

EL HONGO *Verticillium hemileiae* Bouriquet, ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE LA ROYA DEL CAFETO (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.)

THE FUNGUS (*Verticillium hemileiae* Bouriquet), ALTERNATIVE FOR THE CONTROL OF COFFEE RUST (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.)

**Díaz-Vicente V.M.^{1*}; Pinzón-Rincón E.P.¹; Pérez-Quintanilla J.N.¹;
Cabrera-Alvarado M.E.¹; Magallanes-Cedeño R.¹; De Coss-Flores M.E.¹**

¹Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera Costera Entronque Estación Huehuetán, Huehuetán, Chiapas.

***Autor responsable:** vdiaz_vicente@hotmail.com. Cuerpo Académico de Protección Vegetal.

RESUMEN

Se aisló el hongo *Verticillium hemileiae* Bouriquet asociado a pústulas de la roya del café (*Hemileia vastatrix*) en muestras colectadas en el municipio de Cacaohatan, Chiapas, México. En el aislamiento creció únicamente *V. hemileiae*, ya que en el caso de *H. vastatrix* como parásito obligado no se desarrolla en medio de cultivo. Se realizaron trabajos en laboratorio y vivero, usando un diseño experimental completamente al azar, y en campo con una distribución en bloques al azar. El mejor medio de cultivo para propagar (*V. hemileiae*) fue Sabouraud Dextrosa Agar más extracto de malta; se observó una germinación de 90% con una concentración de 2.57×10^5 conidios mL^{-1} . El pH del medio fue de 5.5, con el cual presentó germinación de 91.8%, patogenicidad de 92.2% y concentración de 2.56×10^5 conidios mL^{-1} . El mejor sustrato para propagar en forma masiva a *V. hemileiae* fue el salvado de trigo, en el cual se registró concentración de 2.31×10^5 conidios mL^{-1} , viabilidad de 90.96%, crecimiento de 66.2% y patogenicidad de 91.1%. Al aplicar en plantas en condiciones de vivero y campo, la mayor infección y número de pústulas se presentó en el testigo sin aplicación.

Palabras clave: Uredosporas, parásito obligado, virulencia, patogenicidad.

ABSTRACT

The fungus (*Verticillium hemileiae* Bouriquet) associated with pustules of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) was isolated of samples collected in the municipality of Cacaohatán, Chiapas, México. In the isolation grew only (*V. hemileiae*), since in the case of (*H. vastatrix*) as obligate parasite does not develop in culture medium. Work was carried out in laboratory and nursery, using a completely randomized experimental design, and in field with a randomized block distribution. The best culture medium to propagate (*V. hemileiae*) was Sabouraud Dextrose Agar plus malt extract, spore germination of 90% was observed at a concentration of 2.57×10^5 conidia per milliliter. The medium pH was 5.5 with which presented 91.8% germination, pathogenicity 92.2% and a concentration of 2.56×10^5 conidia per milliliter. The best substrate to propagate massively (*V. hemileiae*) was wheat bran, which recorded concentration of 2.31×10^5 conidia per milliliter, viability of 90.96%, growth of 66.2%, pathogenicity 91.1%; and applying plants in nursery and field conditions the largest number of pustules and infection occurred in the control without application.

Key words: Uredospores, obligate parasite, virulence, pathogenicity.

INTRODUCCIÓN

El cafeto (*Coffea arabica*) es un cultivo de importancia económica mundial, debido a que genera gran cantidad de divisas para los países productores. Brasil es el primer productor del mundo. México ocupa el quinto lugar en la producción mundial y, junto con la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), representa el cultivo de mayor relevancia socioeconómica. Su cultivo involucra regiones de 12 estados de México en una superficie aproximada de 665,837 ha⁻¹; el estado de Chiapas es el primer productor con una superficie de 230,134 ha⁻¹, sobresaliendo la región del Soconusco (costa de Chiapas) con 70,000 ha⁻¹. De la superficie cultivada con café, 84% corresponde a pequeños productores que cuentan con un promedio de tres hectáreas que aportan 29% de la producción. El cultivo es una fuente de trabajo para cerca de 282,593 productores que generan más de 300,000 empleos rurales y asalariados en actividades del cultivo, tales como podas, control de maleza, fertilización, control de plagas, cosecha y beneficiado (Nolasco, 1998; Anónimo, 2001; Aranda, 2004; y Anónimo 2008). El cafeto se caracteriza por cultivarse en terrenos de topografía muy heterogénea, desde terrenos planos, con pendientes moderadas y de hasta 50%, con intensas precipitaciones (hasta 5,200 mm anuales) distribuidas de mayo a noviembre y una altitud de 300 a 1500 m. Dentro de las limitantes que afectan al cultivo están las de mercadeo y las fitosanitarias, y entre los segundos se encuentra la roya anaranjada del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. et. Br.), reportada como la enfermedad más importante del cultivo por causar la muerte de la planta por defoliación. Para reducir la fuente de inóculo de la roya es necesario realizar el control de maleza, ampliar la distancia de siembra, y realizar podas, fertilización y regulación de la sombra arbórea, sin embargo, las condiciones ambientales de la región del Soconusco han favorecido la propagación de la roya (Díaz, 2012). Investigaciones sobre epidemiología han indicado que la roya tiene un crecimiento sigmoidal, donde el máximo crecimiento de la enfermedad se observa entre los meses de enero y febrero; después entra en decadencia, debido a que se establece una época seca y calurosa y no existen condiciones favorables para su desarrollo (Durán y Medel, 1985). Para el control de esta enfermedad se han evaluado diferentes fungicidas, sistémicos y preventivos donde el Triadimefon 25% P.H. y el Oxicloruro de cobre al 50% que han dado los mejores resultados (Regalado y Ponce, 1983); sin embargo, también se ha observado presencia del hongo *Verticillium hemileiae* Bouriquet en campo sobre las uredosporas

