



Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo

TITULO: Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillum lecanii* (Zimm.) sobre *Roya* (*Hemilleia vastatrix* Berkele & Broome) en café arábico en zonas del macizo Guamuhaya.

AUTOR: Est. Erik Hernández Ramírez

TUTOR: MSc. Isel González Marrero

Año 2023

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento del parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre roya del café en el macizo cafetalero Guamuhaya de la provincia de Cienfuegos. El experimento se desarrolló en el año-2023 en áreas de la Empresa Procesadora de Café Eladio Machín de Cumanayagua, se utilizó un diseño de bloque al azar, con 4 tratamientos y cuatro réplicas de 25 plantas cada una para un total de 100 plantas por tratamiento, para lo cual se tomaron tres campos de café ubicados en las tres zonas cafetaleras representativas de dicha Empresa, (El Nicho, San Blas y 4 Vientos) y un campo en el llano, las evaluaciones se realizaron, mensualmente. La evaluación de los niveles de parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* sobre roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), se realizaron según los métodos y frecuencia de muestreos, para el caso de la roya, se empleó la metodología empleada para el minador de la hoja. Atendiendo a los resultados evaluados, los mayores niveles de parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*) ocurrieron en Cuatro Vientos, con el empleo de esta técnica de control biológico se puede lograr, con recursos locales, sustituir productos químicos que además de ser muy costosos contaminan el agroecosistema, Se propuso diseminar este Entomopatógeno en las tres zonas en estudio.

Palabras clave: parasitismo natural, *Lecanicillium lecanii*, *Hemileia vastatrix*, Entomopatógeno

Abstract

The objective of the work was to evaluate the natural parasitism of the fungus *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) in the control of cocci, (*Coccus viridis* Green) and coffee rust in the Guamuhaya coffee massif of the province of Cienfuegos. The experiment was developed in the year-2020 in areas of the Eladio Machín Coffee Processing Company of Cumanayagua, a random block design was used, with 6 treatments and four replications of 25 plants each for a total of 100 plants per treatment for which, three coffee fields located in the three representative coffee growing areas of said Company were taken (El Nicho, San Blas and 4 Vientos), the evaluations were initially carried out 14, 21 and 28 days later. The evaluation of the levels of natural parasitism of the fungus *Lecanicillium lecanii* on *Coccus viridis* Green (green guagua and coffee rust (*Hemileia vastatrix*), were carried out according to the methods and frequency of sampling, in the case of rust, the methodology used was used According to the results evaluated, the highest levels of natural parasitism of *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) on *Coccus viridis* Green and coffee rust (*Hemileia vastatrix*) occurred in the field of four winds, with the use of With this biological control technique, it is possible to achieve, with local resources, to substitute chemical products that, in addition to being very expensive, contaminate the agroecosystem. It was proposed to disseminate this entomopathogen in the three areas under study.

Keywords: natural parasitism, *Lecanicillium lecanii*, *Hemileia vastatrix*, entomopathogen

.



Cumanayagua 3 de diciembre de 2023
Año 65 de la Revolución

AVAL

El trabajo de tesis. Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya* (*Hemilleia vastatrix* Berkele & Broome) en café arábico en zonas del Macizo Guamuhaya, del estudiante Erik Hernández Ramírez con tutoría del MSc Isel González Marrero. El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento del parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre roya del café en el macizo cafetalero Guamuhaya de la provincia de Cienfuegos.

El experimento se desarrolló en el año-2023 en áreas de la Empresa Procesadora de Café Eladio Machín de Cumanayagua, se utilizó un diseño de bloque al azar, con 4 tratamientos y cuatro réplicas de 25 plantas cada una para un total de 100 plantas por tratamiento, para lo cual se tomaron tres campos de café ubicados en las tres zonas cafetaleras representativos de dicha Empresa, (El Nicho, San Blas y 4 Vientos) y un campo en el llano, las evaluaciones se realizaron, mensualmente. La evaluación de los niveles de parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* sobre roya del cafeto (*Hemilleia vastatrix*), se realizaron según los métodos y frecuencia de muestreos, para el caso de la roya, se empleó la metodología empleada para el minador de la hoja. Atendiendo a los resultados evaluados, los mayores niveles de parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre roya del cafeto (*Hemilleia vastatrix*) ocurrieron en Cuatro Vientos, con el empleo de esta técnica de control biológico se puede lograr, con recursos locales, sustituir productos químicos que además de ser muy costosos contaminan el agroecosistema, Se propuso diseminar este Entomopatógeno en las tres zonas en estudio.


Director de la Empresa Procesadora
de Café Eladio Machín.



Índice

Introducción.	1
Problema científico.....	3
Hipótesis.	3
Objetivo general.	3
Capítulo 1. Revisión bibliográfica	5
1.1. El cultivo del café. Generalidades	5
1.2. El cultivo del café en Cuba	6
1.3. Roya del café: <i>Hemileia vastatrix</i> Berkeley Broome	7
1.4. Control de la roya	11
1.5 Combate por medio de prácticas culturales.....	11
1.5.1 La densidad.....	11
1.5.2 Podas.....	11
1.5.3 Fertilización.	12
1.5.4 Combate por resistencia.....	12
1.6. Control químico.	12
1.7. Control biológico	14
1.7.1. <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) Características.	17
1.7.2 Distribución.	19
Capítulo 2. Materiales y métodos	22
2.1. Evaluar comportamiento del parasitismo natural.....	22
2.2. Resultados esperados.....	24
Capítulo 3. Resultados y discusión.....	25
3.1. Evaluación del parasitismo natural de <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) sobre Roya del café.....	
Conclusiones.....	37
Recomendaciones	41
Bibliografía.	¡Error! Marcador no definido.

Introducción

El café, *Coffea arábica* L, es un cultivo de importancia económica y constituye fuente de vida y empleo para varios países del mundo. Es una bebida popular hecha con la semilla tostada de la planta. Se estima que aproximadamente un tercio de la población mundial lo consume, ocupando el segundo lugar en la lista de los productos de mayor importancia económica a nivel mundial, por lo que desempeña un papel crucial a nivel macroeconómico (Sagarpa, 2018). Por esta razón, las plagas son consideradas como riesgos ambientales que ponen en peligro este sector primario de cultivo perenne.

Alguna de las causas que favorece el aumento de las plagas cafetaleras, son la diversificación de los agroecosistemas los cuales presentan sus propios problemas parasitarios de adaptación exitosa; la presencia de plagas menores y la disminución de enemigos naturales, y el cambio climático drástico en algunas regiones donde se cultiva el café; aunado a la crisis económica que ha prevalecido desde su última caída en la cadena agroindustrial cafetalera, por lo que es necesario reforzar estudios científicos y tecnológicos (Sagarpa, 2018). Dentro de los enemigos de la caficultura se encuentran enfermedades fungosas y plagas y dentro de ellas se encuentran, la roya *E. vastatrix*, una enfermedad del café, presente en Guatemala desde el año 1980 y otros países de la región, afecta hojas maduras principalmente y según el grado de severidad puede provocar una intensa caída de las mismas y pérdidas en la producción. En los años 2010 y 2011 se observaron repuntes de roya en diferentes regiones de Guatemala, notándose que no existe un patrón definido en su comportamiento, aún para la misma finca, y de un año para otro., además del uso preventivo de fungicidas, el manejo debe incluir monitoreo de la enfermedad (muestreos), y buenas prácticas de cultivo, con énfasis en una fertilización balanceada. Las parcelas con una alta producción, son más susceptibles a la enfermedad (Anacafé, 2017).

Las enfermedades fungosas han constituido un problema significativo en algunas regiones, principalmente la antracnosis (*Colletotrichum coffearum*), la cercosporiosis (*Cercospora coffeicola*), el ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y la llaga macana (*Ceratocystis fimbriata* entre otras y más recientemente, la roya (*Hemileia vastatrix*);

esta última de mayor repercusión económica. Teniendo en cuenta las problemáticas abordadas, se enuncia el siguiente (Vázquez, 2019).

Varios autores, reflexionan como enfocar el control de una plaga o enfermedad en cuestión, en oposición a la lógica cruda positivista que identifica un enemigo (plaga) al cual hay que derrotar con una bala mágica (plaguicida), proponen una visión holística y una nueva noción del “balance de la naturaleza,” la cual emerge de la biodiversidad y la complejidad que los agricultores tradicionales, que han entendido y cultivado desde un principio. (Alonso, Bartumeus y Catalan, 2018).

Este cultivo, presenta una larga lista de enemigos que ofrecen competencia, dentro de ellas están las malezas, que son enemigos importantes del cultivo del cafeto, toda vez que como es conocido compiten con esta planta en la extracción de nutrientes al suelo, entre otros aspectos; y se considera que las pérdidas pueden ascender al 15%. Otra connotación de estos organismos se relaciona con la capacidad de hospedar fitonemátodos del género *Meloidogyne sp*, los que constituyen plagas de gran importancia en el cultivo, deteriorando la vida del aromático grano (Vázquez, 2019).

La importancia de *L. lecanii* como agente de control biológico es prometedor como un componente importante del manejo integrado de plagas, la temperatura y la humedad relativa son factores que afectan la efectividad de este hongo micoparásito en el cafetal; se considera utilizar una cepa virulenta y coadyuvante para mejorar el efecto de control (Shinde et al., 2018). El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* se ha observado con frecuencia como hiperparásito de *Hemileia vastatrix*, en el laboratorio y en campo (Vandermeer, et al., 2019). Este efecto es más evidente hacia el final de la epidemia; siendo las condiciones microclimáticas propicias y abundancia de roya los que favorecen al regulador natural de la plaga. (Pico, 2018) Existe una red ecológica compleja que involucra el mutualismo agrupado espacialmente entre el formícido (*Azteca instabilis*) con la queresá verde (*Coccus viridis*), infectada por *L. lecanii*; lo que motivó buscar la correlación espacial entre el ataque del entomopatógeno sobre la plaga insectil y la incidencia de la roya del café; donde se observó un efecto bajo, pero estadísticamente significativo del control de la roya, concluyendo que hay un efecto indirecto del mutualismo formícido-coccido. (Vandermeer, et al., 2019) Se ha encontrado

también en California un aumento de las poblaciones nativas de *Lecanicillium lecanii* que eliminó el oídio de la fresa, causado por el hongo *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae* a nivel de ensayos de campo; donde los rociados repetidos redujeron significativamente la enfermedad. (Miller, et al., 2018).

