

Efecto Antagónico de un Producto Biológico Obtenido de *Burkholderia cepacia* Palleroni y Holmes Contra *Capnodium* spp. en Plántulas de Café (*Coffea canephora* P.) Crecidas *in vitro* e *in vivo*

María Esther González-Vega, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Depto. de Genética y Mejoramiento de las Plantas, km 3.5 Carr. San José-Tapaste, San José de las Lajas, La Habana, Cuba CP 32700; **Annia Hernández-Rodríguez**, Universidad de La Habana, Depto. de Microbiología, Calle 25 esquina J, Ciudad Habana, Cuba CP 10347; **Luis Manuel Barrios-Alonso**, Centro Nacional de Sanidad Vegetal, Depto. de Micología, Ayuntamiento 231, Ciudad Habana, Cuba CP 10698; **Miguel Gerardo Velázquez-del Valle** y **Ana Niurka Hernández-Lauzardo**, Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Depto. de Interacciones Planta-Insecto, Apdo. Postal 24, km 8.5 Carr. Yautepec-Jojutla, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos, México CP 23456. Correspondencia: aniuurka10@hotmail.com

(Recibido: Noviembre 6, 2006 Aceptado: Marzo 12, 2007)

González-Vega, M.E., Hernández-Rodríguez, A., Barrios-Alonso, L.M., Velázquez-del Valle, M.G. y Hernández-Lauzardo, A.N. 2007. Efecto antagónico de un producto biológico obtenido de *Burkholderia cepacia* Palleroni y Holmes contra *Capnodium* spp. en plántulas de Café (*Coffea canephora* P.) crecidas *in vitro* e *in vivo*. Revista Mexicana de Fitopatología 25:120-126.

Resumen. La fumagina (*Capnodium* spp.) afecta a las plántulas de café durante la aclimatación. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un producto biológico obtenido de *Burkholderia cepacia* en el control de esta enfermedad. Se emplearon diferentes concentraciones del producto (50-250 mg L⁻¹) para evaluar su efecto en la inhibición del crecimiento micelial de *Capnodium* spp. Se estudió el efecto del producto biológico sobre el índice de infección, crecimiento (pares de hojas, altura y peso seco), contenido de proteínas totales, fenoles y sobrevivencia de las plántulas. Los resultados mostraron una inhibición del crecimiento de *Capnodium* spp. hasta en un 79.3% (200 mg mL⁻¹). Se logró el control total de la enfermedad (150 mg mL⁻¹) en el clon M-28, del 95 y 90% en los clones M-229 y K-234 (150-200 mg mL⁻¹). Además se observó un mejor comportamiento en los indicadores del crecimiento, proteínas, fenoles y sobrevivencia de las plántulas. Los resultados corroboraron la factibilidad del uso de este producto biológico para el control de la fumagina en plántulas de café durante la aclimatación.

Palabras clave adicionales: Rizobacterias, biocontrol, pseudomonadales, fumagina.

Abstract. Sooty molds (*Capnodium* spp.) affect coffee seedlings during acclimatization. The objective of this study was to evaluate the effect of a biological product obtained from *Burkholderia cepacia* for control of this disease. Different concentrations of the product (50-250 mg L⁻¹) were used to evaluate its effect on mycelial growth inhibition of *Capnodium* spp., as well as the effect of the biological product on infection index, growth (pairs of leaves, height and dry weight), total protein content, phenolics, and seedling survival. The results showed growth inhibition of *Capnodium* spp. up to 79.3% (200 mg mL⁻¹). Total control of the disease was obtained (150 mg L⁻¹) on clone M-28, and 95 and 90% on clones M-229 and K-234 (150-200 mg mL⁻¹), respectively. In addition, it was observed a better behavior of growth indicators: proteins, phenolics, and seedling survival. The results corroborated the feasibility of the use of this biological product for control of sooty molds in coffee seedlings during acclimatization.

Additional keywords: Rhizobacterias, biocontrol, pseudomonads, sooty molds.

El género *Coffea* spp. es desde el punto de vista económico el más importante de la familia Rubiaceae, dos de sus especies *Coffea arabica* L. (variedad Arabica) y *Coffea canephora* P. (variedad Robusta) se cultivan en diversos países de América, África y Asia. Para la mayoría de los países productores de café, este cultivo representa el principal producto agrícola de exportación (Acuña *et al.*, 2002). En Cuba, al igual que en otros países, *C. canephora* variedad Robusta constituye la