de *Hemileia vastatrix* en forma natural (Díaz, 2012). Con base a lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue aislar el hongo (*Verticillium hemileiae*), evaluar diferentes medios de cultivos, propagarlos de forma masiva y aplicarlo en viveros de café y en cafetales para el control de la roya del cafeto (*H. vastatrix*).

MATERIALES Y METODOS

La investigación se desarrolló en los municipios de Cacaohatan y Huehuetán, Chiapas, México. Con base en la observación en campo del hongo de tonalidad blanquecina asociado a pústulas de la roya del cafeto (*H. vastatrix*) se realizó una recolecta para su aislamiento en el Laboratorio de Microbiología, Fitopatología y Nematología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas, con el fin de evaluar su efecto sobre el patógeno. Se evaluaron seis medios de cultivo para el crecimiento del hongo *Verticillium hemileiae*, concentración de conidios, pH del medio de cultivo y producción masiva en un diseño experimental completamente al azar (Olivares, 1994).

Evaluación en plantas de vivero

El hongo (*Verticillium hemileiae*) aislado y propagado en laboratorio se aplicó en cinco diferentes dosis (2.0 g l⁻¹, 4.0 g l⁻¹, 6.0 g l⁻¹, 8 g l⁻¹, 10 g l⁻¹) y un tratamiento testigo en plantas de cafeto de vivero a las cuales se les habían inoculado uredosporas de *H. vastatrix*; se utilizó un diseño experimental completamente al azar (Olivares, 1994).

Evaluación en condiciones de campo

El hongo *V. hemileiae* se aplicó en huertas comerciales de café infectadas con *H. vastatrix* en cinco dosis diferentes: 0.6 kg ha⁻¹, 1.2 kg ha⁻¹, 1.8 kg ha⁻¹, 2.4 ha⁻¹, 3.0 kg ha⁻¹ y un testigo sin aplicación. Ésta se dirigió hacia el envés de la hojas infectadas por la roya del cafeto, con la finalidad de que *V. hemileiae* estuviera en contacto con las uredosporas de *H. vastatrix*, aplicando un diseño experimental en bloques al azar (Olivares, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El hongo recolectado y aislado fue identificado como *Verticillium* spp. con la clave propuesta por Romero (1998). Presenta conidios producidos en conidióforos (libres o agrupados); el orden Moniliales ha sido subdividido en familias, principalmente por el color de los conidióforos, y la familia Moniliaceae presenta conidios y conidióforos hialinos o de colores brillantes. Locci et al. (1971) reporta el hiper-parasitismo de *V. hemileiae* sobre

H. vastatrix; Sobero (2006) menciona que la pérdida del color amarillento-anaranjado típico en esporas de roya se acelera con un hongo blancuzco parasítico identificado como (*V. hemileiae*) (Figura 1 y 2).

El género *Verticillium* tiene las siguientes características morfológicas: conidióforos delgados ramificados, por lo menos algunas ramas verticiladas, conidios ovales a elipsoidales, hialinos, unicelulares, producidos apicalmente, solitarios o en pequeñas cabezuelas; para el presente estudio la especie correspondió a *Verticillium hemileiae* Bouriquet.

El Cuadro 1 muestra la mayor germinación de conidios de *V. hemileiae* (90%) a la mayor concentración de 2.57×10^5 conidios por mL^{-1} en el medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar más Extracto de Malta. Lo anterior coincide con lo reportado por Carballo (1999), quien señala que el hongo (*Verticillium* spp.) crece bien en medios de cultivo como Extracto de Malta Sabouraud y Papa Dextrosa Agar. De forma semejante, Hall (1981) menciona que las colonias de *Verticillium* spp. crecen bien en un medio de cultivo a base de agar malta, harina de avena o papa dextrosa agar, en los cuales se desarrolla un micelio delgado blanco o crema que forma colonias blancas con apariencia algodonosa.

