiotes en el sistema radical de estos últimos.

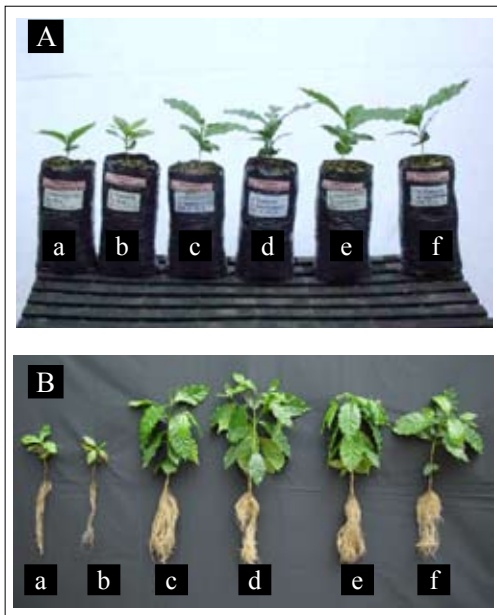


Figura 1. Plantas de café de la Línea CX2720 (c, e) y de la variedad Caturra (d, f) inoculadas con *G. fasciculatum* (c y d) o con *G. manihotis* (e y f) y plantas testigo (a y b). A. Antes de ser inoculadas con *C. coffeicola*, 90 días después de la siembra. B. Tres meses después de ser inoculado el hongo patógeno y de haber evaluado la mancha de hierro.

Tabla 4. Peso seco de la raíz y de la parte aérea de la planta, en cafetos asociadas con las dos MA y el testigo, antes de inocular con *C. coffeicola*, y tres meses después de evaluar la mancha de hierro, en cada tiempo de evaluación.

Micorriza Arbuscular	Variedad	Tiempo de evaluación (días)												Promedio	
		90			120			150			Final				
		Inicial	Final	PSR	Inicial	Final	PSR	Inicial	Final	PSR					
		PSR	PSA	PSR	PSA	PSR	PSA	PSR	PSA	PSR	PSA	PSR	PSA	PSR	PSA
<i>Glomus manihotis</i>	Caturra	0,33a*	1,0a	2,59a	5,03a	0,99a	2,55a	3,42a	8,91a	2,15a	4,86a	9,99a	18,10a	5,32a	10,68a
	Línea	0,19b	0,67b	2,01b	4,22b	0,75b	2,18a	3,29a	8,38a	1,65b	4,30a	10,30a	17,55a	5,20a	10,05a
<i>Glomus fasciculatum</i>	Caturra	0,32a	0,85a	2,38a	4,74b	0,84a	2,15a	3,29a	7,95a	1,88a	4,18a	9,96a	18,10a	5,21a	10,26a
	Línea	0,23b	0,70ab	2,35a	5,86a	0,67a	2,0a	3,32a	9,25a	1,85a	4,41a	10,58a	18,27a	5,42a	11,13a
Testigo	Caturra	0,10c	0,57bc	0,42b	0,54c	0,39b	0,53b	0,62b	0,75b	0,34b	0,71b	0,46b	0,80b	0,50b	0,69b
	Línea	0,07c	0,43c	0,44b	0,66c	0,38b	0,54b	0,33b	0,49b	0,38b	0,77b	0,51b	1,06b	0,43b	0,74b

PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco de la parte aérea de la planta.

*Dentro de las columnas, los valores seguidos por la misma letra no se diferencian significativamente de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5%.

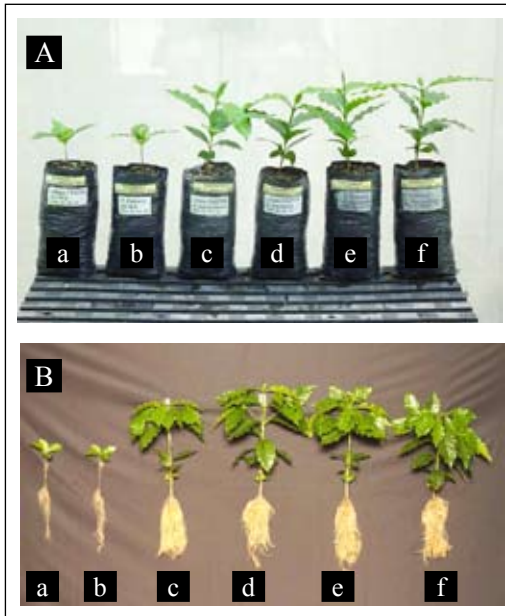


Figura 2. Plantas de café de la Línea CX2720 (c, d) y de la variedad Caturra (e, f) inoculadas con *G. fasciculatum* (c y f) o con *G. manihotis* (d y e) y plantas testigo (a y b). A. Antes de ser inoculadas con *C. coffeicola*, 120 días después de la siembra. B. Tres meses después de ser inoculado el hongo patógeno y de haber evaluado la mancha de hierro.

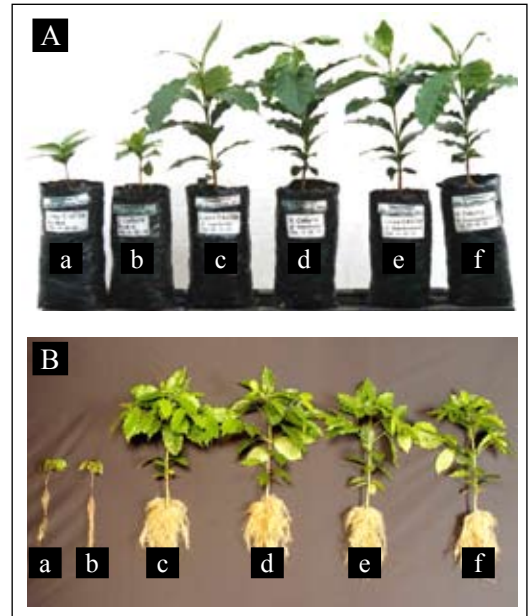


Figura 3. Plantas de café de la Línea CX2720 (c, e) y de la variedad Caturra (d, f) inoculadas con *G. fasciculatum* (e y f) o con *G. manihotis* (c y d) y plantas testigo (a y b). A. Antes de ser inoculadas con *C. coffeicola*, 150 días después de la siembra. B. Tres meses después de ser inoculado el hongo patógeno y de haber evaluado la mancha de hierro.