segunda especie en importancia económica, no sólo por el volumen de producción sino por el área cultivable (Arias *et al.*, 2002). Cabe mencionar, que esta variedad posee un alto grado de resistencia al estrés hídrico y a las temperaturas elevadas (Bertrand *et al.*, 2000); además tiene un gran contenido de cafeína, siendo ampliamente utilizada para la producción de café soluble (Kilcher, 2002). Sin embargo, los países productores se han visto en la necesidad de implementar nuevos métodos para la producción intensiva de café, siendo importante disponer de una gran cantidad de posturas, ya sea por métodos tradicionales o con el empleo de nuevas tecnologías. La aplicación de métodos biotecnológicos (embriogénesis somática, microestaquillado, cultivo en bioreactores, *etc.*) en este cultivo posibilitan la multiplicación a gran escala de genotipos seleccionados (Montes *et al.*, 1995; Nguyen *et al.*, 2001). No obstante, a veces se presentan pérdidas considerables en la etapa de aclimatación debido a las propias condiciones donde se obtienen estas plántulas *in vitro* (Hernández *et al.*, 1999) que las hacen más susceptibles ante diferentes factores ambientales, siendo las afectaciones por enfermedades fungosas una de las causas principales (Acosta *et al.*, 2002). Para contrarrestar estos efectos algunos autores emplean antagonistas biológicos en la inoculación de plántulas micropropagadas (Ramírez *et al.*, 1999), afín de obtener mejores resultados en el establecimiento, sobrevivencia y crecimiento de las mismas cuando son transferidas a condiciones naturales. En el cultivo del café se han observado afectaciones considerables por la presencia de fumagina (*Capnodium* spp.) en plántulas aclimatadas. Esta enfermedad se manifiesta formando una costra negra en las hojas que dificulta los procesos de fotosíntesis y transpiración e interfiere en el crecimiento y desarrollo de las plantas y en la expresión de su potencial productivo. En Cuba se han logrado avances en la aplicación de microorganismos rizosféricos y/o sus derivados (productos biológicos) en la protección vegetal, fundamentándose debido a la presencia de sustancias antifúngicas. Por ejemplo, cabe mencionar el efecto positivo que ha tenido el uso de *Burkholderia cepacia* Palleroni y Holmes en el control de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg y *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) (Hernández, 2002) y de *Fusarium* spp. en gladiolo (*Gladiolus* spp.) (Toledo *et al.*, 2002). Otros estudios evidencian el control de afecciones provocadas por el género *Phytophthora* spp. en la papa (*Solanum tuberosum* L.), mediante el empleo de productos de origen bacteriano (Miranda *et al.*, 2000). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un producto biológico obtenido de *Burkholderia cepacia* en el control de la fumagina en el café.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento del hongo fitopatógeno. La cepa del hongo fitopatógeno *Capnodium* spp. se aisló a partir de plantas de café establecidas en campo, se colectaron hojas que presentaban los síntomas característicos de fumagina y se

sembraron asépticamente fragmentos de las mismas en agar agua a pH 5.5. Las cajas Petri se incubaron a 28°C en condiciones de oscuridad durante siete días. Posteriormente, se realizaron observaciones al microscopio estereoscópico y se aislaron estructuras de forma redondeada y color oscuro (cleistotecios), así como micelio, los que fueron transferidos a medio papa-dextrosa-agar (PDA) a pH 5.5. Las cajas se incubaron a 24°C durante ocho días y oscuridad continua. Posteriormente, se procedió al aislamiento e identificación del hongo (Barnett y Hunter, 1972). La cepa se registró con el código LMO9.

Inóculo fúngico. Se utilizaron cajas Petri con medio PDA que contenían la cepa LMO9, se añadieron 500 µL de agua destilada estéril, se raspó el micelio y se obtuvo una suspensión que fue filtrada por manta de cielo de 40 µm a partir de la cual se realizó el conteo de esporas en cámara de Bürker (Bigiramana *et al.*, 2000), ajustando la misma a una concentración de 10⁶ esporas mL⁻¹. Plántulas sanas se inocularon con la suspensión obtenida mediante pinceladas y se observó la aparición de los síntomas dando cumplimiento a los postulados de Koch (Agrios, 2001). Esta suspensión de esporas se ocupó como inóculo fúngico para realizar los bioensayos que se describen a continuación.

Antagonista bacteriano. Se empleó una cepa nativa de *B. cepacia* (MBp1), que forma parte de la colección de cultivos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de La Habana, Cuba.

Producto biológico. La cepa MBp1 se cultivó en medio Sirope Fructosa a 37°C durante 24 h, en agitadora orbital, obteniéndose una concentración de 10⁸ ufc mL⁻¹. Posteriormente, se realizó una centrifugación a flujo continuo para eliminar las células, se concentró por el método de evaporación al vacío en rotoevaporador, obteniéndose aproximadamente el 20% de sólidos totales para realizar las diluciones correspondientes (50, 100, 150 y 250 mg L⁻¹).