Un dato relevante en el proceso de aislamiento y multiplicación del hongo parasítico fue determinar el pH del medio de cultivo en el cual (*V. hemileiae*) generara mayor concentración de conidios, resultando que es necesario ajustar el pH de la solución del medio de cultivo a 5.5 porque es donde presentó mayor formación de conidios con 2.56×10^5 , germinación de 91.80%



Figura 1. Hoja de cafeto (*Coffea arabica*) afectada por roya (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) con pústulas color amarillo. El micelio color blanco corresponde a *Verticillium hemileiae* Bouriquet.

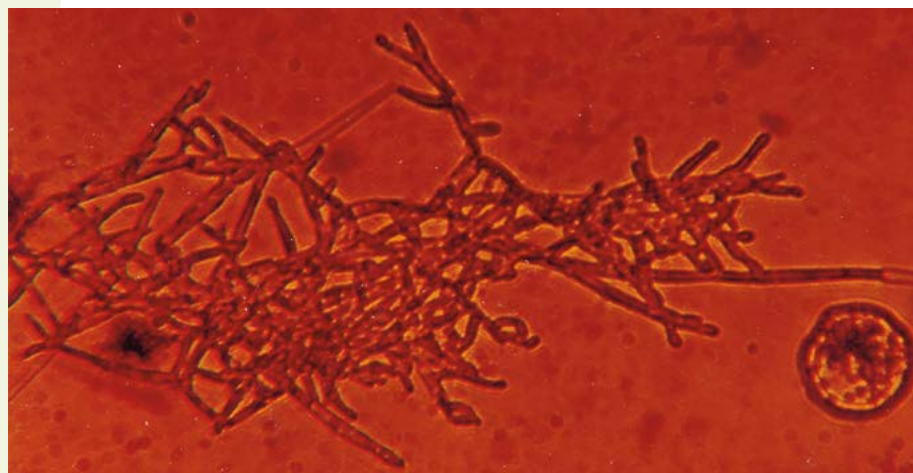


Figura 2. Micelio septado y "verticilios" del hongo (*V. hemileiae*) tomadas al microscopio de luz 40X.

Cuadro 1. Porcentaje de germinación y concentración de conidios del hongo (*V. hemileiae*) en diferentes medios de cultivo.

Medio de cultivo	Germinación (%)	Medio de cultivo	Concentración
SDA+E. de Malta	90.0 a	SDA+E. de Malta	2.57×10^5 a
SDA+E. de Levadura	78.0 b	SDA+E. de Levadura	1.74×10^5 b
SDA	71.0 c	SDA	1.59×10^5 c
PDA	50.0 d	PDA	1.47×10^5 d
PDA+E. de Malta	49.0 d	PDA+E. de Malta	1.32×10^5 e
PDA+E. de Levadura	39.0 e	PDA+E. de Levadura	1.20×10^5 f

* Promedio con la misma letra son estadísticamente iguales, según la Prueba de Tukey a una α de 0.01 de probabilidad.

y patogenicidad de 92.20%; para la propagación masiva, el hongo (*V. hemileiae*) debe ser propagado en salvado de trigo porque fue donde este hongo presentó mayor concentración de conidios por mililitro (2.31×10^5), mayor viabilidad

(90.96%), crecimiento (66.20%) y patogenicidad sobre (*H. vastatrix*) (91.10%) (Figura 3) (Cuadro 2 y 3).

La aplicación de *V. hemileiae* en plantas cafeto en vivero infectadas previamente con *H. vastatrix* mostró



Figura 3. A: Matrices (Botellas Roux) con salvado de trigo inoculadas con el hongo (*V. hemileiae*). B: Bolsas de plástico de alta densidad lineal inoculadas con salvado de trigo con el hongo (*V. hemileiae*).

que el mayor nivel de infestación, cantidad de pústulas de roya por hoja y defoliación se observó en el tratamiento testigo, el cual se inoculó con *H. vastatrix* sin *V. hemileiae* (Figura 4).

V. hemileiae propagado en laboratorio se aplicó en diferentes dosis (Cuadro 4) y la mayor infección se observó en el tratamiento testigo sin aplicación.

CONCLUSIONES

El hongo *Verticillium hemileiae* Bouriquet es un parásito de la roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.); el medio de cultivo más efectivo para producirlo es Sabouraud Dextrosa Agar más extracto de Levadura y, para propagarlo masivamente, el salvado de trigo. El pH del medio de cultivo se tiene que ajustar a 5.5. Su aplicación a plantas de café (*Coffea arabica*), vivero y campo (*V. hemileiae*) ejerce control de *H. vastatrix*.