Resultados similares se presentaron en las plantas de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. fasciculatum* en los mismos muestreos destructivos, antes de inocular *C. coffeicola* y después de evaluar la mancha de hierro a los 120 y 150 días. Se encontró que no hubo diferencias estadísticas significativas en los promedios antes y después de esa inoculación en el peso seco de la raíz con 0,75 y 3,30g, y de 1,86g y 10,27g, respectivamente. En cuanto al peso seco aéreo estos valores fueron de 2,07g y 8,6g, y de 4,29g y 18,18g, respectivamente. Estas variables también presentaron la misma tendencia lineal a la observada con *G. manihotis* (Tabla 4). Las plantas asociadas con las MA presentaron

diferencias estadísticas con los testigos para esas mismas variables.

Los valores más altos del peso seco de la raíz y del peso de la parte aérea de las plantas asociadas con las MA, se atribuyen a la alta eficiencia de estas especies de micorrizas en la toma de nutrientes y al grado de micotrofia de las raíces de café, lo cual confirma que la planta de café es altamente dependiente de este insumo biológico. Resultados similares obtuvieron Sieverding (48), Orozco (33), Parra *et al.* (34), Estrada y Sánchez de P. (16), Joao y Rivera (27) y Siqueira *et al.* (49). Así mismo, Rivillas (41) encontró que plantas de café (*Coffea arabica*) de las variedades Caturra y Colombia

asociadas con las especies de MA *Acaulospora miriocarpa*, *Entrophospora colombiana*, *Gigaspora margarita*, *G. manihotis* y *G. fasciculatum* tuvieron un mayor crecimiento y desarrollo con respecto a los testigos sin la MA.

El efecto de las MA sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas de café, en comparación con las plantas testigo, se hizo notorio a partir de los tres meses después de la inoculación, tal como lo reportan Parra *et al.* (34) y Rivillas (41). En este experimento, *G. manihotis* y *G. fasciculatum* confirmaron los beneficios de la simbiosis en raíces de plantas de café de las variedades Caturra y Colombia, como lo demostraron Sieverding (48), Estrada y Sánchez de P. (16), Parra *et al.* (34), Leguizamón (28), Rivillas (42) y Castro (11).

La evaluación final de las plantas de café de las variedades Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* e inoculadas con *C. coffeicola* (90, 120 y 150 días) no presentó diferencias estadísticas significativas en las variables peso seco de raíz y de la parte aérea, resultado que demuestra que *C. coffeicola* afectó algunas hojas de esas plantas de café, pero el peso seco de raíz y de la parte aérea de la planta no difirió entre variedades con las MA, mientras que ocurrió lo contrario con los testigos, que sí fueron severamente afectados por el hongo. Estas diferencias entre las plantas de café tratadas con las MA y los testigos se atribuyen a estos hongos endófitos, los cuales benefician a las plantas como inductores de crecimiento, le transfieren mayor capacidad de absorción de agua y tolerancia a la sequía y ayudan como biorreguladores de patógenos radicales (4, 11, 19, 32).

Con estos resultados, estas dos especies de MA aparecen como inductoras de tolerancia

al ataque de patógenos aéreos, a través de una mejor nutrición de las plantas. Se aprecia entonces, que la simbiosis de las dos MA con las raíces de las plantas de café en la etapa de almácigo favoreció la absorción, el transporte y la asimilación de los nutrimentos minerales de ese sustrato, y a su vez generó mayor crecimiento y desarrollo del sistema radical y de la parte aérea del cafeto. Estos resultados permitirán en el futuro, llevar plantas con buenas características agronómicas y sanas al campo, y con una mejor respuesta a las condiciones bióticas y abióticas, como sería la mayor capacidad de absorción de nutrimentos y de agua, tolerancia a la sequía, y la protección de las raíces contra patógenos presentes en el suelo (11, 28, 43, 46, 48).

En esta investigación, con un sustrato esterilizado, se pudo determinar el efecto benéfico de las MA, reflejado en una mayor cantidad de biomasa de las plantas y en la tolerancia a la mancha de hierro. Estos beneficios en café también se han obtenido pero deberán validarse empleando las MA en sustratos orgánicos, en los cuales, a pesar de existir una mayor cantidad de organismos que interactúan con las raíces de las plantas, mejorando las condiciones biológicas, físicas y químicas del suelo, le permite a estos hongos la interacción con la microbiota nativa, lo cual deberá arrojar resultados en el desarrollo, la nutrición y la sanidad en las plantas de café, similares a los encontrados por Cruz *et al.* (13), Sieverding (48), Marschner (30), Guerrero (19) y Harrier y Watson (23).

Período de incubación de *C. coffeicola*. El período de incubación (PI) de *C. coffeicola* en las plantas de café asociadas con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* a los 90, 120 y 150 días, fue de 19 días, resultado que indica que el tiempo de la asociación de las micorrizas con la planta no influyó en el

tiempo de aparición de síntomas de la mancha de hierro. Este valor fue siete días menor con respecto al PI de *C. coffeicola* en plantas de café variedad Caturra, donde se inocularon siete aislamientos de *C. coffeicola* de la zona central cafetera (37); y 11 días más rápido en relación con diferentes aislamientos de *C. coffeicola* de la zona cafetera evaluados en plantas de la misma variedad (40). Con este resultado se aprecia que la presión de inóculo del patógeno, el tipo de aislamiento, las condiciones climáticas (especialmente la luz solar y una película de agua sobre la hoja) y las características genéticas de los materiales, tuvieron influencia significativa en el desarrollo de la enfermedad y por consiguiente en el PI.