Cumanayagua es una región productora de café de importancia en el país, por lo que el estudio de *L. lecanii* como agente de control biológico es prometedor como un componente importante del manejo integrado de plagas, la temperatura y la humedad relativa son factores que afectan la efectividad de este hongo micoparásito en el cafetal. Los cafetales de la región sufren la presencia de la roya y convendría, entonces, estudiar el impacto que tendría el parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm) sobre el porcentaje de distribución de la roya del cafeto en diferentes áreas cafetaleras del municipio.

Problema científico

Qué impacto tendrá el parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm) sobre el porcentaje de distribución de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome.

Hipótesis

Si se reproduce el hongo a base de la cepa autóctona de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) en las áreas de café en el macizo Guamuhaya, se podrá disponer de una alternativa biológica para el control de roya (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome.

Objetivo general

Evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillum lecanii* (Zimm.) sobre roya (*Hemilleia vastatrix* Berkele & Broome) en café arábico en zonas del macizo Guamuhaya.

Objetivos específicos

1. Evaluar el comportamiento del parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *la roya* (*Hemilleia vastatrix*) Berkeley Broome en diferentes campos en las zonas cafetaleras del macizo Guamuhaya.
2. Determinar el porcentaje de distribución de *la roya* (*Hemilleia vastatrix*) Berkele & Broome en diferentes campos en las zonas cafetaleras del macizo Guamuhaya.

Capítulo 1. Revisión bibliográfica

1.1. El cultivo del café. Generalidades

El cultivo de café se ve limitado por diversos factores que afectan su producción, pudiendo ocasionar la muerte regresiva en ramas e incluso la muerte de los árboles, afirman que entre estos factores están principalmente las condiciones edáficas y climáticas, así como problemas de plagas y enfermedades; principalmente la roya (*H. vastatrix*), que a nivel mundial es considerada la más destructiva del cafeto ya que provoca la caída prematura de las hojas cuando las infestaciones son severas, propiciando la reducción de la capacidad fotosintética, así como el debilitamiento de árboles enfermos predisponiendo de esta manera al ataque de otras enfermedades. (Guhary, Monterrey, Monterroso y Staver, 2020)

Estudios realizados por Pérez (2016), también hacen referencia a países productores de café donde se han reportado insectos como plagas del cultivo, afectando hojas, tallos, raíces y frutos, destacando entre estas las que atacan las raíces, escamas y nematodos; el tallo y las ramas son afectados por los cortadores y taladradores, mientras que las hojas son dañadas por los cortadores y chupadores y algunos frutos por la broca, , se encuentra la roya del café y los cóccidos, estos últimos tienen las características de tomar su alimento succionando la savia de las hojas, ramas y frutos y en algunos casos de las raíces, se encuentran ampliamente distribuidas en todas las plantaciones, causan debilitamiento en las plantas y le pueden causar la muerte cuando la infestación es intensa, aparecen siempre con más severidad en las plantas cloróticas, empobrecidas, producto de una mala agrotecnia o sequias prolongadas.

Vandermeer, Perfecto y Liere (2019), en México plantean que todos los factores, deben tenerse en cuenta, para mantener la biodiversidad en los cafetales, y que la sombra, contribuye al servicio ecosistémico de control de plagas, debiéndose mantener los mismos con sombra para conserva la biodiversidad.

Vandermeer (2018), afirma según sus investigaciones, que todos los organismos que participan en la dinámica del ecosistema creado en el cultivo del café, participan en la red de interacciones son organismos muy bien reconocidos por su asociación al café,

sin embargo, no se conoce el lugar de origen de todas las especies, la roya, es casi seguro que se originó en África, el coccinérido tiene una amplia distribución por el trópico americano, el hongo *L. lecanii* tiene una amplia distribución pantropical, y la mayoría de las hormigas parecen ser nativas de México.

Estudios realizados por (Vandermeer, Perfecto y Liere, 2019), afirman que los organismos en los ecosistemas no son como canecas que llegan a reposar al fondo de una parábola invertida, sin embargo, mediante estudios ecológicos con un componente espacial explícito han podido descubrir una red de interacciones complejas, muchas no lineales, de la cual emerge una noción más profunda del “balance de la naturaleza.” No se refirieren al balance en el sentido Newtoniano, sino al balance que puede ser representado por dunas de arena, las cuales están constantemente cambiando, pero preservan la esencia de las dunas de arena, como ocurre en una plantación de café, donde existe un equilibrio entre todos los factores.

1.2. El cultivo del café en Cuba

El establecimiento del cultivo del Café en Cuba comenzó con la Revolución Haitiana, la que provocó una gran inmigración de franceses y haitianos en distintas oleadas, permitiendo el establecimiento del cultivo y la introducción de nuevas tecnologías que mejoraron no sólo la producción sino también la calidad del grano, además de ejercer una gran influencia en la agricultura y en la cultura en general (INISAV, 2018).

Posteriormente hubo un periodo de decadencia, en el que el cultivo del café fue afectado por el desarrollo de la industria azucarera y el país tuvo que recurrir a las importaciones para satisfacer la demanda interna. Después del triunfo de la Revolución, a partir de 1959, se impulsó su desarrollo y actualmente se está exportando en grano con muy alta calidad. Su producción es considerada de gran importancia, no sólo por su influencia en el producto interno bruto sino por su relevancia social, al constituir fuente de sustento de un amplio segmento de la población en las zonas montañosas (Vázquez, 2019).

1.3. Roya del café: *Hemileia vastatrix* Berkeley Broome

Clase: Pucciniomycetes

Orden: Pucciniales

Familia. Pucciniaceae.

Reino: Fungi

Subdivisión. Basidiomicetos.

Especie: *H. vastatrix*; Berk. & Broome (1869).

La Roya del café *Hemileia vastatrix* Berkeley Broome, es un hongo fitoparásito obligado del cafeto. Pertenece a la subdivisión de los Basidiomicetos, del orden Uredinales, familia Pucciniaceae. Existen 32 razas de roya (*Hemileia vastatrix*) que atacan a especies del género *Coffea* especialmente (*Coffea arábica*, *Coffea canéphora* y *Coffea libérica*), a las plantas de la especie Arábica y también a otras del mismo género, pero con diferentes grados de virulencia. La roya del cafeto es la enfermedad más destructiva del cafeto y la de mayor importancia económica a nivel mundial, debido a que esta enfermedad provoca la caída prematura de las hojas, propiciando la reducción de la capacidad fotosintética, así como el debilitamiento de árboles enfermos y en infecciones severas puede ocasionar muerte regresiva en ramas e incluso la muerte de los árboles (Cesvver, 2018).

Hemileia vastatrix Berkeley Broome, necesita de varios factores para iniciar su ataque contra un nuevo huésped, para darse la penetración del hongo en el hospedero se requiere la formación de apresorios, que son estructuras adhesivas y achatadas a partir de la cual se origina una hifa afilada, que permite forzar la entrada en el huésped, los apresorios pueden formarse entre 6.5 - 8.5 horas después de iniciada la germinación y con temperaturas de 14 a 20 °C (De jong, Eskes, Hoogstraten y Zadoks, 2017). La germinación se inhibe por la luz y cuando se evapora el agua de la hoja, ya que afecta el crecimiento de los tubos germinativos (Avelino y Rivas, 2018)

La penetración del hongo se produce por estomas bien desarrollados, esto explica porque la infección se da en mayor cantidad en hojas adultas que en jóvenes, ya que

en estas últimas la maduración de las estomas es incompleta (Avelino, Eskes, Santacreo y Rapidel, 2019)

Avelino, Eskes, Santacreo y Rapidel (2019), afirman que, para realizarse la colonización, después de la penetración se establecen relaciones tróficas entre el hongo y la planta. Se da la formación de hifas intracelulares, de las cuales nacen haustorios intracelulares, los cuales extraen de las células invadidas los elementos necesarios para el crecimiento del hongo. Esto conduce a la aparición de los primeros síntomas, “un leve amarillamiento entre 10 y 20 días después de la germinación. Unas cuantas hifas invaden posteriormente una cámara sub-estomática y producen un agregado de células esporógenas o protosoro”, algunas de estas células salen por la apertura estomática y producen un esporóforo. Cada agregado producido a nivel de estoma constituye un soro o pústula esporulación.

Según datos aportados por la Asociación Nacional del café de Guatemala (Anacafé, 2017), los primeros síntomas de la enfermedad aparecen en el envés o cara inferior de las hojas, donde se observan inicialmente manchitas pálidas que con el tiempo aumentan de tamaño y se unen formando las características manchas o lesiones amarillo-anaranjado, con apariencia de un “polvo” fino. Ahí se producen las esporas o “semillas” del hongo, con el tiempo las manchas más viejas de roya van adquiriendo un color pardo o necrótico, donde sobrevive el hongo en las hojas (vivas) para el siguiente ciclo (inóculo residual).

Anacafé (2017), en la siguiente estación de lluvias se reactiva la esporulación del hongo en las lesiones necrosadas, iniciándose un nuevo ciclo de la enfermedad. La germinación de esporas es favorecida en temperatura de 22°C, condiciones de obscuridad, período de mojado mínimo de seis horas, luego de la germinación, el hongo penetra en las hojas a través de las aberturas naturales (estomas) situadas en la cara inferior de las hojas maduras.