Bioensayo *in vitro*. Se evaluó el efecto antagonístico *in vitro* del producto biológico de origen bacteriano sobre la cepa de *Capnodium* spp. Se establecieron cuatro tratamientos que consistieron en inocular 100 µL del producto a diferentes concentraciones (50, 100, 150 y 250 mg L⁻¹) en el centro de las cajas que contenían medio PDA y se diseminaron con espátula de Drigalski. En el tratamiento testigo se utilizó agua destilada estéril. La suspensión de esporas se inoculó en cinco pocillos de 8 mm de diámetro ubicados alrededor del pocillo central en las cajas Petri conteniendo PDA. Se incubaron a 28°C durante siete días en condiciones de oscuridad. El efecto antagonístico e inhibitorio se determinó midiendo el diámetro de crecimiento del hongo para calcular el porcentaje de inhibición de crecimiento (Bashan *et al.*, 1996). Se estableció un tratamiento control que consistió en utilizar agua destilada estéril.

Bioensayo *in vivo*. Se utilizaron plántulas desarrolladas *in vitro* (clones M-229, K-234 y M-28) de la especie *C. canephora* variedad Robusta, obtenidas vía embriogénesis somática, procedentes del Banco de germoplasma de la Estación Central de Investigaciones de Café y Cacao

(Santiago de Cuba, Cuba). Los experimentos se desarrollaron en condiciones de invernadero (humedad relativa 88-90%, temperatura 27 + 1°C e intensidad luminosa de 450 $\mu\text{mol/s m}^2$). Se seleccionaron plántulas que presentaban cuatro pares de hojas y un adecuado desarrollo del sistema radical. Se utilizó la tecnología de siembra en bolsas de polietileno negro (MINAGRI, 1987a). Se establecieron diferentes tratamientos que consistieron en T1 = testigo sin inocular, T2 = plántulas inoculadas con la suspensión de esporas del inóculo fúngico, T3 = plántulas inoculadas más oxiclورو de cobre (fungicida) al 50%, T4, T5, T6 y T7 correspondieron a plántulas inoculadas más la aplicación del producto a 50, 100, 150 y 200 mg L^{-1} , respectivamente. En todos los casos el inóculo fúngico fue de 15 mL y la inoculación se realizó a través de pinceladas. Las aplicaciones de fungicida, producto biológico y agua estéril (testigo) se realizaron por aspersión foliar a los 30, 45 y 60 días de sembradas las plántulas. El índice de la infección de *Capnodium* spp. se evaluó a los 90 días posteriores a la inoculación, de acuerdo a la siguiente fórmula (MINAGRI, 1987b):

$$\text{Índice de infección} = \frac{\sum a \times b}{n \times k} \times 100$$

donde: a = Grado de la escala referido a hojas con síntoma de lesión (%): 0: 0, 1: 1-5, 2: 6-10, 3: 11-25, 4: 26-50, 5: 50-75), b = cantidad de hojas, n = número total de hojas, k = grado mayor de la escala. Se evaluaron además otras variables dependientes: altura de las plántulas (cm), se midió desde la base del tallo hasta la yema apical con una regla graduada en cm; pares de hojas (número), se contaron de forma directa en toda la planta; peso seco aéreo (g), se realizó con ayuda de una balanza técnica hasta lograr un peso constante de las muestras procesadas en la estufa; proteínas totales (mg g^{-1} de tejido) según Bradford (1976); contenido de fenoles libres en hojas (mg g^{-1} de tejido) según Morales y Pozo (1985); y sobrevivencia de las plántulas (%), conteo de las que lograron sobrevivir.

Diseño de experimentos y análisis estadísticos. En ambos bioensayos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado en arreglo simple y fueron replicados tres veces en el tiempo, empleándose cinco repeticiones en cada uno. En el bioensayo 1 se emplearon 15 cajas Petri por tratamiento. En el bioensayo 2 se utilizaron 50 plántulas por tratamiento. A todas las variables se les comprobó su normalidad y los datos fueron procesados mediante análisis de varianza de clasificación simple de una vía utilizando un procesador estadístico (START, 1998), en los casos en que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo *in vitro*. En este estudio se evidenció que el producto