Dos semanas después del cumplimiento del PI de *C. coffeicola*, las lesiones de la mancha de hierro se tornaron necróticas primero en el par de hojas superiores y una semana después en el par de hojas inferiores.

Es posible que las hojas ubicadas en la parte inferior de la planta no recibieron la luz directa la mayor parte del día, mientras que las hojas ubicadas en la parte superior sí la recibieron, condición que pudo favorecer la producción de la toxina cercosporina, compuesto que producen los hongos del género *Cercospora*, y que se activa en presencia de la luz y acelera el proceso infectivo del hongo y por ende, la muerte de las células afectadas (1, 14).

Los síntomas iniciales de la enfermedad consistieron en puntos pequeños de color amarillo que luego aumentaron de tamaño y formaron sobre la hoja pequeños puntos cloróticos y oscuros, que luego se tornaron rojizos para finalmente mostrar los síntomas típicos de la mancha de hierro (Figura 4).

Severidad de la mancha de hierro. Ocho días después del cumplimiento del período de incubación de *C. coffeicola* se evaluó la

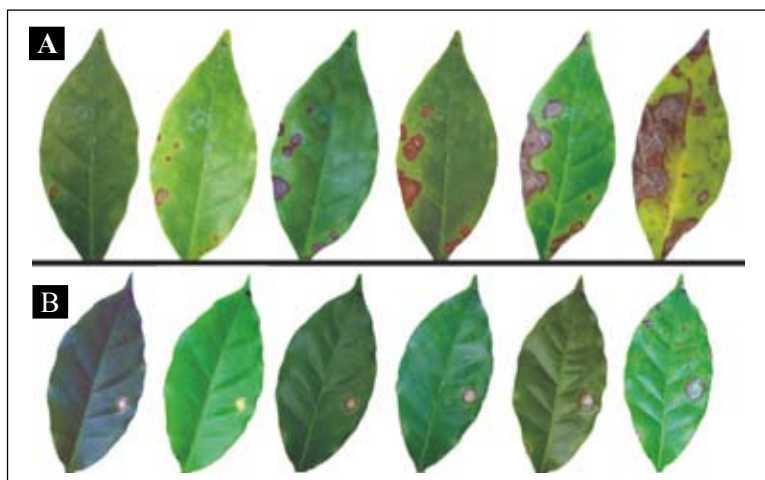


Figura 4. Seguimiento del proceso infectivo del hongo *C. coffeicola* causante de la mancha de hierro. A. Planta sin MA. B. Planta con MA.

severidad de la mancha de hierro y el número de hojas caídas (HC). Se encontró que los menores valores de estas dos variables para los tres tiempos de evaluación, se presentaron en las plantas que se asociaron con *G. manihotis* en relación con los testigos que presentaron los más altos valores. La menor severidad y el menor número de hojas caídas se registró en la Línea CX2720 (5,26% y 5 (90 días); 2,35% y 13 (120 días); 1,57% y 13 (150 días)) con valores que fueron estadísticamente diferentes a los registrados en la variedad Caturra, donde se presentaron los mayores valores en ambas variables (7,35% y 14 (90 días); 8,89% y 35 (120 días); 2,9% y 37 (150 días)). Así mismo, las plantas de la variedad Caturra asociadas con *G. manihotis* fueron estadísticamente diferentes a los testigos de esa misma variedad, los cuales presentaron los mayores valores de severidad y de hojas caídas (100% y 33 (90 días); 27,4% y 40 (120 días) y 15,9% y 36 (90 días)), y al testigo de la Línea CX2720 (37,06% y 18 (90 días); 67,37% y 40 (120 días) y 11,6% y 37 (150 días)) (Figuras 5 y 6).

En las plantas asociadas con *G. fasciculatum* los resultados fueron similares a los obtenidos con *G. manihotis*. En éstas, la severidad de la mancha de hierro y el número de las hojas caídas fueron menores en la Línea CX2720 (2,61% y 5 (90 días); 3,43 % y 9 (120 días); 1,35 % y 12 (150 días)) y estos valores fueron estadísticamente diferentes a los de la variedad Caturra, que presentó valores de 8,12% y 15 para los 90 días, de 10,3% y 38 para los 120 días, y de 3,77% y 34 para los 150 días. Las plantas asociadas con esta MA presentaron diferencias estadísticas con los testigos (Figuras 5 y 6). En los testigos, una semana después de obtenerse el máximo registro de severidad por la mancha de hierro, se observaron entre 35 y 40 hojas caídas, lo que indica que existe una relación lineal entre la enfermedad y el número de hojas caídas (Figuras 5 y 6).

Los resultados de este estudio muestran que la severidad y el número de hojas caídas por la mancha de hierro presentaron menores valores en las plantas de café que tenían las raíces asociadas con las dos especies de MA en comparación con los testigos. Esta simbiosis de las raíces de café con estos hongos es probable que le haya permitido a los cafetos tener una mejor condición fisiológica, con beneficios en aspectos como mayor lignificación de las paredes celulares, que limitó la penetración del hongo patógeno, y a su vez permitió una mejor nutrición de las plantas, especialmente en la absorción de N, P y K, lo cual las hizo menos susceptibles al ataque de *C. coffeicola*. Se sabe que las plantas asociadas con las MA producen compuestos antimicrobiales como las fitoalexinas (isoflavonoides, terpenoides y compuestos de poliacetileno), las cuales son antibióticos de bajo peso molecular, como resultado de la interacción de dos sistemas metabólicos diferentes, hospedante y patógeno, que inhiben de este modo el crecimiento de microorganismos patógenos de plantas (54).