Entre los factores que influyen en el desarrollo o curva de la enfermedad están: la acumulación de humedad, variaciones de temperatura cercanas a los 22°C, mojado foliar, variaciones bruscas del ambiente, alta carga fructífera, edad de la planta, época

de cosecha, fertilización deficiente y el inóculo primario, que es la mayor fuente de inóculo residual) (Anacafé, 2017)

Según Barquero (2018), los soros son los encargados de producir nuevas uredósporas, el tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de esporas se denomina periodo de latencia; cuanto más corto es el periodo de latencia, más fuerte es la epidemia, de acuerdo a la duración del ciclo reproductivo de la roya en Costa Rica dura alrededor de 30 días, por lo que de acuerdo a los periodos de lluvia en nuestro país se pueden completar de 6 a 8 ciclos de la enfermedad de acuerdo a la región donde se encuentre.

A criterio de Cesvver (2018), el proceso infectivo de la roya del cafeto comienza con los síntomas de la enfermedad que aparecen en el envés de las hojas, en donde se observan manchas pálidas que con el tiempo aumentan de tamaño y se unen formando las características manchas amarillas o naranja, con presencia de polvo fino amarillo, ahí es donde producen las esporas del hongo. La germinación de esporas requiere de la presencia de agua libre por al menos seis horas y también es favorecida con temperaturas entre 21-25°C y condiciones de oscuridad, el apresorio para formarse requiere de un periodo de 5.3-8.5 horas.

La germinación se inhibe por la luz y cuando se evapora el agua de la hoja, ya que afecta el crecimiento de los tubos germinativos. Sin embargo, luego de germinar, el hongo penetra en las hojas a través de las aberturas naturales (estomas) situadas en el envés de las hojas maduras. Una vez que ha penetrado al interior de la hoja, el hongo desarrolla unas estructuras denominadas haustorios, los cuales entran en contacto con las células de la planta y con éstos extraen los nutrientes para su crecimiento. Luego de transcurridos 30 días, después de la colonización, el hongo está lo suficientemente maduro como para diferenciarse en estructuras llamadas soros, que son las encargadas de producir nuevas urediniosporas., el tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de esporas se denomina periodo de latencia (Cesvver, 2018)

Este autor afirma además que, las esporas son de tamaño microscópico (30μ de largo X 20μ de ancho) de forma reniforme, lisas en la cara interna y rugosa en la externa, denominadas urediniosporas, que son producidas en grandes cantidades y corresponden al polvillo amarillo o naranja que se visualiza en el envés de las hojas de café y que es característico de esta enfermedad. Las teliosporas, cuya ocurrencia es muy baja, son de forma redondeada de $20\text{-}25\mu$ (Cesvver, 2018).

Los síntomas inician como pequeñas manchas de 1-3 mm, translúcidas y de color amarillo claro., la lesión crece en tamaño y pueden coalescer con otras manchas, hasta formar grandes parches con abundante polvo amarillo (esporas) en el envés de las hojas y que en su lado opuesto se observan como manchas amarillas, las lesiones viejas se necrosan, pero la esporulación puede continuar en el margen de las lesiones, daños severos, mayores al 60%, pueden causar defoliación. Si la infección ocurre en etapas tempranas se puede presentar una reducción en el rendimiento, sin embargo, si la infección se presenta en etapas tardías, el efecto se observará en los niveles de amarre de fruto del siguiente ciclo de cultivo (Cesvver, 2018).

El ataque de la roya al cafeto se inicia con la liberación de sus uredosporas –esporas, la estructura reproductiva más importante de este hongo, que puede persistir año tras año en este estado. Entre tres y 12 horas después, estas germinan. Para ello se sirven de una especie de tubo de germinación que va avanzando sobre la gota de agua hasta encontrar una estoma abierta en el envés de la hoja. Inmediatamente, entre los espacios intercelulares, se empieza a desarrollar el micelio, en el que aparecen unos órganos llamados haustorios, mediante los cuales, la roya penetra en el interior de las células y empieza a alimentarse del tejido de la hoja (Cesvver, 2018).

Como consecuencia de un ataque severo, entre 10 y 15 días después del inicio del ataque, ya se puede apreciar en las hojas manchas amarillentas que se van tornando de color café, a medida que se va necrosando el tejido, la aparición de nuevas uredosporas puede tener lugar a los 15 días, más o menos, aunque el período de incubación depende de las condiciones climáticas (Cesvver, 2018).

Afirmaciones de varios autores , reafirman que, la roya del café, *H. vastatrix*, está estrechamente ligada a todas las afectaciones recibidas por el cultivo, es bueno

recordar, que la misma tuvo un enorme impacto en la historia, no solo de la industria del café, sino también del imperialismo europeo, ya que tanto el imperio holandés como el británico fueron apoyados por el cultivo del café en Asia, hasta que éste fue devastado por la roya, la misma causó el colapso total del cultivo de café en Ceylon (ahora Sri Lanka), Java, Sumatra, y en partes de India (Jackson et al., 2019).

1.4. Control de la roya

En su investigación, Barquero (2018), afirmó que, la roya que afecta el cultivo del café, ha obligado a un uso continuo de agroquímicos, en especial del grupo de los triazoles, por lo que se han buscado alternativas para el manejo de esta enfermedad reduciendo las aplicaciones de productos químicos. Para este manejo es importante conocer el ciclo de vida del hongo, la curva epidemiológica, así como las condiciones climáticas que favorecen la enfermedad, para determinar las medidas que puedan afectar al hongo en su estado más vulnerable.

1.5 Combate por medio de prácticas culturales

1.5.1 La densidad

Este autor durante su proceso investigativo alega que, la adecuada densidad dependerá de las condiciones climáticas del lugar, las características del terreno (inclinación, tipo de suelo, etc.), así como las características específicas de cada variedad, la distancia de siembra es importante ya que permite una adecuada entrada de aire y luminosidad para la planta, favoreciendo el secado rápido de las hojas debido a las lluvias o rocío, reduciendo las condiciones favorables para la germinación de *Hemileia vastatrix*, (Paiva, et al., 2018), también en esta información se hace referencia a que en sus estudios (Barquero, 2018), reafirma que se puede utilizar de referencia la siembra de las plantas con un marco de plantación a una distancia de 2m entre hileras y 1m entre plantas.

1.5.2 Podas

Colectivo de autores del Instituto de Café de Costa Rica (ICAFE, 2019), afirman que un sistema de poda bien equilibrado estimula la formación de tejido productivo, nuevo y

vigoroso, además favorece la disminución de las enfermedades al mejorar la distribución de la luz y aumentar la aireación, en este país, del total de hectáreas cultivadas, un 15,1% requieren podas y un 5,3% requieren renovación; en ambos casos se refleja que el manejo del cultivo, no ha sido afectado por el envejecimiento de las plantaciones de café.

1.5.3 Fertilización

Enuncia este autor que, la fertilización es probablemente la actividad que más repercute en la productividad de los cafetos, además una plantación bien nutrida es menos propensa a la infección de enfermedades, ya que esta contará con mejores defensas contra los microorganismos dañinos. Cuando la planta está en la etapa de formación de frutos, requiere una mayor demanda nutricional, si no se suplen estas demandas, sufren un estrés, translocando los nutrientes de las hojas a los frutos, reduciendo los niveles nutricionales en las hojas, haciéndolas más susceptibles a la roya (Barquero, 2018).

2.5.4 Combate por resistencia

Informan representantes del Instituto de café de Costa Rica, (Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE, 2019), que este método consiste en la utilización de cultivares resistentes a la roya, en este país, la variedad Obatá fue liberada, por ser altamente tolerante a la roya y sobresale por sus características productivas y de calidad de taza, además (Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE, 2019) que afirma que existen además dos híbridos F1 con resistencia incompleta a la roya (L13A44) y (L12A28) los cuales deben ser propagados en laboratorio por embriogénesis somática, ya que son la primera descendencia del cruce, esta información, fue corroborada además por (Barquero, 2013)

1.6. Control Químico

Según Rivillas, Serna, Cristancho y Gaitan (2018), el control químico de la roya *Hemileia vastatrix*, se realiza mediante la aplicación de fungicidas que, pueden ser protectores o sistémicos, en el primer caso son productos a base de cobre y actúan cubriendo la superficie de la hoja, previniendo la germinación de las esporas, sin

embargo, estos productos no curan, por lo que en las partes que ya han sido atacadas el hongo continúa su desarrollo. También se ha comprobado que los cúpricos, como metales pesados, son contaminantes fuertes del ambiente, además que estos productos se lavan fácilmente cuando llueve intensamente, por lo que es indispensable buscar otras alternativas de control.

Afirman, además, que los fungicidas sistémicos son productos cuya finalidad es detener el avance de las lesiones de roya, desde el interior de las hojas, la gran mayoría de los fungicidas sistémicos utilizados hoy en día pertenecen al grupo de los triazoles, cuyo mecanismo de acción se basa en impedir la producción de ergosterol, que ofrece resistencia por parte del patógeno al fungicida. (Rivillas, Serna, Cristancho y Gaitan, 2018)

Según Subero (2017), la roya que ataca el cultivo de café *Hemileia vastatrix*, está considerada en el ámbito mundial entre las siete enfermedades más peligrosas que atacan a las plantas tropicales, y es sin duda la enfermedad más dañina del café), este hongo ingresó por primera vez a Costa Rica en 1983 y hoy en día se encuentra presente en todo el país y otros de la región durante la mayor parte del año.

Por otra parte, y no menos importante, se alega por Barquero (2018), ICAFE (2019), que esta enfermedad se ve favorecida por las temperaturas cálidas y ambientes húmedos y lluviosos; su importancia es mayor en zonas cafetaleras de altura media y baja.