biológico obtenido de *B. cepacia*, inhibe el crecimiento de la cepa de *Capnodium* spp. (Cuadro 1), efecto que pudiera deberse fundamentalmente a la existencia de sideróforos y sustancias antifúngicas en el mismo. Al respecto Velázquez *et al.* (1999) y Pérez *et al.* (2006), han reportado la producción de sideróforos por cepas de *B. cepacia*. Asimismo, Hernández (2002) al realizar la caracterización fisiológica de cepas de *B. cepacia* asociadas al cultivo del maíz obtuvo una concentración de sideróforos de 20 μM , demostrando además, el potencial antifúngico de los mismos. Por otra parte, algunos autores han manifestado la presencia de alcaloides del grupo de las quinolinonas, que exhiben actividad antibiótica con efecto antifúngico en cepas de este mismo género bacteriano (Surk-Sik *et al.*, 1995). De forma general, se obtuvo un 79.3% de inhibición del crecimiento para la cepa de *Capnodium* spp., al emplear 200 mg L^{-1} del producto, resultados que demuestran que para la especie *B. cepacia* los metabolitos desempeñan un papel rector en el control de este fitopatógeno, aspecto que le confiere ventajas desde el punto de vista ecológico, permitiendo el empleo de productos con actividad biológica y libres de células bacterianas.

Bioensayo *in vivo*. Se evidenció el efecto de la inoculación de *Capnodium* spp. sobre las plántulas de los tres clones evaluados; se observaron manchas que afectaron el sistema foliar de las mismas e incidieron en su desarrollo, lográndose reproducir el comportamiento de los genotipos frente a la enfermedad en condiciones naturales; se evidenciaron cambios significativos en la apariencia de las plántulas inoculadas con respecto al vigor y coloración. Las plántulas inoculadas con el fitopatógeno y tratadas con el producto resultaron más vigorosas y presentaron en su follaje un color verde intenso, al parecer por el efecto de protección del producto aplicado que logró reducir los síntomas causados por la fumagina en el cultivo del café. En cuanto al índice de infección de la enfermedad se apreció claramente una mayor resistencia en el clon M-28 (Cuadro 2), lográndose el control total de la enfermedad. El empleo del producto biológico (150 y 200 mg L^{-1}) permitió disminuir las afectaciones causadas por *Capnodium* spp., obteniéndose que en las plántulas inoculadas y tratadas con las distintas dosis del producto, se

Cuadro 1. Efecto del producto de *Burholderia cepacia* en el crecimiento micelial de *Capnodium* spp. después de siete días de incubación a 28°C en la oscuridad.

Tratamientos (dosis de biopreparado en mg L^{-1})	Inhibición del crecimiento micelial (%)
Testigo	00.0 e
50	10.2 d
100	34.8 c
150	66.7 b
200	79.3 a

Medias con letras iguales no presentan diferencias estadísticas significativas (prueba de rangos múltiples de Duncan, $p < 0.05$).

Cuadro 2. Influencia de los tratamientos en el índice de infección de *Capnodium* spp., 90 días posteriores a la inoculación.

Tratamientos	Índice de infección (%)		
	M-229	K-234	M-28
Testigo sin inocular	0 h	0 h	0 h
Testigo inoculado	90 a	90 a	20 e
Oxicloruro de cobre (50%)	10 f	15 f	10 f
Biopreparado (mg L ⁻¹)			
50	60 c	70 b	10 f
100	20 e	30 d	10 f
150	5 g	10 f	0 h
200	5 g	10 f	0 h

Medias con letras iguales no presentan diferencias estadísticas significativas (prueba de rangos múltiples de Duncan, $p < 0.5$).

observó menor afectación con respecto a los testigos inoculados, los que disminuyeron en una proporción del 5 y 10% para M-229 y K-234, respectivamente. Estos resultados demuestran que el producto aplicado redujo el nivel de fumagina en las hojas de las plántulas afectadas y con ello la aparición de los síntomas provocados en el cultivo del café durante las primeras etapas de desarrollo, demostrándose el efecto antifúngico del producto biológico en estudio. Resultó evidente la respuesta diferenciada de los genotipos ante los tratamientos y variables evaluadas. Se demostró además, el efecto de control del producto contra la cepa de *Capnodium* spp. En el tratamiento donde las plántulas fueron inoculadas y no se aplicó el fungicida o el producto biológico, hubo una disminución considerable para las variables pares de hojas (Fig. 1) y altura de las plántulas (Fig. 2). Es de destacar que la altura de las plántulas en el genotipo M-28, en el testigo sin inocular, testigo inoculado y en el tratamiento con 100 mg L⁻¹

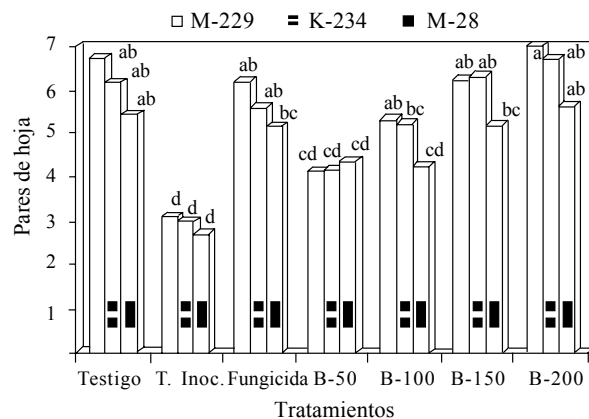


Fig. 1. Formación de pares de hojas (90 días). Plantas inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