El beneficio de la simbiosis entre las plantas de café y las MA no solo se reflejó en un mayor peso seco de raíz y de la parte aérea, una menor severidad de la enfermedad y en la disminución del número de hojas caídas, sino que generó condiciones de equilibrio en la planta, al poseer mayor número de hojas sanas y un tejido fotosintéticamente activo con lo cual se logra llevar plantas al campo en condiciones óptimas de crecimiento y desarrollo.

Estudios realizados en otros cultivos con una MA del género *Glomus* spp., mostraron que la colonización radical por este hongo disminuyó el número de propágulos de *Fusarium oxysporum* en *Lycopersicon sculentum* y *Vulpia ciliata*, y limitó significativamente la necrosis radical causada por este hongo patógeno, lo

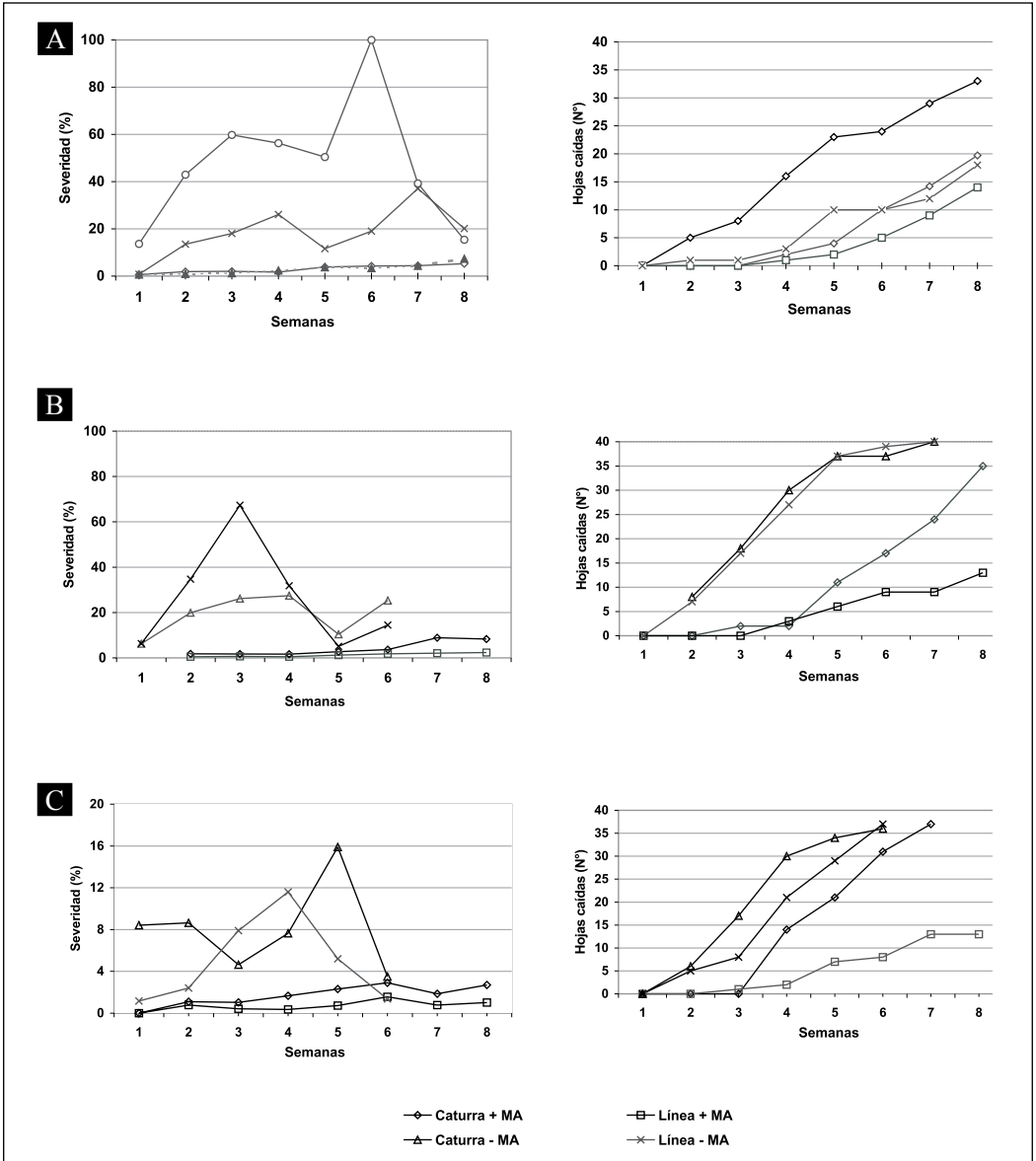


Figura 5. Severidad (%) y número de hojas caídas por efecto de la mancha de hierro en la variedad Caturra y en la Linea CX2720. A (90), B (120), C (150) días después de ser inoculadas con *G. manihotis*.