El principal daño causado por este hongo es la caída de gran cantidad de hojas (especialmente en ataques severos) lo que causa un debilitamiento general de la planta, una maduración muy irregular de la cosecha y una reducción de la producción para el siguiente año, alrededor de un 20%, a este planteamiento hicieron alusión también (Avelino y Rivas, 2018)

Según el Instituto del Café de Costa Rica (ICAFE, 2019), las acciones de combate de la enfermedad han girado en torno al uso de fungicidas, ya que este es el método que tradicionalmente ha presentado los mejores resultados en el combate de la roya; para la distribución de fungicidas para el combate de la enfermedad en Costa Rica.

Cristancho, et al. (2018), denuncian que la gran mayoría de los fungicidas pertenecen al grupo de los triazoles, esto ha provocado una disminución en la efectividad, ya que una aplicación masiva de productos con el mismo grupo químico puede provocar la generación de resistencia por parte de la cepa, haciéndola inmune a los fungicidas, teniendo en cuenta la alta tasa de mutación que posee *Hemileia vastatrix*, no es de extrañar que se encuentren con más frecuencia razas nuevas de la roya, las cuales pueden conferir de manera gradual resistencia a fungicidas de este último grupo, planteamiento similar lo realizó (Oliver, 2018).

El autor Oliver (2018), informa, que la mayoría de los fungicidas utilizados para el combate de la roya son considerados como tóxicos, por lo que dicho combate representa un riesgo no solo para el ambiente, sino por los problemas de salud de las personas y animales, debido a ello se están buscando alternativas que reduzcan el número de aplicaciones químicas que se realizan actualmente.

En informaciones brindadas por la Organización de Naciones Unida para la Alimentación y la Agricultura ((FAO, 2018)y abordada con anterioridad por Retana (2006), entre las alternativas evaluadas destacan organismos que realizan un control biológico, como es el caso del hongo *Lecanicillium lecanii*, el cual es uno de los hiperparásitos de la Roya del Café que más ha sido estudiado en condiciones naturales y al cual se le reconocen atributos especiales como un enemigo natural de *Hemileia vastatrix*, que perdura en el tiempo.

1.7. Control biológico

Para lograr el desarrollo de un programa exitoso de control biológico requiere un profundo conocimiento de la ecología del agente de control de la enfermedad y de la enfermedad misma, lo que incluye verificar que *L. lecanii* de origen natural puede reducir significativamente la prevalencia o severidad de *H. vastatrix* en campo, (Vandermeer, Perfecto y Liere, 2019) mostraron, utilizando estudios de campo que *L. lecanii* y *H. vastatrix* en una finca de café orgánico en el sur de México, que la presencia de *L. lecanii* se correlaciona con una reducción significativa en la prevalencia de *H. vastatrix*.

Estos mismos autores, demostraron que existe una correlación negativa significativa entre la abundancia de *L. lecanii* y la prevalencia de la roya del café en el mismo año, se plantean la hipótesis, basándose de los dos hongos, que puede haber un efecto a través de años que podría ser muy fuerte, dado que la roya es un hongo biótrofo solo puede sobrevivir en tejido vivo del huésped. (Vandermeer, Perfecto y Liere, 2019)

De acuerdo a lo planteado por Jackson (2019) y Vandermeer, Perfecto y Liere (2019), esto implica que una alta abundancia de *L. lecanii* al comienzo del período de alta actividad de la roya, puede desempeñar un papel importante en la prevención de un brote de roya al restringir la reproducción de esta antes de que tenga la oportunidad de convertirse en una epidemia local. Ellos consideran que el hongo, *Hemileia vastatrix* podía ser suprimido con la acción de microorganismos endofíticos, por lo que se estudiaron el efecto de organismos como *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. alcaligenis*, *P. putida* y *Lecanicillium lecanii*. Según (FAO, 2018) además que con cepas de *Bacillus thuringiensis* aisladas en Colombia, se produjeron inhibiciones en la germinación de la Roya entre 77 y 97 %.

Informan Avelino y Rivas (2018), que en estudios realizados determinaron que *L. lecanii*, tiene la capacidad de parasitar la roya y disminuir la cantidad de inoculo primario para la epidemia del hongo del año siguiente, por lo que se han realizado numerosos esfuerzos por encontrar alternativas al control químico de la roya y entre estas trabajan por estabilizar el estudio anteriormente citado.

Estudios realizados por Alavo (2017), menciona que *Lecanicillium lecanii* es uno de los más comunes y eficientes Entomopatógenos de áfidos, thrips, Dípteros, Lepidópteros, Himenópteros y Homópteros. Gracias a esto se han logrado (Eskes, Mendes y Robbs, 2017) realizar aislamientos de este hongo provenientes de insectos, los cuales fueron capaces de parasitar *Hemileia vastatrix*. También se indica que las royas y hongos son un sustrato común de *L. lecanii*.

Según mostraron que aislamientos de *L. lecanii* parasitaron con facilidad lesiones de roya del café, y con condiciones de elevada humedad relativa, este mostró propiedades hiperparasíticas y antibióticas en laboratorio, sin embargo, al realizar las pruebas en campo el hongo no presentó el desarrollo hiperparasítico deseado.

Macdonald, Jackson y Zemenick (2018), atribuyeron el bajo desarrollo hiperparasítico deseado, a la baja humedad relativa presente y a otros factores ambientales, así como Jackson, Zemenick y Huerta (2017), revelaron el potencial epizoótico de *Lecanicillium lecanii* de realizar un control biológico mediante las interacciones de mutualismo entre hormigas y la escama del café.

Jackson, Zemenick y Huerta (2019), mostraron que *L. lecanii* es un enemigo natural de la escama del café (*Coccus viridis*), la cual a su vez posee una relación mutualista con la hormiga *Azteca instabilis*, donde estas transportan y protegen a la escama de depredadores y parasitoides, y las escamas producen un “néctar” rico en carbohidratos que las hormigas consumen. Cuando las esporas de *L. lecanii* que se encuentran en propágulos viables en el suelo son transportados por el viento o salpiques de lluvia, llegan a la escama, germinan y se multiplican sobre esta, y posteriormente las escamas son transportadas por las hormigas en la planta de café, diseminando las esporas del hongo, llegando a parasitar a *Hemileia vastatrix*.

Cortez (2017), determinó que con baja humedad relativa (80%) el aceite al 15% fue más favorable para el desarrollo micelial y la velocidad de germinación del hongo, ya que este reducía el riesgo de desecación de los conidios. También obtuvo que la mayor mortalidad de áfidos se obtuvo con la formulación del hongo + aceite que al utilizar el hongo sin coadyuvante. Este estudio concluyó que la efectividad biológica de *L. lecanii* en campo puede ser incrementada mediante formulaciones en aceite vegetal.

Por otra parte, en un estudio realizado por Williams (2020), probaron coadyuvantes de diferente composición (aceites vegetales, aceites minerales, surfactantes, entre otros) con una formulación comercial de *Lecanicillium lecanii* obteniendo pequeños beneficios al usar aceite vegetal.

1.7.1. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Características.

Hongo. *Lecanicillium lecanii* (Zare y Gams, 2021).

Según estudios realizados por Zare y Gams (2021). De acuerdo al Centro Nacional de Información Biotecnológica de EU (NCBI) que toma como referencia a la clasificación taxonómica para *Lecanicillium lecanii* es la siguiente.

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Género: *Lecanicillium*

Especie: *L. lecanii*

Lecanicillium lecanii, posee una amplia distribución mundial, desde Asia, Europa, América y algunas islas del Caribe. Este hongo ha sido aislado de sustratos como suelo, otros hongos, así como de insectos en todas sus etapas de desarrollo (Retana 2006). *L. lecanii*, puede crecer en un ámbito de temperatura entre 4C 0 y 30C 0 sin presentar crecimiento a más de 35C 0 (Cuthbertson, et al., 2018), (López y Carbonell 2019).

De acuerdo a Ayala, Mier, Sánchez y Toriello (2018), el crecimiento óptimo del hongo, así como su mayor tasa de infección se presenta a una temperatura de 25C 0. La humedad relativa óptima para la germinación de los conidios se encuentra entre 90 y 95%. Estas condiciones son críticas en las etapas iniciales de germinación, sin embargo, no son tan determinantes en lo que respecta a invasión, perforación y penetración del hongo, debido a que estas etapas se pueden realizar en condiciones de humedad relativamente bajas (Inglis, et al., 2021).

L. lecanii es un hongo deuteromicetes, imperfecto que se reproduce asexualmente, perteneciente al orden Moniliales, esta especie está formada por un complejo biotipo y cepas diferentes que difieren ligeramente en su apariencia externa y por tener un abanico distinto de hospedadores, cuando la penetración se da por la cutícula intervienen lipasas, quitinasas y proteasas que descomponen el tejido y facilitan la penetración de la espora. (Gómez, Zapata , Torres y Soberanís, 2019).

El tubo germinativo de los conidios invaden directamente, produciendo apresorios que penetran la epicutícula, dando lugar a las hifas dentro de la cavidad del insecto, las cuales se desarrollan en el hemocoele y circulan en la hemolinfa, las esporas también pueden germinar en la melaza que segrega la mosca blanca o sobre los Carbohidratos que se adicionan al producto comercial, infectando posteriormente a los insectos (Gómez, Zapata , Torres y Soberanís, 2019).

El modo de acción de *Lecanicillium lecanii* es por contacto, hiperparasitando otros hongos, entre ellos la roya, una vez que las esporas entran en contacto con el patógeno se da una liberación de enzimas, como la β -1,3-glucanasa, quitinasas, amilasas y proteasas, las cuales causan alteraciones en las paredes celulares del hospedero, permitiendo que las hifas de penetración de *L. lecanii* ingresen (Inglis, et al., 2021).