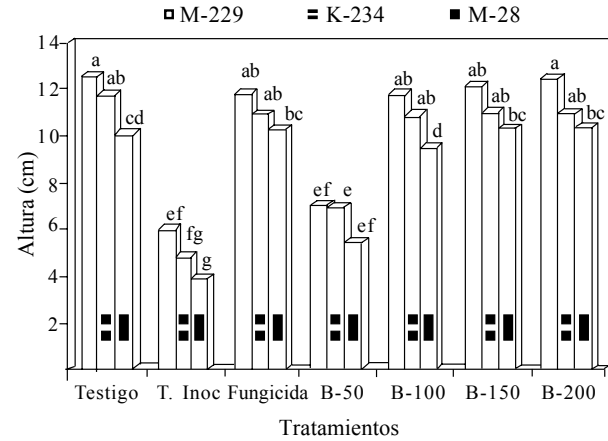


Fig. 2. Altura de las plantas (90 días) inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

resultó inferior al resto de los genotipos, lo que pudiera atribuirse al comportamiento diferencial de este material en relación con los otros genotipos evaluados, evidenciándose variaciones en su capacidad de respuesta, aspectos señalados en estudios precedentes (González, 2004). Investigaciones relacionadas con el empleo de este producto biológico en el control de otras afecciones fungosas han sido desarrollados en el cultivo del maíz para el control de *Fusarium verticillioides* (Hernández, 2002) donde se logró reducir la colonización de la raíz por el patógeno. En las plántulas afectadas y tratadas con el producto, se observaron síntomas de recuperación dados por incrementos en la altura de las mismas con relación al tratamiento control. Con respecto al peso seco, importante indicador del rendimiento vegetal, se observó que en el clon M-28 todos los tratamientos presentaron valores que no se diferenciaron del testigo sin

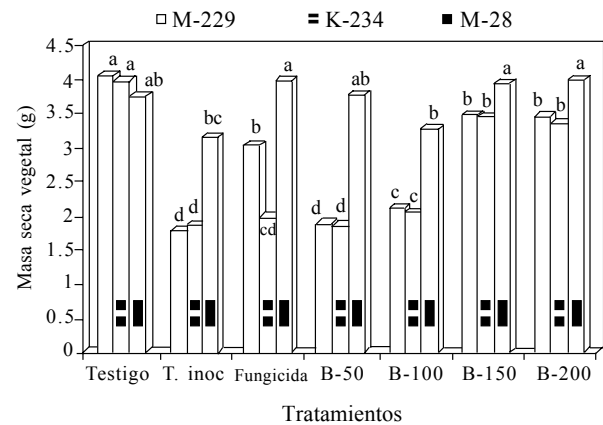


Fig. 3. Peso seco vegetal (90 días). Plantas inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

inocular (Fig. 3), comportamiento que pudiera atribuirse a las características de tolerancia del genotipo en particular. Sin embargo, en los clones M-229 y K-234 se obtuvo una disminución en las plántulas inoculadas, valores que se incrementaron después del tratamiento con la dosis de 100 mg L⁻¹, lo que pudiera estar dado por el grado de susceptibilidad de estos genotipos y a su vez al efecto beneficioso que indujo la aplicación de esta dosis del producto. En el caso de las proteínas totales, se observó que en el testigo inoculado los niveles resultaron inferiores al resto de los tratamientos (Fig. 4), comportamiento observado en los tres clones evaluados. Sin embargo, al emplear el producto biológico para el control de la enfermedad se obtuvo un incremento en los niveles de esta variable, siendo más marcado el efecto en los tratamientos con dosis superiores a 100 mg L⁻¹ del producto. Este comportamiento en el testigo inoculado puede deberse a los daños metabólicos causados por la enfermedad en las plántulas afectadas, debido a los desórdenes metabólicos que tienen lugar durante la biosíntesis de moléculas importantes para el desarrollo y mantenimiento de la planta como un todo, trastornos que al parecer resultaron atenuados o eliminados al realizar el tratamiento con el producto biológico, dada su posible influencia directa sobre el patógeno o en el control de la enfermedad, lo que a su vez favoreció la síntesis de proteínas. Al analizar la presencia de fenoles en los tratamientos (Fig. 5), se obtuvo un incremento significativo en el testigo inoculado, valores que oscilaron entre 17.3 y 21.4 mg g⁻¹ de tejido, diferenciándose el genotipo M-28 de los restantes clones por presentar el valor más elevado. Estos resultados pudieran estar relacionados con la actividad antifúngica que se le atribuye a los compuestos fenólicos, que puede conllevar a la protección contra el ataque fungoso en algunas especies de plantas debido a su papel en la activación de los mecanismos de defensa contra patógenos (Quiroga *et al.*, 2000). En otras investigaciones, al realizar la caracterización