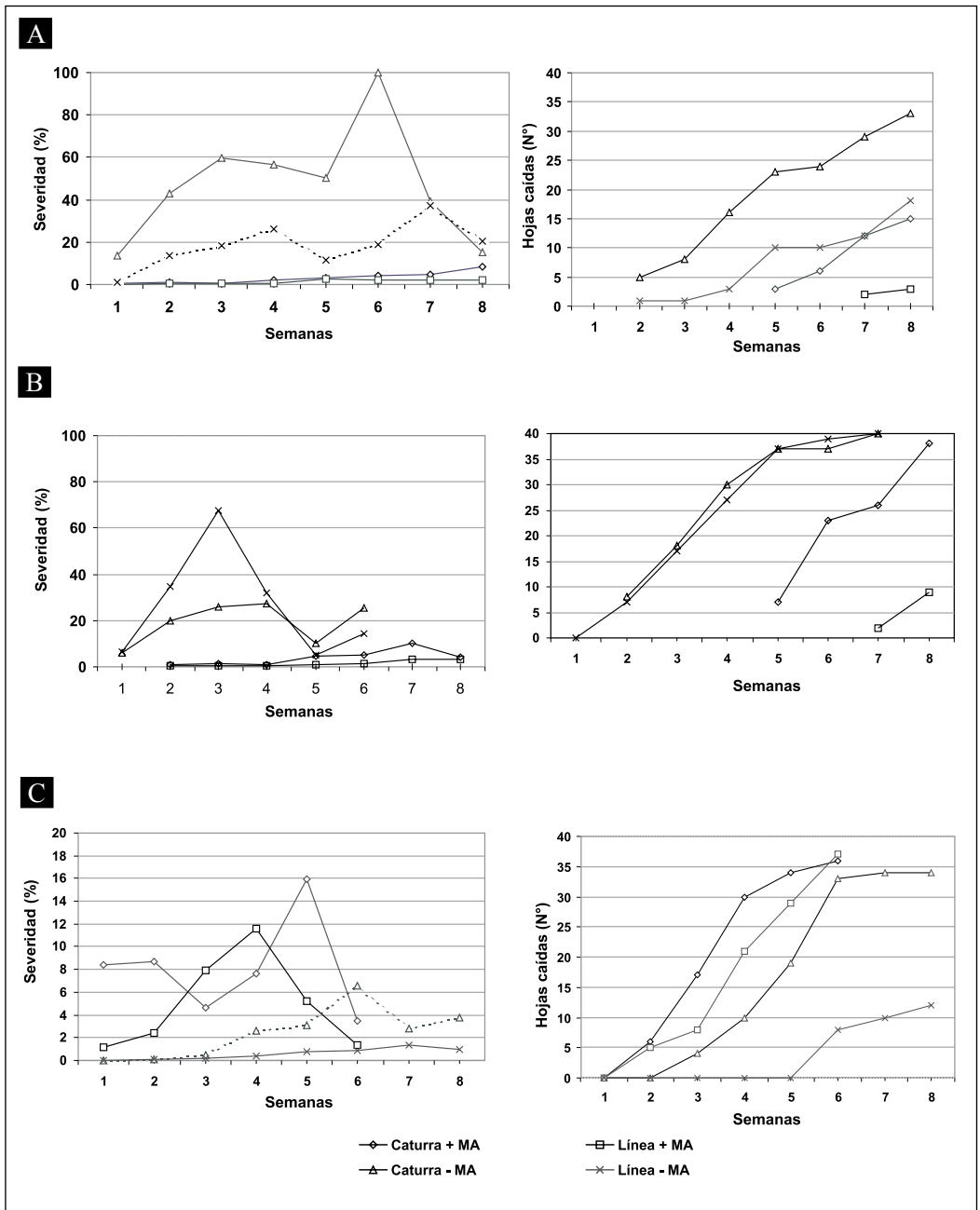


Figura 6. Severidad (%) y número de hojas caídas por efecto de la mancha de hierro en la variedad Caturra y en la Línea CX2720. A (90), B (120), C (150) días después de ser inoculadas con *G. fasciculatum*.

cual permitió a las plantas tener una mayor biomasa y un incremento en la longitud de raíces (39, 51). Así mismo, en plantas de fresa previamente colonizadas por *Glomus etunicatum* y *G. monosporum* e inoculadas con *Phytophthora fragaria*, después de 48 horas de la inoculación del patógeno, la esporulación de *P. fragaria* se redujo en 67 y 64% por efecto de las MA, y después de 72 horas esta reducción fue de 83 y 89% (32). Estos estudios demuestran que algunas especies del género *Glomus*, reducen el ataque de patógenos de la rizósfera por la activación de genes de defensa, los cuales inducen cambios bioquímicos en el tejido del hospedante, activan enzimas relacionadas con los mecanismos de defensa de las plantas como las quitinasas y la β -1,3 glucanasas, y estimulan por la vía fenilpropanoide, la lignificación y suberización de tejidos en la raíz (30, 31).

La severidad de la mancha de hierro y las hojas caídas por la enfermedad fueron menores en las plantas de café de la Línea CX2720 asociadas con ambas especies de MA y en los tres tiempos de inoculación del patógeno, esto indica que a pesar de haber sido seleccionado este material como susceptible a *C. coffeicola*, pudieron existir ciertos patrones de vías metabólicas y/o de expresión genética que por efecto de las buenas condiciones del cultivo, derivadas de la simbiosis, le confirieron tolerancia a las plantas de café al ataque del hongo. Las plantas de la Línea CX2720 cuando no se asociaron con las dos especies de MA, a pesar de recibir la solución nutritiva, presentaron alta severidad y elevado número de hojas caídas.

Fernández *et al.* (17), mencionan que el balance de los nutrimentos en las plantas de café es uno de los factores más importantes para disminuir la incidencia y la severidad de la mancha de hierro. En este trabajo, con

ambas especies de MA, se obtuvo un excelente desarrollo radical y de la parte aérea de las plantas lo cual les permitió contrarrestar el ataque de esta enfermedad foliar.

Tasa de desarrollo de la mancha de hierro. Las plantas de café asociadas con *G. manihotis*, cuando se inocularon con *C. coffeicola* y posteriormente se evaluó su efecto a los 90 y 120 días presentaron menor tasa de desarrollo de la enfermedad, con tasas de 0,10 y 0,17, respectivamente, en la variedad Caturra y de 0,11 y 0,05, respectivamente, en la Línea CX2720. Estos valores fueron estadísticamente diferentes a los testigos que tuvieron tasas más altas (Caturra 1,19 y 0,54 y la Línea CX2720 0,77 y 0,47) (Figura 7A). Así mismo, se presentaron diferencias estadísticas significativas entre plantas de la variedad Caturra (0,22 y 0,17, respectivamente) y la Línea CX2720 (0,07 y 0,05, respectivamente) asociadas con *G. fasciculatum*, las cuales tuvieron una tasa de desarrollo de la enfermedad más baja comparada con los testigos (Figura 6B). Con esta variable se confirma que las plantas de café asociadas con ambas MA, al tener una mejor nutrición y por ende un mayor crecimiento y desarrollo, estuvieron en mejores condiciones agronómicas, más sanas y con mayor vigor, para contrarrestar el ataque de *C. coffeicola* y poder ser tolerantes a este agente patógeno (Figura 4).