Lecanicillium lecanii, presenta micelio tabicado, conidióforos simples o, más anchos en la base y adelgazándose hacia los extremos, en donde se encuentran los conidios agrupados en cabezuelas, rodeados de una sustancia mucilaginosa, unicelulares, hialinos, de forma cilíndricos a ovoides, este hongo cubre con un micelio de color blanco a sus hospederos, rodeándolo como con un halo, de allí que se le conoce con el nombre de “hongo blanco de la corona. Según (Gómez, Zapata , Torresy Soberanís y 2017)

Se considera que, no es un parásito obligado sino que también se halla de modo saprofítico (vive sobre materia orgánica ceca), las esporas pueden sobrevivir por un tiempo largo en tierra o en una situación de líquido aireado, actúa por contacto, resulta efectivo para el control de todos los estadios de la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*) y con una acción secundaria sobre trips, y sus esporas

se adhieren firmemente a la cutícula de los Insectos, penetran la misma y el tejido fino se ve afectado en el plazo de 48 horas después de la infección, la penetración del hongo en el huésped ocurre a través de la cutícula o por vía oral (Gómez, Zapata, Torres y Soberanís, 2017).

1.7.2 Distribución

Según (Alayo, 2018) el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii*, ocasiona epizootias en ambientes cálidos y húmedos (humedad relativa encima de 80 % y temperatura entre 20 a 25 °C), en un amplio rango de hospederos: insectos de los órdenes Hemíptera, Coleóptera, Díptera y Lepidóptera y ácaros de la familia Tetranychidae, y otras plagas subtropicales, además, ha sido encontrado sobre insectos del orden Himenóptera, referenciado entre otros por (Díaz, 2019).

Según (Monzón, 2018), que el micelio produce una toxina llamada ciclodepsipéptido bassianolide, demostrado que mata a las larvas del gusano de seda (*Bombyx mori* L.), además, produce otras toxinas como el ácido dipicolínico y el ácido oxálico, los insectos se infectan cuando entran en contacto con las esporas del hongo que crece y luego invade el cuerpo, los individuos infectados aparecen de color blanco a amarillento, semejando partículas de algodón; las condiciones ambientales, favorables son temperaturas de 15 a 25°C y una humedad relativa de 85 a 90 %, por lo menos 10 a 12 horas para tener un buen desarrollo sobre el huésped (Durante el proceso de invasión del hongo se producen una gran variedad de metabolitos tóxicos (ej. Ácidos hidroxicarboxílicos, ácido dipicolínico, Fenilalanina anhidra, dimetoxi-P-benzoquinona, aphidicolina, ácido picolínico).

Los síntomas de la enfermedad en el insecto son la pérdida de sensibilidad, incoordinación de movimientos, obstrucción mecánica de los conductos respiratorios, agotamiento de las reservas, interrupción de los órganos y parálisis. El insecto muere después de la producción de una gran cantidad de hifas y queda momificado (Monzón, 2018).

Reafirma Monzón (2018), que el micelio del hongo se observa primero en partes blandas de los insectos y en días posteriores se incrementa a todo el cuerpo hasta finalmente cubrirlo, en el caso de moscas blancas, las larvas y pupas muertas, son de color amarillo pálido a oscuro, rugosas y ya sin brillo. Pasado un tiempo y con unas condiciones de alta humedad relativa, el hongo puede crecer fuera de la cutícula y comenzar a esporular, cubriendo al insecto con una pelusa fúngica blanca. Los primeros síntomas de la infección por el hongo pueden verse pasados entre 7-10 días. Dos semanas después de la pulverización son claramente visibles, no deja residuos peligrosos ni en las hojas ni en la fruta, no causa efectos tóxicos al ser humano, pájaros, peces o mamíferos.

Esa recién descubierta “cultura cafetera” ha empezado a extenderse al resto del mundo. En los países que ya tenían gran tradición cafetera, como Italia, Alemania y los países escandinavos, añadió nuevos conversos a los placeres del buen café. Hoy es posible encontrar buen café en cualquier ciudad importante del mundo, desde Londres hasta Sídney y hasta Tokio; mañana se tomará más café en todo el mundo y, lo que es más importante, un café mejor (Monzón, 2018).

Las esporas se dispersan localmente y atacan la roya, tienen evidencia que muestra una relación positiva entre la distancia de un evento epizootico previo y la incidencia de roya en, los cafetos más cerca del centro del epizootico de *Lecanicillium* tienen menor incidencia de roya que los que están más lejos, también, a nivel de la parcela, hay una relación negativa significativa, en la incidencia de roya. (Vandermeer, Perfecto y Liere, 2019)

Lecanicillium lecanii (Zimm.) zare es un entomopatógeno que es utilizado como control biológico, usándose para el control de insectos dañinos a las plantas, es muy efectivo y provoca en el insecto la pérdida de sensibilidad, incoordinación de movimientos, obstrucción mecánica de los conductos respiratorios, agotamiento de las reservas, interrupción de los órganos y parálisis. (Gómez, Zapata , Torres y Soberanís, 2019).

El hongo *Lecanicillium lecanii* es uno de los hiperparásitos más comunes de la roya del café, se encuentra en los cafetales en forma natural y podría ser un buen candidato para el control biológico de la roya dada la importancia de la enfermedad de la roya de café y la posibilidad de su empleo de forma inundativa (Leguizamón, Vélez y Gónzales, 2019).

Capítulo 2. Materiales y métodos

2.1. Evaluar comportamiento del parasitismo natural

- Evaluación del comportamiento del parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre la roya (*Hemilleia vastatrix*) Berkeley Broome y por ciento de distribución de la roya durante el año en diferentes campos en las zonas del macizo Guamuhaya.

El trabajo se desarrolló en el año 2023 en áreas de la Empresa Procesadora de Café Eladio Machín de Cumanayagua, Provincia de Cienfuegos, en el periodo comprendido de enero a diciembre, teniendo en cuenta las tres zonas predominantes, se tomó un campo representativo, en el Mamey, San Blas, Cuatro Vientos y un campo en el llano, estos cuatro campos se tomaron por interés local del territorio. Se utilizó la metodología de señalización conjunta del minador roya del cafeto que consistió en tomar 100 hojas de 33 plantas en las tres partes: alta, media y baja y en ellas se evaluaron hojas afectadas por roya y parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii*, determinando por ciento de distribución y parasitismo natural por meses, las evaluaciones se realizaron inicialmente y todos los meses hasta que terminó la investigación.

Tabla 1

Representación de los campos por zona de estudio.

Campo	Zona	Área ha
Mamey	Nicho	1.0
San Blas	San Blas	1,0
Cuatro Vientos	Cuatro Vientos	1.0
Campo (llano)	Sub urbana	1.0
Total	-	4.0

Se empleó un diseño de bloque al azar, con 4 tratamientos y cuatro réplicas de 25 plantas cada una para un total de 100 plantas por tratamiento. Para la realización del análisis estadístico, se utilizó el paquete estadístico STATICA, los datos se

transformaron en $2 \arcsin \sqrt{p}$, y se les realizó un análisis de varianza, las medias se compararon por el método de Duncan para p menor del 0,05%.

Para la determinación de los niveles de parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii*, se empleó la fórmula: p

$$P = \frac{TPP}{TIC} \times 100$$

Donde:

P Parasitismo.

TPP Total de Pústulas Parasitadas

TIC Total de hojas contadas.

Para determinar el porcentaje de tejido enfermo sobre roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), se utilizará la escala de cinco grados (INISAV, 2018).

Tabla 2

Escala de cinco grados (INISAV, 2018).

Grado de la escala	Descripción de los síntomas
0	Hojas sanas
1	Hojas con un cuadrante afectado por roya, con presencia como mínimo de 1 pústula en cada hoja
2	Hojas con dos cuadrantes afectados por roya, bien en los dos basales o del vértice, o dos laterales contiguos, o dos opuestos, por tanto, como mínimo cada hoja tendrá 2 pústulas situadas cada una en diferentes cuadrantes.
3	Hojas con tres cuadrantes afectados por roya, por tanto, como mínimo cada hoja tendrá 3 pústulas situadas cada una en diferentes cuadrantes.
4	Toda la hoja afectada por roya, es decir, sus cuatro cuadrantes, por tanto, cada hoja tendrá como mínimo 4 pústulas distribuidas en los cuatro cuadrantes.
5	Toda la hoja afectada por roya, es decir, sus cuatro cuadrantes, por tanto, cada hoja tendrá como mínimo 5 pústulas distribuidas en los cuatro cuadrantes.

La intensidad promedio de la enfermedad por parcela se calculó utilizando la fórmula de Townsend y Heuberger (CIBA GEYGI, 1980).

$$\% \text{ Intensidad} = \sum (n \times v) / K N \times 100$$

Dónde: n – número de órganos con cada grado.

v - valor de la escala.

N – total de muestras consideradas.

K – mayor valor de la escala.

2.2. Resultados esperados

1. Evaluar el comportamiento del parasitismo natural del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre la roya del cafeto (*Hemilleia vastatrix* Berkeley Broome en diferentes campos de las zonas cafetaleras, durante el año en el municipio Cumanayagua provincia Cienfuegos.
2. Determinar los periodos vulnerables de la enfermedad para perfeccionar la estrategia de manejo de la misma.
3. Determinar qué impacto tendrá el parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm sobre el porcentaje de distribución de la roya del cafeto (*Hemilleia vastatrix*) Berkeley Broome.

Capítulo 3. Resultados y discusión

3.1. Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café*

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes enero, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre uno y ocho porcientos, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre los cuatro tratamientos en estudio, no existieron diferencias estadísticas significativas (Tabla 3).