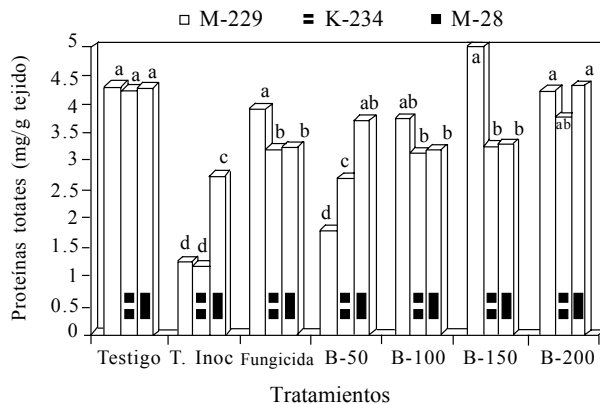


Fig. 4. Contenido de proteínas totales (90 días). Plantas inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

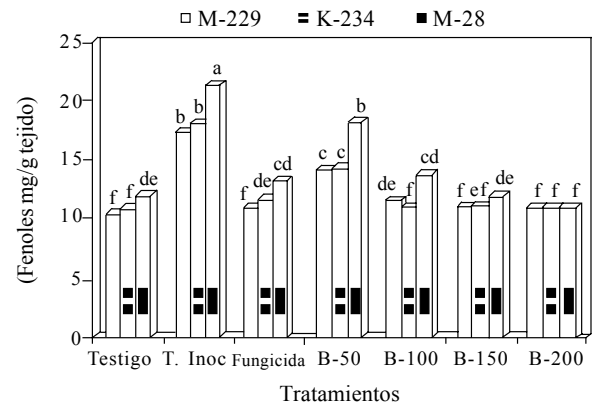


Fig. 5. Concentración de fenoles totales (90 días). Plantas inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

bioquímica de la interacción piña (*Ananas comosus* L.)-*Phytophthora* spp. en plántulas *in vitro* de la variedad *Cayena lisa* y el genotipo silvestre de piña de ratón (*Bromelia pinguin* L.) se obtuvo gran variabilidad en la síntesis y acumulación de fenoles en hojas con relación a la respuesta al ataque del patógeno, obteniéndose los mayores niveles en el cultivar resistente (Santos *et al.*, 1999). En este estudio, en la medida en que se incrementaron las dosis del producto aplicadas en las plántulas inoculadas, disminuyeron los síntomas de la enfermedad y los niveles de fenoles en las mismas. Algunos autores destacan que estos compuestos son el esqueleto carbonado básico para la síntesis de flavonoides, entre los que se encuentran las fitoalexinas (Hutcheson, 1998). El efecto de este producto con relación a la resistencia o tolerancia ante el ataque de fitopatógenos que afectan a diferentes cultivos, ha sido evaluado en otras especies vegetales; así pudiéramos citar la fusariosis en el gladiolo, donde se logró la obtención de plántulas que se

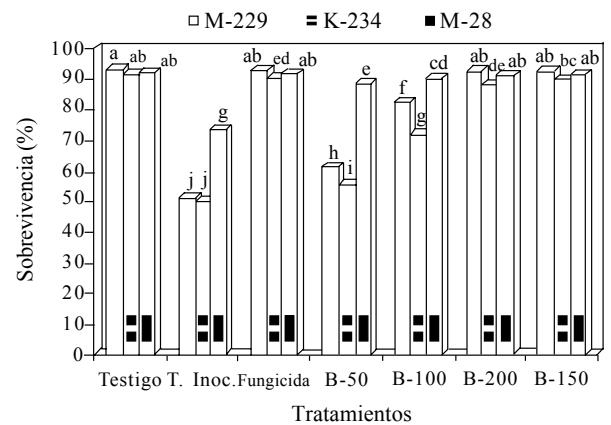


Fig. 6. Porcentaje de sobrevivencia (90 días) de las plantas inoculadas con *Capnodium* spp. y tratadas con diferentes concentraciones del producto de *Burkholderia cepacia*.