La tasa de desarrollo de la mancha de hierro fue menor en cafetos que estuvieron en simbiosis con las dos especies de MA, a los 90 y 120 días de inoculación de *C. coffeicola*, en relación con los testigos (Figura 4). Las plantas de la Línea CX2720 que estuvieron asociadas con ambas especies de MA, en los tres tiempos de inoculación del hongo patógeno, fueron las que presentaron la menor severidad de la mancha de hierro y las menores tasas de desarrollo de esta enfermedad (Figura 4).

A los 150 días de inoculación del patógeno no se presentaron diferencias estadísticas en la tasa de desarrollo de la mancha de hierro en las plantas asociadas con las MA y los testigos, debido a que ésta fue baja (0,02 y 0,20). A pesar de no existir diferencias en este aspecto, sí se presentó una alta severidad de la mancha de hierro en las semanas 4 y 5, y como consecuencia, un alto número de hojas caídas (mayor a 35) en los testigos. Estos valores contrastaron en relación con las plantas asociadas con ambas MA, que tuvieron una baja severidad y un menor número de hojas caídas.

Igualmente, los resultados mostraron que la edad fisiológica de las plantas de café, cuyo sistema radical estuvo asociado con las dos especies de MA, no influyó en la mayor o menor susceptibilidad de las hojas a la mancha de hierro. Este resultado contrasta con lo reportado por Rengifo (38), quien

encontró que en plantas de tres meses de edad en cultivos hidropónicos, los primeros síntomas de la mancha de hierro se observaron a los 16 días, y en plantas de siete meses de edad a los 27 días.

En la Línea CX2720 asociada con cualquiera de las dos especies de MA, la severidad de la mancha de hierro y las hojas caídas como consecuencia de esta enfermedad, no presentaron diferencias estadísticas a los 90, 120 y 150 días después de la inoculación de *C. coffeicola*. Lo anterior indica que el menor o mayor tiempo de toma de nutrientes por las plantas, producto de la asociación con las MA, no influyó en las variables antes mencionadas. Así mismo, se encontró que la especie *G. manihotis* en simbiosis con las raíces de café no produjo mayor biomasa en la planta en comparación con el crecimiento y desarrollo de las plantas asociadas con *G. fasciculatum*.

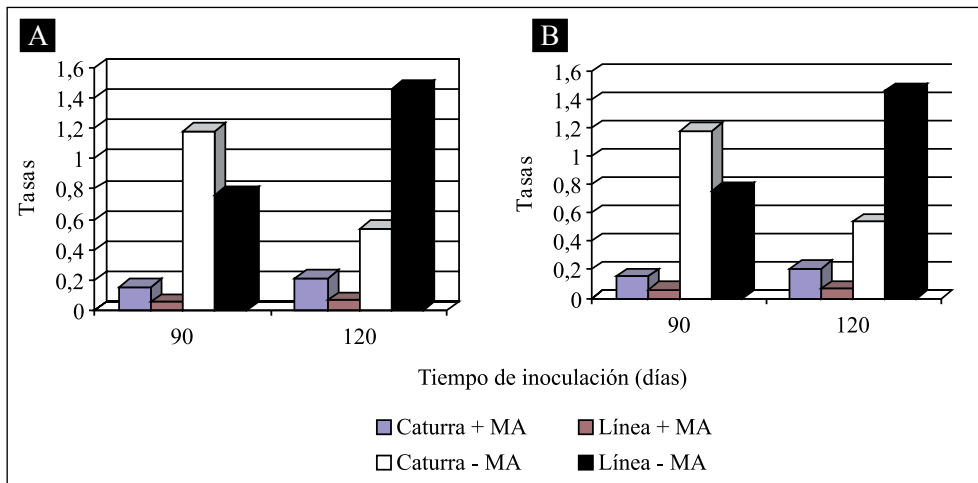


Figura 7. Tasas de desarrollo de la mancha de hierro en la variedad Caturra y en la Línea CX2720 asociadas con *G. manihotis* (A) o *G. fasciculatum* (B), 90 y 120 días después de la siembra.

Leguizamón (28), Sánchez de P. (46) y Castro (11), encontraron que en plantas de café asociadas con MA y que son atacadas por patógenos que habitan en el suelo (nematodos, hongos), se reduce la incidencia y el daño causado por éstos, el cual es compensado por los incrementos que tienen las plantas en el sistema radical y por la presencia del micelio metabólicamente activo de la MA en el suelo. Al presentarse mayor tolerancia de las plantas al ataque de patógenos, se podría reducir el uso de algunos fungicidas para el manejo de enfermedades. De este modo, se limita el uso de productos químicos que contaminan la fauna, la flora, afectan la salud humana y propician la resistencia de los hongos a los fungicidas.

Los resultados de este estudio, mostraron que las plantas de café de la variedad Caturra y de la Línea CX2720 asociadas con *G. manihotis* o *G. fasciculatum* presentaron mayor crecimiento y desarrollo en comparación con las plantas testigo. Así mismo, presentaron tolerancia al ataque de la mancha de hierro con menores valores en severidad y en el número de hojas caídas en relación con los testigos. Se demuestra que este insumo biológico es promisorio para mejorar la nutrición de las plantas, como una medida de manejo de patógenos que atacan los órganos aéreos de la planta, en programas de agricultura sostenible.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a COLCIENCIAS por la cofinanciación de esta investigación. A la doctora Esther Cecilia Montoya de la Disciplina de Biometría de Cenicafé, por su asesoría y colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