LITERATURA CITADA

Anónimo 2001. Censo de productores de café del Estado de Chiapas. Consejo Estatal de Café (COESCAFÉ) Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.
 Anonymous 2008. US Department of Agriculture Foreign Agriculture Services

Cuadro 2. Comparación de medias de la concentración, porcentaje de germinación y patogenicidad de conidios del hongo (*V. hemileiae*) en diferentes medios de cultivo.

pH	Concentración	pH	Germinación (%)	pH	Patogenicidad (%)
5.5	2.56×10 ⁵ a	5.5	91.80 a	5.5	92.20 a
6.0	2.22×10 ⁵ b	5.0	89.80 ab	6.0	89.80 ab
5.0	1.42×10 ⁵ c	6.0	89.20 b	5.0	80.40 b
6.5	1.04×10 ⁵ d	6.5	58.80 c	6.5	79.80 c
7.0	1.76×10 ⁴ e	7.0	52.80 d	7.0	70.00 d

* Promedio con la misma letra son estadísticamente iguales, según la Prueba de Tukey a una a de 0.01 de probabilidad.

Cuadro 3. Propagación del hongo (*V. hemileiae*) en diferentes sustratos.

Tratamiento	Concentración (%)	Viabilidad (%)	Crecimiento (%)	Patogenicidad (%)
Salvado de trigo	2.31×10 ⁵	90.96 a	66.20 a	91.10 a
Trigo en grano	2.31×10 ⁵	63.63 b	59.20 b	53.40 b
Arroz en grano	2.31×10 ⁵	45.53 c	41.70 c	40.80 c

* Promedio con la misma letra son estadísticamente iguales, según la Prueba de Tukey a una a de 0.01 de probabilidad.

Cuadro 4. Porcentaje de infección de (*H. vastatrix*) con aplicación del hongo (*V. hemileiae*).

Tratamientos	Días después de la aplicación				
	0	15	30	45	60
A 0.6 kg ha ⁻¹	5.00	6.15	8.12	15.15	5.68
B 1.2 kg ha ⁻¹	13.55	12.02	15.62	20.49	9.40
C 1.8 kg ha ⁻¹	8.78	9.17	10.65	16.57	7.65
D 2.4 kg ha ⁻¹	9.03	14.48	16.92	21.72	12.10
E 3.0 kg ha ⁻¹	18.82	13.45	19.55	24.92	12.62
F Testigo sin aplicación	18.52	20.55	20.10	21.27	16.40



Figura 4. A: Hojas de cafeto con menor cantidad de pústulas de roya (*H. vastatrix*). B: Hojas de cafeto con tratamiento testigo, mostrando mayor con mayor cantidad de pústulas de roya. C: Presencia del hongo (*V. hemileiae*) después de su inoculación. D: Pústulas de (*H. vastatrix*) en el tratamiento testigo sin aplicación en condiciones de campo.

Aranda J. 2004. El sistema campesino indígena de producción de café (*Coffea* spp) importancia económica.

Carballo V.M. 1999. Utilización de (*Verticillium* spp) para el control de plagas. Proyecto PFNOS. CATIE. Turrialba, Costa Rica C.A.

Díaz V.M. 2012. Control microbiano de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) con el hongo (*Verticillium hemileiae* Bouriquet.) Tesis de Doctorado en Ciencias en Agricultura Tropical. Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV, 110 p

Durán L.C. y A. Medel L. 1985. Epidemiología de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. et. Br.) en el Istmo

de Tehuantepec, Oaxaca. Instituto Mexicano del Café. Xalapa, Veracruz, México. pp. 1, 11-13.

Hall R.A. 1981. The fungus (*Verticillium lecanii*) as a microbial insecticide against aphid and scales. *In: Microbial control of pest and plant diseases. 1970-1980.* Burges, H.D. (ed). Academic Press. London, New York. pp. 483-498.

Locci R.G., Minervin F., Rodriguez Jr.C.J. 1971. Studies by transmissiions and scanning electron microscopy on the (*Hemileia vastatrix*), (*Verticillium hemileiae*) association. *Riv. Patol Veg.* 7: 127-140

Olivares S.E. 1994. Paquetes de diseños experimentales versión 2.5. Facultad de Agronomía. Universidad

Autónoma de Nuevo León, Marín, Nuevo León.

Regalado O.A., Ponce D.P. 1963. Evaluación de fungicidas para el control de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. et. Br.) en México. En: IV Simposio sobre Ferrugens do Cafeeiro. Oeiras, Portugal. Comunicoes Centro de Investigacao das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal. pp. 569-582

Romero C.S. 1988. Hongos fitopatógenos. 1ª. Edición Editorial Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p.

Sobero L. 2006. La roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. et. Br). Distribución e impacto en América Latina.