desarrollaron normalmente a partir de cormos infestados posterior al tratamiento (Toledo *et al.*, 2002). También se puede relacionar con el éxito evidenciado en el tratamiento de afecciones provocadas por el género *Phytophthora* en la papa, disminuyendo considerablemente los síntomas en plantas dañadas y tratadas con el producto (Miranda *et al.*, 2000). En la Fig. 6, se muestran los porcentajes de sobrevivencia, los que se vieron afectados en las plántulas inoculadas, lográndose una recuperación en los clones M-28 y M-229 con la aplicación de las dosis de 150 y 200 mg L⁻¹. Sin embargo, para el clon K-234 tratado con 150 mg L⁻¹ del producto, estos porcentajes resultaron inferiores a los del testigo sin inocular, aunque se encuentran dentro del rango aceptable para plántulas de café obtenidas *in vitro* en la fase de aclimatación (Santana *et al.*, 1996), aspecto relacionado con la mayor susceptibilidad del genotipo analizado. Nuestros resultados demuestran que el producto utilizado para el control de la fumagina permitió la reducción y/o eliminación de la afectación en las plántulas inoculadas, así como de los síntomas que ésta provoca en el cultivo del café, los que se caracterizan por la formación de una costra que puede cubrir parcial o totalmente las hojas provocando daños fisiológicos. Es de destacar, que en el bioensayo *in vivo* se logró controlar el 100% de la afectación causada por el hongo en el clon M-28 y en un 95 y 90% en los clones M-229 y K-234, respectivamente. Este producto biológico podría estar favoreciendo la inducción de resistencia en las plántulas, preparándolas a su vez para el ataque de patógenos. De forma general, el efecto del producto aplicado podría atribuirse a su composición química, caracterizada por la presencia de un amplio número de metabolitos activos (Hernández *et al.*, 2004), aspectos similares han sido investigados en diferentes cultivos por diversos autores (Bevino *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 1995; Zaki *et al.*, 1997). Estos resultados son de importancia y aplicación práctica para el tratamiento de plántulas crecidas *in vitro* y que posteriormente se adaptan a condiciones *ex vitro*, así como para los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades. Hasta donde tenemos conocimiento, no existen reportes previos del tratamiento de la fumagina con productos biológicos elaborados a base de rizobacterias en la variedad Robusta durante etapas tempranas de desarrollo de las plántulas, donde generalmente se manifiesta la afección fungosa para en este cultivo.

LITERATURA CITADA

- Acosta, M., Caballero, I., Alvarado, Y. y Leiva, M. 2002. Microbiota epifítica y contaminantes fungosos del establecimiento *in vitro* de la guayaba (*Psidium guajava* L.). *Biotecnología Vegetal* 2:67-71.
- Acuña, I., Pentón, G. y Molejón, M. 2002. Caficultura, desarrollo rural y extensionismo. *Café Cacao* 3:82-85.
- Agrios, G.N. 2001. *Fitopatología*. Second Edition. Limusa. México, D.F. 809 p.
- Arias, L., Adazabal, M., Verdecia, J., Viltres, E. y Celeiro, F. 2002. Comportamiento del rendimiento y algunos de sus

componentes en el cultivo del café (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) bajo diferentes ejes ortotrópicos. *Café Cacao* 3:21-22.

- Barnett, H.L., and Hunter, B.B. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Co. Minneapolis, MN, USA. 241 p.
- Bashan, Y., Holguín, G. y Ferrera-Cerrato, R. 1996. Interacciones plantas y microorganismos benéficos. I *Azospirillum*. *Terra* 14:159-195.
- Bertrand, B., Pena-Duran, M. X., Anzueto, A., Cilas, C., Etienne, H., and Anthony, F. 2000. Genetic study of *Coffea canephora* coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita* nematodes in Guatemala and *Meloidogyne* sp. nematodes in El Salvador for selection of rootstock varieties in Central America. *Euphytica* 113:79-86.
- Bevino, A., Damalstri, C., Tabacchioni, S., and Chiarini, L. 2000. Efficacy of *Burkholderia cepacia* MCI 7 in disease suppression and growth promotion of maize. *Biology and Fertility of Soils* 31:225-231.
- Bigirama, J., Fontaine, R., and Hofte, M. 2000. Bean anthracnose: virulence of *Colletotrichum lindemutianum* isolates from Burundi, Central Africa. *Plant Disease* 84:491.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 12:248-254.
- González, M. 2004. Micropropagación de café (*Coffea canephora* P. var. Robusta) mediante la embriogénesis somática con el empleo de metabolitos de origen bacteriano. Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 97 p.
- Hernández, A. 2002. Obtención de un biopreparado a partir de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz (*Zea mays* L.). Tesis de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de la Habana. La Habana, Cuba. 97 p.
- Hernández, A., Rives, N., Caballero, A., Hernández, A.N. y Heydrich, M. 2004. Caracterización de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz en la producción de metabolitos del tipo AIA, sideróforos y ácido salicílico. *Revista Colombiana de Biotecnología* 6:6-13.
- Hernández, C., Piche, Y., and Derjardins, Y. 1999. Water relations of whole strawberry plantlets *in vitro* inoculated with *Glomus intraradices* in a tripartite culture system. *Plant Science* 143:81-91.
- Hutcheson, S.N. 1998. Current concepts of active defense in plants. *Annual Review of Phytopathology* 36:59-90.
- Kilcher, L. 2002. El mercado para café orgánico. *Café Cacao* 3:5-9.
- Meyer, J.M., Tràn Van, V., Stinzi, A., Berge, O., and Winkelmann, G. 1995. Ornibactin production and transport properties in strains of *Burkholderia vietnamiensis* and *Burkholderia cepacia* (formally *Pseudomonas cepacia*). *BioMetals* 8:309-317.
- MINAGRI 1987a. Instrucciones Técnicas para el Cultivo del Café y el Cacao. Centro de Información y Documentación Agropecuario. Ciudad de la Habana, Cuba 208 p.