1. ÁNGEL C., C.A. Mancha de Hierro *Cercospora coffeicola* Berkeley y Cooke. In: Enfermedades del café en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 2003. p. 137-144.
2. AGRIOS, G.N. Plant pathology. 5. ed. San Diego, Academic Press, 2005. 922 p.
3. ARANGO R., C.; OCHOA T., G.; ROBLEDO M., A. Evaluación de dos fuentes de inóculo de micorrizas MVA y dos dosis de fósforo en almácigos de café variedad Colombia. Agronomía 3(1):23-27. 1989.
4. AZCONA., C.; BAREA, J.M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. Mycorrhiza 6(6):457-464. 1996.
5. BAQUERODEP., M.C. Estudio fisiológico de *Cercospora coffeicola* (Berk et Cook). Bogotá, Universidad de los Andes. Facultad de Artes y Ciencias, 1980. 57 p. (Tesis: Magister en Microbiología)
6. BOLAÑOS B., M.M.; RIVILLAS O., C.A.; SUÁREZ V., S. Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. Cenicafé 51(4):245-262. 2000.
7. CADENA G., G. Uso de la pulpa de café para el control de la mancha de hierro *Cercospora coffeicola* Berk y Cooke, en almácigos. Cenicafé 33(3):76-90. 1982.
8. CARISSE O.; KUSHALAPPA, A.C.; CLOUSTIER, D.C. Influence of temperature, leaf wetness and high relative humidity duration on sporulation of *Cercospora carotae* on carrot leaves. Phytopathology 83:338-343. 1993.
9. CARISSE, O.; BOURGEOIS, G.; DUTHIE, J.A. Influence of temperature and leaf wetness duration on infection of strawberry leaves by *Mycosphaerella fragariae*. Phytopathology 90: 1120-1125. 2000.
10. CASTAÑO A., J.J. Mancha de hierro del café. Cenicafé 7(82):313-327. 1956.
11. CASTRO T., A.M. Efecto de *Entrophospora colombiana*, *Glomus manihotis*, *Burkholderia cepacia* en el control de *Rosellinia bunodes* Berk y Br. agente causante de la llaga negra del café. Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2001. 220 p. (Tesis: Magister Science en Fitopatología)
12. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. CHINCHINÁ. COLOMBIA.

- Control químico de la mancha de hierro en almácigos de café. *Avances Técnicos Cenicafé* No. 192:1-8. 1993.
13. CRUZ S., J.C.; SÁNCHEZ R., M.; SIEVERDING, E. Estudio de la simbiosis micorriza vesículo-arbuscular en el cultivo del café *Coffea arabica* Var. Caturra. *Fitopatología Colombiana* 13(2):56-64. 1989.
 14. DAUB, M. E.; CHUNG, K. R. Cercosporin: A photoactivated toxin in plant disease. Feature Story February, 2007. On line Internet. Disponible en: <http://www.apsnet.org/online/feature/Cercosporin/> (Consultado abril de 2004).
 15. EPSTEIN, E. Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. New York, John Wiley, 1972. p. 39.
 16. ESTRADA, M.; SÁNCHEZ, M. Dependencia del café *Coffea arabica* variedad Colombia por la micorriza vesículo arbuscular. *Acta Agronómica* 45 (1): 85-88. 1995.
 17. FERNÁNDEZ B., O.; CADENA G., G.; LÓPEZ D., S.; BUITRAGO DE S., H.L.; ARANGO B., L.G. La mancha de hierro del caféto *Cercospora coffeicola* Berk y Cooke, biología, epidemiología y control. In: COLLOQUE Scientifique International sur le Café, 10. Salvador, Octubre 11-14, 1982. París, ASIC, 1983. p. 541-551.
 18. GONZÁLEZ S., A.; FAJARDOL., M.; LEGUIZAMÓN C., J.E.; CRISTANCHO A., M.A.; CHAVES C., B. Variabilidad morfológica, patogénica y molecular de aislamientos de *Cercospora coffeicola*. *Cenicafé* 51(4):306-315. 2000.
 19. GUERRERO, E. Fundamentos biológicos y estados del arte. In: Guerrero, E. Micorrizas. Recurso biológico del suelo. Bogotá, Fondo FEN, 1996. p. 181-208.
 20. GUTIÉRREZ, R. A. Manejo de la Llaganegra *Rosellinia bunodes* Berk Br., en árboles de café. Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2003. 127 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo)
 21. GUZMÁN P., O.A.; RIVILLAS O., C.A. Producción "in vitro" de conidios de *Cercospora coffeicola* Berk y Cook. *Cenicafé* 56(1):67-78. 2005.
 22. GUZMÁN P., O.A.; GÓMEZ G., E.O.; RIVILLAS O., C.A.; OLIVEROS T., C.E. Utilización del procesamiento de imágenes para determinar la severidad de *Cercospora coffeicola* Berk y Cook, en hojas de café. *Cenicafé* 54(3): 258-265. 2003.
 23. HARRIER, L.A.; WATSON, C.A. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable cropping systems. *Advances in Agronomy* 79:185-225. 2003.
 24. JACOME, L., SCHUH, W. Spore production and artificial inoculation techniques for *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Tropical Agriculture* 70(1): 33-38. 1993.
 25. JARAMILLO R., A.; GUZMÁN M., O. Relación entre la temperatura y el crecimiento en *Coffea arabica* L. Variedad Caturra. *Cenicafé* 35(3):57-65. 1984.
 26. JEFFRIES, P.; GIANINAZZI, S.; PEROTTO, S.; TURNAU, K.; BAREA, J.M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils* 37(1):1-16. 2003.
 27. JOAO, J.; RIVERA, R. Efecto de tres cepas de hongos micorrizógenos vesículo arbusculares en dos relaciones de suelo-abono orgánico y dos niveles de suministro de fósforo, sobre el crecimiento de las posturas de caféto en un suelo ferralítico rojo. In: SEMINARIO Científico, 10. Programa y Resúmenes. 1996. La Habana, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 1996. p. 88-89.
 28. LEGUIZAMÓN C., J.E. Interacción de una mezcla de micorrizas y el complejo *Meloidogyne* spp. en almácigos de café. In: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, 16. Medellín, Julio 5-7, 1995. Medellín, ASCOLFI-ICA, 1995. p. 5.
 29. LEGUIZAMÓN C., J.E. La mancha de hierro del caféto. *Avances Técnicos Cenicafé* No. 246:1-8. 1997.
 30. MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2 ed. New York, Academic, 1995. 889 p.
 31. MUKERJI, K.G. Mycorrhiza in control of plant pathogens: molecular approaches. In: Biotechnological approaches in biocontrol of plant pathogens. New York, Kluwer Academic, 1999. p. 135-155.
 32. NORMAN, J.R.; HOOVER, J.E. Sporulation of *Phytophthora fragaria* shows greater stimulations by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycological Research* 104 (9): 1069-1073. 2000.
 33. OROZCO P., F.H. Efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas vesicular arbuscular en plántulas de café *Coffea arabica* Var. Colombia. *Suelos Ecuatoriales* 18(2):213-219. 1988.