Tabla 3

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes enero.

Campos	Parasitismo Natural Enero	
	% de parasitismo	Significación
Mamey	3	a
San Blas	4	a
Cuatro Vientos	8	a
Llano	1	a
ES	0.15	
CV %	40.5	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0,05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes febrero, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre tres y 10 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre el campo Cuatro Vientos y los tres restantes, existieron diferencias estadísticas significativas. (Tabla 4).

Tabla 4

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes febrero.

Campos	Parasitismo Natural febrero	
	% de parasitismo	
Mamey	4	b
San Blas	5	b
Cuatro Vientos	10	a
Llano	3	b
Es	0.02	
CV %	4.44	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0,05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes marzo, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatro campos en estudio, estuvieron entre cuatro y 13 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre el campo Cuatro Vientos y los tres restantes, existieron diferencias estadísticas significativas. (Tabla 5).

Tabla 5

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes marzo.

Campos	Parasitismo Natural marzo	
	% de parasitismo	
Mamey	4	b
San Blas	9	b
Cuatro Vientos	13	a
Llano	4	b
Es	0.09	
CV%	16.9	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0,05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes abril, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre cinco y 10 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre los cuatros campos en estudio, no existieron diferencias estadísticas significativas. Tabla 6

Tabla 6

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) abril

Campos	Parasitismo Natural abril	
	% de parasitismo	
Mamey	6	a
San Blas	10	a
Cuatro Vientos	6	a
Llano	5	a
Es	0.06	
CV%	11.7	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0,05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes mayo, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre siete y 9 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre los cuatros campos en estudio, no existieron diferencias estadísticas significativas. Tabla 7

Tabla 7**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.). Mayo**

Campos	Parasitismo Natural mayo	
	% de parasitismo	
Mamey	7	a
San Blas	8	a
Cuatro Vientos	9	a
Llano	7	a
Es	0.04	
CV %	7.2	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor del 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes junio, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre 3 y 7 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre los cuatros campos en estudio, no existieron diferencias estadísticas significativas. (Tabla 8).

Tabla 8**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) junio.**

Campos	Parasitismo Natural junio	
	% de parasitismo	
Mamey	3	a
San Blas	5	a
Cuatro Vientos	7	a
Llano	3	a
Es	0.07	
CV %	17.0	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *I. lecanii* en el mes de julio, se pudo observar que prevalece sobre los restantes campos en estudio el campo Cuatro Vientos, con un porcentaje de parasitismo de 17%, estos valores están relacionados por factores ambientales y altura sobre el nivel del mar lo que origina el surgimiento de un micro clima favorable para el establecimiento del entomopatógeno. Entre los tres campos restantes no existen diferencias estadísticas significativas, pero sí entre estos y los mostrados por el campo Cuatro Vientos. Tabla 9.

Tabla 9

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) julio.

Campos	Parasitismo Natural julio	
	% de parasitismo	
Mamey	6	b
San Blas	7	b
Cuatro Vientos	17	a
Llano	6	b
Es	0.09	
CV%	11.9	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *I. lecanii* en el mes de agosto, se pudo observar que los niveles de parasitismo oscilan entre 5 a 15%, prevalece sobre los restantes campos en estudio el campo Cuatro Vientos, con un porcentaje de parasitismo de 15%, estos valores están relacionados por factores ambientales y altura sobre el nivel del mar lo que origina el surgimiento de un micro clima favorable para el establecimiento del entomopatógeno que aún es bajo. Entre los tres campos restantes no existen diferencias estadísticas significativas, pero sí entre estos y los mostrados por el campo Cuatro Vientos. Tabla 10.

Tabla 10**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) agosto.**

Campos	Parasitismo Natural agosto	
	% de parasitismo	
Mamey	5	b
San Blas	5	b
Cuatro Vientos	15	a
Llano	7	b
Es	0.09	
CV%	16.3	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *L. lecanii* en el mes de septiembre, se pudo observar que los niveles de parasitismo oscilan entre 5 a 11%, prevalece sobre los restantes campos en estudio el campo Cuatro Vientos, con un porcentaje de parasitismo de 11%, estos valores están relacionados por factores ambientales y altura sobre el nivel del mar lo que origina el surgimiento de un micro clima favorable para el establecimiento del entomopatógeno que aún es bajo. Entre los cuatro campos en estudio no existen diferencias estadísticas significativas. Tabla 11.

Tabla 11**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) septiembre.**

Campos	Parasitismo Natural septiembre	
	% de parasitismo	
Mamey	6	a
San Blas	4	a
Cuatro Vientos	11	a
Llano	5	a
Es	0.09	
CV%	8.57	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *L. lecanii* en el mes de octubre, se pudo observar que los niveles de parasitismo oscilan entre 6 a 21%, prevalece sobre los restantes campos en estudio el campo Cuatro Vientos, con un porcentaje de parasitismo de 21%, estos valores están relacionados por factores ambientales y altura sobre el nivel del mar lo que origina el surgimiento de un micro clima favorable para el establecimiento del entomopatógeno que aún es bajo. Entre los tres campos en estudio no existen diferencias estadísticas significativas, pero sí entre estos y el campo Cuatro Vientos Tabla 12.

Tabla 12

Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) octubre.

Campos	Parasitismo Natural octubre	
	% de parasitismo	
Mamey	9	b
San Blas	12	b
Cuatro Vientos	21	a
Llano	6	b
Es	0.10	
CV%	14.7	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes noviembre, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre uno y ocho porcientos, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre los cuatro tratamientos en estudio, no existieron diferencias estadísticas significativas (tabla 13)

Tabla 13**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) noviembre.**

Campos	Parasitismo Natural noviembre	
	% de parasitismo	
Mamey	3	a
San Blas	4	a
Cuatro Vientos	8	a
Llano	1	a
Es	0.15	
CV%	40.5	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre *Roya del café* mes diciembre, se pudo apreciar que los niveles del mismo en los cuatros campos en estudio, estuvieron entre tres y 10 %, lográndose el mayor valor en el campo que representa la zona de Cuatro Vientos. Entre el campo Cuatro Vientos y los tres restantes, existieron diferencias estadísticas significativas (tabla 14)

Tabla 14**Evaluación del parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) diciembre.**

Campos	Parasitismo Natural diciembre	
	% de parasitismo	
Mamey	4	b
San Blas	5	b
Cuatro Vientos	10	a
Llano	3	b
Es	0.02	
CV%	4.44	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Porciento de distribución de la roya.

Al evaluar el porciento de distribución de la roya del café en los meses de enero a marzo, se puede afirmar que su comportamiento en los cuatro campos en estudio mostro valores entre 18 y 27 % con el mayor porciento de distribución en la zona de Cuatro Vientos, motivado esto por la seca presente en estos meses, aumento de las temperaturas y otros factores como la falta de humedad que han influido en estos datos, unido a factores de manejo del cultivo. Se puede afirmar que el campo de Cuatro Vientos difiere estadísticamente con dos de los restantes campos en estudio, que estos a su vez no difieren estadísticamente entre ellos, pero si con el campo de San Blas. Tabla 15.

El mes de febrero, asociado a factores climáticos como la seca y altas temperaturas, contribuyó a la diseminación de este agente nocivo, con porcientos de distribución de 21 a 30%, manteniéndose una estabilidad en los valores mostrados en todos los casos. Estadísticamente el campo de Cuatro Vientos y el llano, mostraron diferencias estadísticas significativas con los dos campos en estudio, pero no entre ellos. Tabla 13.

El mes de marzo, continúan acentuándose los porcientos de distribución asociado a factores climáticos como la seca y altas temperaturas, contribuyó a la diseminación de este agente nocivo, con porcientos de distribución de 23 a 35%, manteniéndose una estabilidad en los valores mostrados en todos los casos. Estadísticamente el campo Cuatro Vientos y el llano, mostraron diferencias estadísticas significativas con los otros dos campos en estudio, pero no entre ellos. Tabla 15.

Tabla 15

Comportamiento del Porciento de distribución de la roya del café por meses en el año.

Campos	Porciento de distribución de la roya					
	Enero		febrero		marzo	
	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig
Mamey	20	b	21	a	23	a
San Blas	18	a	22	a	25	a
Cuatro Vientos	27	c	30	b	35	b
Llano	22	b	30	b	31	b
Es	0.24		0.07		0.08	
CV%	25		6.66		7.14	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor que 0.05%.

Al evaluar el porcentaje de distribución de la roya del café en los meses de abril a junio, se puede afirmar que su comportamiento en los cuatro campos en estudio mostro tendencia a disminuir, oscilando en rangos de 19 y 37 % con el mayor porcentaje de distribución en la zona de Cuatro Vientos, motivado esto por la seca presente en estos meses, aumento de las temperaturas y otros factores como la falta de humedad que han influido en estos datos, unido a factores de manejo del cultivo. Se puede afirmar que el campo de Cuatro Vientos difiere estadísticamente con dos de los restantes campos en estudio que estos a su vez no difieren entre si, pero si con el campo del llano. Tabla 16.

Al evaluar el mes de mayo, se observó una tendencia a la disminución de los índices de distribución en todos los campos en estudio, con valores entre 9 y 18%, motivado estos a factores ambientales como el aumento de las precipitaciones en los ecosistemas donde se ubicaban estos campos. Estadísticamente no existen diferencias estadísticas significativas. Tabla 16.

Al evaluar el mes de junio, se mantuvo tendencia a la disminución de los índices de distribución en todos los campos en estudio, con valores entre 2 y 15%, motivado estos a factores ambientales como el aumento de las precipitaciones en los ecosistemas donde se ubicaban estos campos. Estadísticamente el campo mamey difiere estadísticamente con San Blas y el llano, estos a su vez no difieren entre ellos. Tabla 16.

Tabla 16

Comportamiento del porcentaje de distribución de (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome a nivel de campos.