- MINAGRI 1987b. IV Seminario Nacional de Metodología de Señalización y Pronóstico. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana, Cuba 79 p.
- Miranda, S., Hernández, A. y Marqués, R. 2000. Estudio del efecto antagónico de productos bacterianos ante *Phytophthora infestans*. Memorias del I Encuentro de Agrociencia del Instituto Superior de Ciencias Agrarias. Ciudad de la Habana, Cuba. Resumen, p. 4.
- Montes, S., Martínez, M., Rojas, R., Santana, N. y Cuba, M. 1995. Obtención de embriones somáticos a partir de suspensiones celulares de *Coffea canephora* var. Robusta. Cultivos Tropicales 16:77-81.
- Morales, M. y Pozo, L. 1985. Desarrollo de una técnica de difusión para la determinación de compuestos fenólicos en hojas de árboles de cítricos. Ciencia Técnica Agrícola 8:15-20.
- Nguyen, Q.T., Kozai, T., Heo, J. and Thai, D.X. 2001. Photoautotrophic growth response of *in vitro* cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched conditions. Plant Cell Tissue and Organ Culture 66:217-255.
- Pérez, L., Ríos, M.Y., Hernández, A.N. and Martínez, J. 2006. ¹H and ¹³C assignments of ciclo (N-(Lys-Phe)-Orn-Vall), a semicyclic imide tetrapeptide from *Burkholderia cepacia*. Magnetic Resonance in Chemistry 44:959-961.
- Quiroga, M., Guerrero, C., Botella, M., Barcelo, A., Amayi, I., Medina, M., Alonso, F., Forchetti, S., Tigier, H., Valpuesta, V., and Forchetti, S. M. 2000. A tomato peroxidase involved in the sintesis of lignin and suberin. Plant Physiology 122:1119-1127.
- Ramírez, D., Jiménez, F., Agramonte, D., Gutiérrez, O. y Pérez, M. 1999. Acción de microorganismos bioestimuladores en la aclimatización de vitroplantas. Memorias V Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal. Ciudad de Santa Clara, Cuba. Resumen, p. 24.
- Santana, N., Cortés, S., Martín, J.V. y Montes, S. 1996. Adaptación de vitroplantas de embriones somáticos de cafeto (*Coffea arabica* L.) variedad Catimor (9722). Cultivos Tropicales 17:83-85.
- Santos, R., Tapia, R., Tandrón, Y., Rodríguez, Y., Hernández, M., Quiñónez, J., Lezcano, Y., González, R. y González, A. 1999. Algunos parámetros bioquímicos de la interacción piña-*Phytophthora* para el mejoramiento genético. Memorias V Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal. Ciudad de Santa Clara, Cuba. Resumen, p. 43.
- START, 1998: Sistema Automático para Análisis Estadístico (Versión 4.10) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba 75 p.
- Surk-Sik, M., Mo Kang, P., Sup Yoon, K., Sejoon, Y., and Bin Park, B. 1995. Synthesis of plant growth promoting and fungicidal 4-quinolinone metabolites of *Pseudomonas cepacia*. Bulletin Korean Chemical Society 16:1128-1130.
- Toledo, Y., Hernández, A., Álvarez, M., Martín, G. y Márquez, R. 2002. Determinación del efecto antagónico de un biopreparado a partir de una cepa de *Burkholderia cepacia* ante *Fusarium* sp en el cultivo del gladiolo (*Gladiolus* sp). Cultivos Tropicales 23:11-15.
- Velázquez, M.G., Hernández A., Heydrich M. y Hernández, A.N. 1999. Estudio de la interacción maíz-*Burkholderia cepacia*. Revista Latinoamericana de Microbiología 41:17-23.
- Zaki, K., Misaghi, J., and Heydari, A. 1997. Control of cotton seedling damping off in the field by *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. Plant Disease 82:291-293.