34. PARRA L., M.; SÁNCHEZ DE P., M.; SIEVERDING, E. Efecto de micorriza vesículo-arbuscular en café *Coffea arabica* L. var. Colombia en almácigo. Acta Agronómica 40(1-2):88-99. 1990.
35. PÉREZ V., I. Epifitología de la mancha de la hoja del plátano (Sigatoka) causada por *Mycosphaerella musicola*. Factores que influyen en el periodo de incubación y en el desarrollo de la enfermedad en Cuba. Agrotecnia de Cuba 15 (1): 55-64. 1983.
36. POZZA, A.A.A.; MARTÍNEZ, H.E.P.; CAIXETA, S.L.; CARDOSO, A.A.; ZAMBOLIM, L.; POZZA, E.A. Influencia da nutriçao mineral na intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 36(1):53-60. 2001.
37. RENGIFO G., H.G.; LEGUIZAMÓN C., J.E.; RIAÑO H., N.M. Algunos aspectos biológicos de *Cercospora coffeicola*. Cenicafé 53(3):169-177. 2002.
38. RENGIFO G., H.G. Efecto del suministro de nutrimentos sobre la incidencia y severidad de la Mancha de Hierro, *Cercospora coffeicola* Berk y Cooke en plantas de almácigo de café *Coffea arabica* L. In: Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé. Chinchiná. Colombia. Informe Anual de Labores de la Disciplina de Fitopatología 1999-2000. Chinchiná, Cenicafé, 2000.
39. RESTREPO F., G.M. Efecto de *Entrophospora colombiana* y *Glomus fistulosum* en el control de la llaga negra del cafeto *Rosellinia bunodes* (Berk y Br). Manizales, Universidad Católica de Manizales. Facultad de Estudios Avanzados en Ciencias de la Salud, 1998. 95 p. (Tesis: Especialista en Microbiología)
40. RINCÓN, E.A. Desarrollo de una metodología para la evaluación de genotipos de café en almácigo por su reacción a *Cercospora coffeicola* Berk y Cooke. In: Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé. Chinchiná. Colombia. Informe anual de la Disciplina de la Fitopatología 2002 – 2003. Chinchiná, Cenicafé, 2003.
41. RIVILLASO, C.A. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on two different coffee varieties from Colombia and their biochemical detection in roots. Kent, University of Kent. Research School of Biosciences, 1995. 88 p. (Tesis: Magister Science).
42. RIVILLAS O., C.A. Evaluación de *Glomus manihotis* en suelos esterilizados y sin esterilizar de las subestaciones de Naranjal y Convención. In: Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé. Chinchiná. Colombia. Informe Anual de Labores de la Disciplina de Fitopatología 1999-2000. Chinchiná-Caldas, Cenicafé, 2000.
43. RIVILLAS O., C.A. Las micorrizas arbusculares en el cultivo del café. In: Enfermedades del cafeto en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 2003. p. 64-74.
44. ROMERO, A. R.; SUTTON, T. B. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black Sigatoka of banana, to propiconazole. Phytopathology 87: 96-100. 1997.
45. SAGGIN JR., O. J.; SIQUEIRA, J. O.; GUIMARAES, P.T.G.; OLIVEIRA, E. Colonizacão do cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos: Efeitos na formação das mudas e no crescimento em solo esterilizado. Revista Brasileira de Ciencia do Solo 19: 213-320. 1995.
46. SÁNCHEZ DE P., M. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, 1999. 227 p.
47. SÁNCHEZ, C.; RIVERA, R.; PÉREZ, C.; GONZÁLEZ, C.; CUPULL, R.; CABRERA, C. Efecto de 15 cepas de Micorrizas Vesículo Arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto en dos tipos de suelo del macizo montañoso Guamuhaya. Centro Agrícola 28(4): 40-46. 2001.
48. SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn, GTZ, 1991. 371 p. (Schriftenreihe der GTZ No. 224).
49. SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN JR., O.J.; FLORES A., W.W.; GUIMARAES, P.T.G. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. Mycorrhiza 7(6):293-300. 1998.
50. SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. 2. ed. San Diego, Academic Press, 1997. 605 p.
51. VAAST, P.; ZASOSKI, R.J. Effects of VA-mycorrhizae and nitrogen source on rhizosphere soil characteristics, growth and nutrient acquisition of coffee seedlings *Coffea arabica* L. Plant and Soil 147(1):31-39. 1992.
52. VAAST, P.; CASWELL, C.; ZASOSKI, R.J. Influences of a root-lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*, and two arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora mellea* and *Glomus clarum* on coffee (*Coffea arabica* L.). Biology and Fertility of Soils 26:130-135. 1998.

53. VALENCIA A., G. Estudio fisiológico de la defoliación causada por *Cercospora coffeicola* en el café. Cenicafé 21(3):105-114. 1970.

54. VIDHYASEKARAN, P. Physiology of disease resistance in plants. Vol. 1. Boca Raton, CRC Press, 1988.