Campos	Porciento de distribución de la roya.					
	Abril		mayo		Junio	
	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig
Mamey	25	b	18	b	15	c
San Blas	26	b	9	a	8	b
Cuatro Vientos	37	c	15	b	2	a
Llano	19	a	11	a	6	b
Es	0.09		0.08		0.1	
CV%	8.41		10.9		18.8	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor del 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del porciento de distribución de (*H. vastatrix*) a nivel de campos, durante los meses de julio, agosto, septiembre, se pudo comprobar que hubo una tendencia a la estabilización, con valores entre 9% a 29% de distribución, con el mayor por ciento en el campo Cuatro Vientos con 29%, manteniendo la diferencia estadística significativa de este campo con dos de los restantes, que estos a su vez no difieren entre sí, pero si con el campo de Cuatro Viento

Tabla 17

Comportamiento del porciento de distribución de (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome a nivel de campos.

Campos	Porciento de distribución de la roya.					
	Julio		Agosto		Septiembre	
	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig
Mamey	17	b	14	b	12	b
San Blas	17	b	14	b	13	b
Cuatro Vientos	29	c	26	c	21	c
Llano	9	a	11	a	10	a
Es	0.1		0.09		0.08	
CV%	11.9		11.1		10.6	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor del 0.05%.

Al evaluar el comportamiento del por ciento de distribución de (*H. vastatrix*) a nivel de campos, durante los meses de octubre, noviembre y diciembre se pudo comprobar que hubo una tendencia al aumento del por ciento de distribución, con valores entre 16% a 45%, con el mayor por ciento en el campo Mamey con 45%, manteniendo la diferencia estadística significativa de este campo con dos de los restantes, que estos a su vez no difieren entre sí, pero, si con el campo del Llano. Tabla 18.

Al evaluar el por ciento de distribución de la roya del café en los meses de noviembre, se puede afirmar que su comportamiento en los cuatro campos en estudio mostro valores entre 18 y 27 % con el mayor por ciento de distribución en la zona de Cuatro Vientos, motivado esto por la seca presente en estos meses, aumento de las temperaturas y otros factores como la falta de humedad que han influido en estos datos, unido a factores de manejo del cultivo. Se puede afirmar que el campo de Cuatro Vientos difiere estadísticamente con dos de los restantes campos en estudio, que estos a su vez no difieren estadísticamente entre ellos, pero si con el campo de San Blas. Tabla 18.

El mes de diciembre, asociado a factores climáticos como la seca y altas temperaturas, contribuyó a la diseminación de este agente nocivo, con porcentos de distribución de 21 a 30%, manteniéndose una estabilidad en los valores mostrados en todos los casos. Estadísticamente el campo de Cuatro Vientos y el Llano, mostraron diferencias estadísticas significativas con los dos campos en estudio, pero no entre ellos. Tabla 18

Tabla 18

Comportamiento del por ciento de distribución de (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome a nivel de campos.

Campos	Por ciento de distribución de la roya.					
	Octubre		Noviembre		Diciembre	
	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig	% de distribución	Sig
Mamey	45	c	20	b	21	a
San Blas	26	b	18	a	22	a
Cuatro Vientos	30	b	27	c	30	b
Llano	16	a	22	b	30	b
Es	0.12		0.24		0.07	
CV%	14.6		25		6.66	

Nota. Letras desiguales difieren para p menor del 0.05%.

Otros estudios relacionados con el tema que ocupa esta investigación demostraron que, según la fórmula de severidad por planta se obtiene un 82,60% de severidad de la roya del café; estando la mayor cantidad de plantas en el nivel 7 y 8 de grado de ataque al final de la cosecha, que es el momento donde se incrementa la infección de la roya de su controlador como señala Pico, (2018). La severidad por hoja se obtiene un 38,80%, estando la mayor cantidad de plantas en el nivel 20, 40 y 80% de grado de ataque por roya del café.

Este porcentaje concuerda con Montalvan, (2019) quien encontró datos similares con un 35% de severidad por hoja. La escala de severidad pertenece para plantas se tomó de Eskes y Toma-Braghini (1989), citado Avelino et al., (2019); mientras que la escala para la evaluación de la severidad de la roya del café a nivel de hojas se tomó la propuesta de Capucho et al., (2011). El cafetal estuvo bajo sombra de paca (Inga sp.) y ello ha favorecido la infección por *Hemileia vastatrix* y su micoparásito *Lecanicillium lecanii* como señala Granados et al., (2012).

Según Ramírez, (2018) el porcentaje de infección de *L. lecanii* sobre *H. vastatrix* oscila entre 46% y 65% al ser aplicados artificialmente a nivel de campo. Se ha encontrado un 38% en promedio de control de pústulas por *L. lecanii* en hojas de café en las plantas en producción; un 81% de control de área de pústulas por *L. lecanii* en hojas, lo que se aproxima a los resultados obtenidos por Romero, (2020) con 88,33% de control con este micoparásito; asimismo, se encontró un 73% de control de área de pústulas por *L. lecanii* por hoja, que coinciden con Díaz (2018) quien encontró los efectos de control de la roya. El porcentaje de control *L. lecanii* sobre las uredosporas de la roya en hojas vivas es menor que en el suelo en hojas caídas donde se ha observado un control del 100% a las uredosporas de la roya. Estos resultados demuestran lo mencionado por Romero, (2020) quien indica que el mayor porcentaje de parasitismo en hojas fue 21,47% y en pústulas 15,83%.

Los resultados muestran que según la fórmula de severidad por planta se obtiene un 82,60% de severidad de la roya del café; estando la mayor cantidad de plantas en el nivel 7 y 8 de grado de ataque. La severidad por hoja se obtiene un 38,80%, estando la mayor cantidad de plantas en el nivel 20, 40 y 80% de grado de ataque por roya del

café. Se ha encontrado un 38% de control de pústulas por *L. lecanii* en hojas de café en las plantas; un 81% de control de área de pústulas por *L. lecanii* en hojas de café en las plantas; un 73% de control de área de pústulas por *L. lecanii* por hoja de café en las plantas. El porcentaje de control por *L. lecanii* sobre las uredosporas de la roya en hojas vivas es menor que en el suelo en hojas caídas donde se ha observado un control del 100% a las uredosporas de la roya.

A diferencia de los resultados de esta investigación, en otros estudios (Santos y Monzón Centeno, 2020), resultaron que los mayores porcentajes de pústulas parasitadas se encontraron en la primera y última fecha, correspondiente a los 15 y 60 días después de la aplicación de *Lecanicillium* sp, esto se debe a que en la primera fecha la incidencia de roya fue alta. De igual manera a los 60 días el parasitismo se ve incrementado por un leve aumento de la incidencia de roya. En este estudio se observó que cuando se aplicaba *Lecanicillium* sp con alta incidencia de roya se producía caída prematura de las hojas.

Este mismo fenómeno se presentó en un estudio realizado por Monzón (2019). Leguizamón et al. (2019) afirma que las hojas que se encuentran parasitadas por este hongo muestran a menudo necrosis y se caen más rápido que las no parasitadas y sostienen que algunos metabolitos son producidos como resultado de la interacción de *H. vastatrix* y *Lecanicillium lecanii*, lo cual origina la necrosis de la hoja.

Santiesteban, et al. (2020), corroboran lo descrito por Leguizamón y colaboradores donde afirman mediante un estudio que el hongo *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium*) produce metabolitos en cultivo sumergido entre los cuales se encuentran las proteasas, lipasas y antibióticos denominados Verticilinas.

Es importante recalcar que en la medida que los aislados presenten mayores porcentajes de parasitismo sobre las pústulas de roya, mayor potencial tendrá para el control de la enfermedad, debido a que el efecto de *Lecanicillium* sp sobre la enfermedad se basa principalmente en la reducción de inóculo en ciclos epidemiológicos posteriores.

En estudios realizados por Santos y Monzón Centeno (2020), la incidencia de la enfermedad tuvo un comportamiento descendente conforme se realizaban las

aplicaciones. La mayor incidencia fue 57,18% y se registró antes del inicio de las aplicaciones, seguida por la incidencia registrada a los 15 días después de la aplicación. Después de la segunda aplicación la incidencia fue de 45,87% manteniendo un comportamiento similar en las siguientes aplicaciones.

En el muestreo realizado 60 días después de la primera aplicación, la incidencia fue de 18,41%, registrando un leve aumento con respecto el muestreo anterior, quizá favorecido por las mayores precipitaciones registradas en ese momento. Es posible que la edad del cafeto y el tipo de manejo tradicional que se le daba a la plantación incidió en la relativamente alta incidencia observada de manera general (Santos y Monzón Centeno, 2020).

Vargas (2017) observó disminución de la incidencia de roya en evaluaciones posteriores a aplicaciones inundativas en campo por *Lecanicillium lecanii*. Estos resultados son similares a nuestro estudio donde la incidencia de la enfermedad se redujo significativamente de 57,18% hasta 18,41% que fue la última fecha que se registraron los datos.

Conclusiones

- Atendiendo a los resultados evaluados, los mayores niveles de parasitismo natural de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) sobre roya (*Hemileia vastatrix*), se mostraron en los meses de marzo a agosto coincidiendo con el periodo lluvioso.
- Atendiendo a los resultados los mayores porcentos de distribución de la enfermedad (*Hemileia vastatrix*) Berkeley Broome a nivel de campos ocurrieron en los meses de enero a marzo, periodo crítico de la seca.

Recomendaciones

- Divulgar los resultados de este estudio a productores y técnicos relacionados con el cultivo del café.
- Diseminar el hongo Entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) de forma artesanal por los productores en todas las áreas cafetalera para su estabilización.
- Capacitar el personal técnico de las bases productivas en su aplicación a gran escala.

Bibliografía

- Aceves, M. A. C., Sánchez, O. M. A. (2018). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 185-191.
- Alavo, T. B. (2017). The insect pathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas and its use for pests control. *Journal of experimental biology and agricultural sciences*, 3(4), 337-345.
- Askary, H., Benhamou, N., & Brodeur, J. (1997). Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology*, 87(3), 359-368.
- Avelino J., Treminio E., Casanoves F., Vílchez S., Cárdenas J., Lizardo C. (2019). Guía para la vigilancia de la roya del café (*Hemileia vastatrix*).
- Avelino, J., y Rivas, G. (2018). La roya anaranjada del cafeto: mito y realidad. <https://agritrop.cirad.fr/la-roya-anaranjada.pdf>
- Ayala, M., Mier, T., Sanchez, J., & Toriello, C. (2018). Variabilidad intraespecífica del crecimiento del *Lecanicillium Lecanii* (*Verticillium Lecanii*) por efecto de la temperatura. <http://www.agro.gob.mx/agricultura/documents/variabilidad-intrinseca-del-crecimiento-del-lecanicilliumcultivo-lecani.pdf>
- Barquero, M. (2018). Recomendaciones para el combate de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*). Instituto del café de Costa Rica. <https://repositorio.una.edu.cr>
- Bello, C. J. C., Figueroa, T. R. F., Guamán, M. M. M., Villao, N. F. A. A., & Tumbaco, B. M. V. (2018). Prevalencia y diseminación de *Verticillium* sp. para el control biológico de la roya del café. *Reciamuc*, 2(3), 92-119.
- Cesvver. (2018). Roya del cafeto (*Hemileia Vastatrix*). <http://www.ico.org/roya-del-cafe/html>
- Cortez, H. (2017). Efectos de coadyuvantes en *Lecanicillium Lecani* (ZIMM) Zare gams y su virulencia hacia *Toxoptera aurantii* Boyer. *Fitopatología*, 12 (3), 345-367.
- Cortez, M., H. (2017). Producción de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* en diferentes sustratos y patogenicidad. *Agricultura técnica en México*, 33(1), 83-87.

- De jong, E., Eskes, A., Hoogstraten, J., & Zadoks, J. (1987). Temperature requirements for germination, germ tube growth and appressorium formation of urediospores of *Hemileia vastatrix*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 9 (1), 28-45.
- Díaz, C. (2019). Optimización del sustratos a bases de residuos orgánicos para la producción de hongos entomopatógenos: *Beauveria Bassiana*, *Lecanicillium Lecanii* y *Matarhizium Anisopliae*. <https://repositorio.una.edu.ni/residuos-organicos/html>
- Díaz-Vicente, V. (2018). El hongo *Verticillium hemileiae* Bouriquet, Alternativa para el control de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.). *Agro Productividad*, 7(3). Recuperado a partir de <https://mail.revistaagroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/525>
- Eskes, A., Mendes, M., y Robbs, C. (2017). Laboratory and field studies on parasitism of *Hemileia vastatrix* with *Verticillium lecanii* and *V. leptoactru*. *Café Cacao*. https://agritrop.cirad.fr/Hemileia_vastratix_with_Verticillium_lecanii_876992/
- Gómez, D., I., Pérez-Portilla, E., Escamilla-Prado, E., Martínez-Bolaños, M., CarriónVillarnovo, G. L. L., & Hernández-Leal, T. I. (2017). Selección in vitro de micoparásitos con potencial de control biológico sobre Roya del café (*Hemileia vastatrix*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 38-56.
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., & Soberanís, W. (2019). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. *BioScience*, 46(8), 598-608.
- González, E., Martínez, B. (2018). Control biológico de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) con *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas. *Revista Protección Vegetal*, 13, 81-84.
- Granados, E. Tapia, A. Virgilio, EM. Avelino, J. (2019). *Efecto de la Sombra y el Manejo Agronómico del Café (Coffea arabica L.) Sobre la Incidencia, Severidad y* (FAO.Madrid, 2018)*Cantidad de Inóculo de Hemileia vastatrix Berk. & Br.* http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41_000/5468
- Guhary, F., Monterrey, J., Monterroso, D., & Staver, C. (2020). Manejo integrado de plagas en el cultivo del café (4 ed.). *Entomophaga* 29, 311-21.

- Hall, R. A. (2018). Epizootic potential for aphids of different isolates of fungus *Verticillium lecanii*. *Entomophaga* 29, 311-21.
<https://agritrop.cirad.fr/595182/1/Gu%C3%ADa%20vigilancia%20%20VF.pdf>
- Instituto de Café de Costa Rica (ICAFFE). (2019). Regiones cafetaleras de Costa Rica.
http://www.ico.org/ES/coffee_storyc.asp
- Jackson, D., Zemenick, K., & Huerta, G. (2019). Occurrence in the solid and dispersal of *Lecanicillium lecanii*, a fungal pathogen of the green coffee scale (*Coccus viridis*) and coffee rust (*Hemileia vastatrix*). *Biochemistry and Microbiology*, 42(1), 72-76.
- Jackson, D., Zemenik, J., y Huerta, J. (2019). Indirect biological control of the coffee leaf rust, *Hemileia vastatrix*, by the entomogenous fungus *Lecanicillium lecanii* in a complex coffee agroecosystem. *Biological Control*, 61(1), 89-97.
- Leguizamón, J., Vélez, P., & Gónzales. (1989). Efecto de extracto metabólico de *Verticillium Lecanii* sobre *Hemileia Vastatrix* (Vol. 2). *Revista Iberoamericana de micología*, 16, 136-142.
- Leguizamón, J., Vélez, p., & González, A. (2019). Efecto de extractos metabólicos de *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*. *CENICAFE*. 40(2), 31-39.
- López, Ll., L. V., and Carbonell, T. (2019). Characterization of Spanish strains of *Verticillium lecanii*. *Revista Iberoamericana de micología*, 16, 136-142.
- Macdonald, A., Jackson, D., & Zemenick, K. (2013). Indirect effects of a Fungal Entomopathogen, *Lecanicillium lecanii* (Hymenochaetales: Clavicipitaceae), on a Coffee Agroecosystem And Community. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.004>
- Montalvan Chanzapa C. (2019). Parasitismo natural del hongo *verticillium* spp. en el control de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), en la comunidad nativa Huascayacu Alto Mayo. URI <http://hdl.handle.net/11458/1581>
- Monzón, A. (2018). *Distribución del Verticillium SP. En tres zonas cafetaleras en Nicaragua y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la Roya (Hemileia Vastatrix) del cafeto (Coffea Arábica L)*.
<https://repositorio.una.edu.ni/4136/>
- Monzón, A. (2018). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo integrado de plagas (Costa Rica)*, 63, 95-103.

- Monzón, J. A. (2018). Distribución de *Verticillium* sp. en tres zonas cafetaleras de Nicaragua y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la roya (*Hemileia vastatrix*) del cafeto (*Coffea arabica* L.). Turrialba: CR. CATTE.
- Pico Rosado J. T. (2018). *Efecto de la sombra del café y el manejo sobre la incidencia, severidad, cantidad de inóculo y dispersión de Hemileia vastatrix en Turrialba, Costa Rica*. CATIE. <https://agritrop.cirad.fr/575882/>
- Ramírez Barillas S. S. (2018). Formulación y evaluación de *Lecanicillium lecanii* biocontrolador de *Hemileia vastatrix*. www.digi.usac.edu.gt
- Rivillas, O., Serna, G., Cristancho, A., & Gaitan, B. (2018). La Roya del cafeto en Colombia (impacto, manejo y costos del control, resultados de la investigación). Chinchiná, Caldas Colombia: Centro Nacional de Investigación del Café (CENICAFÉ).
- Romero, Santos D. (2020) Aislados nativos de *Lecanicillium* sp para el manejo de la roya *Hemileia vastatrix* (Berk & Broome) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. <https://repositorio.una.edu.ni/4136/>
- Sagarpa. (2018). *Cultivos agroindustriales. Impactos del café. Secretaria de la agricultura, ganadería y desarrollo rural, Pesca y alimentación*. <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/documents/cultivosagroindustriales/impactoscaf%C3%A9>
- Santiesteban, E. G., Fontela, R. M. Á., Vidal, R. F., Fernández, I. R., Barrios, J. H., Rodríguez, T. L., & Rodríguez, A. N. S. J. (2020). Metabolitos producidos por el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. *Biotechnología Aplicada*, 21 (2), 39-46
- Santos Romero, D. y Monzón Centeno, A. (2020). Aislados nativos de *Lecanicillium* sp para el manejo de la roya *Hemileia vastatrix* (Berk & Broome) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L). Trabajo de tesis. Maestría en Sanidad Vegetal. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Vandermeer, J., Perfecto, I. y Liere, H. (2019). Evidence for hyperparasitism of coffee rust (*hemileia vastratix*) by the entomogenousfungus, *Lecanicillium lecanii*,

through a complex ecological. Tesis de Maestría. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. [https://agritrop.cirad.fr/Lecanicillium lecanii/html](https://agritrop.cirad.fr/Lecanicillium_lecanii/html)

Vázquez, M. L. (2019). *Experiencia cubana en el manejo agroecológico de plagas en café y avances en la broca del café*. (Simposio). Situación Actual y Perspectivas de la Investigación y Manejo de la Broca del Café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México.

Vélez, P. E., y Rosillo, A. G. (2019). Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix* en condiciones de invernadero y de campo. <http://scielo.sld.cu/scielo.php>

Zare y Gams. (2021). *Selección in vitro de aislamientos promisorios del *Lecanicillium lecanii* para la lucha biológica de *Hemileia Vastatrix**. <http://repositorio.iniap.go> (FAO.Madrid, 2018)b.ec/handle/41000/5468