

Carlos Julio Cañarte Bello ^a; Tomas Robert Fuentes Figueroa ^b; Marcos
Manuel Manobanda Guamán ^c; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao ^d;
Bienvenido Máximo Vera Tumbaco ^e

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya
del café

*Prevalence and dissemination of Verticillium Sp. For the biological control of
coffee rust*

*Revista Científica de Investigación actualización del mundo de las Ciencias. Vol. 2 núm., 3,
Septiembre, ISSN: 2588-0748, 2018, pp. 92-119*

DOI: [10.26820/reciamuc/2.\(3\).septiembre.2018.92-119](https://doi.org/10.26820/reciamuc/2.(3).septiembre.2018.92-119)

Editorial Saberes del Conocimiento

Recibido: 15/05/2018

Aceptado: 20/07/2018

Publicado: 15/09/2018

Correspondencia: ing_agrcjcb@hotmail.com

- a. Diplomado en Autoevaluación y Acreditación Universitaria, Ingeniero Agrónomo, ing_agrcjcb@hotmail.com
- b. Magister Gerencia Educativa, UNESUM, Ingeniero Agropecuario, tomas.fuentes@unesum.edu.ec
- c. Magister Duie. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Docente de la Facultad de Ciencias Naturales y de la Agricultura. Carrera Agropecuaria, marcmanob-69@hotmail.com marcos.manobanda@unesum.edu.ec
- d. Magister en Agroecología y Agricultura Sostenible, Ingeniero Agrónomo, Docente Titular UNESUM, Coordinador Carrera Ingeniería Agropecuaria, nacoayon@yahoo.es Fernando.ayon@unesum.edu.ec
- e. Mg.Sc., Universidad Estatal del Sur de Manabí. Jipijapa, Manabí, Ecuador. Docente investigador de la Facultad de Ciencias Naturales y de la Agricultura. Carrera Agropecuaria, max-vera@hotmail.com

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a efecto en la provincia de Manabí en el año de 1997, los meses de marzo a diciembre, para la obtención de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.* in-vitro, utilizando diferentes medios de cultivos sólidos y líquidos. A nivel de campo se realizó la diseminación y prevalencia de *Verticillium sp.*, utilizando diferentes métodos de propagación, en los sitios Limón de Procel y Las Pajitas de Cascol del Cantón Paján, zonas cafetaleras ubicadas entre 500 y 600 m.s.n.m., para la evaluación de producción de conidias y clamidosporas, tanto en los medios sólidos como líquidos. En el campo fueron asperjados suspensiones con varias densidades de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.*, sobre pústulas de *Hemileia vastatrix* (roya) en plantas adultas y uniformes de café, utilizando el diseño bloques al azar. Determinando en el laboratorio que el medio de cultivo sólido maíz-dextrosa-agar y el medio líquido papa-dextrosa obtuvieron el mayor crecimiento y producción de conidias y clamidosporas. En el campo las fechas de evaluación demostraron un efecto parasítico sobre las uredósporas de *Hemileia vastatrix*, habiéndose logrado una buena implantación de *Verticillium sp.* en la primera y segunda observación en los sitios en estudios se notó una disminución de porcentaje de pústulas con roya, pústulas con *Verticillium sp.*, y un alto porcentaje de pústulas inhibidas en todos los tratamientos, plantas vecinas y áreas circundantes, por lo que no se encontró diferencias estadísticas significativas en ninguno de los factores en estudio. Esta investigación determinó la gran capacidad de *Verticillium sp.* para instalarse y difundirse en las áreas cafetaleras con condiciones propicias para su prevalencia.

Palabras clave: Conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.*, medios de cultivos sólidos y líquidos, prevalencia y diseminación, pústulas de *Hemileia vastatrix*, pústula inhibidas.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

ABSTRACT

The present work was carried out in the province of Manabí in the year of 1997, the months of March to December, to obtain conidia and chlamydospores of *Verticillium sp.* in-vitro, using different media of solid and liquid cultures. At the field level, the dissemination and prevalence of *Verticillium sp.* Was carried out, using different propagation methods, at the Limón de Procel and Las Pajitas de Cascol sites of Paján Canton, coffee zones located between 500 and 600 m.s.n.m., for the evaluation of production of conidia and chlamydospores, both in solid and liquid media. In the field, suspensions with various densities of conidia and chlamydospores of *Verticillium sp.*, On pustules of *Hemileia vastatrix* (rust) in adult plants and coffee uniforms, were sprayed using random blocks design. Determining in the laboratory that the corn-dextrose-agar solid culture medium and the potato-dextrose liquid medium obtained the highest growth and production of conidia and chlamydospores. In the field the evaluation dates showed a parasitic effect on the uredósporas of *Hemileia vastatrix*, having achieved a good implantation of *Verticillium sp.* In the first and second observation in the study sites, a decrease in the percentage of pustules with rust, pustules with *Verticillium sp.*, and a high percentage of pustules inhibited in all the treatments, neighboring plants and surrounding areas, was noted. Significant statistical differences were found in none of the factors under study. This investigation determined the great capacity of *Verticillium sp.* to settle and spread in the coffee areas with favorable conditions for its prevalence.

Key words: Conidia and chlamydospores of *Verticillium sp.*, Media of solid and liquid cultures, prevalence and spread, pustules of *Hemileia vastatrix*, pustules inhibited.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

Introducción.

El cultivo de café juega un papel importante en el aspecto socioeconómico y ecológico del Ecuador, la generación de empleo directo para 105.000 familias de productores, fuente de trabajo para varios miles de familias vinculadas a las actividades de comercio, agroindustria artesanal, industria de soluble, transporte y exportación, se manifiesta en el aporte de divisas al Estado; la generación de ingresos para cada uno de los actores de la cadena productiva.

En lo ecológico es evidente la amplia adaptabilidad de los cafetales a los distintos agroecosistemas de la costa, sierra, Amazonía e islas Galápagos; los cafetales, en su mayor parte, están cultivados bajo árboles de alto valor ecológico y económico, en diversos arreglos agroforestales, que constituyen un hábitat apropiado para muchas especies de la fauna y flora nativas que además, favorecen a la captura de carbono y el balance hídrico de los ecosistemas.

De acuerdo a la información del III Censo Agropecuario en Ecuador (INEC 2002), existen 105.271 unidades de producción agropecuaria (UPA), que tienen al rubro café dentro de sus componentes agrícolas, ocupando una superficie de 199.215 hectáreas de café (COFENAC, 2011). Este cultivo se desarrolla en su mayoría en UPAS con un área menor a 5 hectáreas. Se estima que la producción genera empleo a 650.000 personas de manera directa y a 500.000 de forma indirecta. AGROCALIDAD, (2012).

La producción de café en la provincia de Manabí se concentra principalmente en los cantones Jipijapa, Portoviejo, Olmedo, 24 de mayo, Paján y Santa Ana, aunque existen pequeños cultivos a lo largo de casi toda la provincia. Según el SINAGAP el “43% del café del país es

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

Manabita” Desde 1860 se cultiva café en el Ecuador. La zona de Jipijapa, en la provincia de Manabí ha sido uno de los lugares preponderantes en los cuales se cultiva este producto. APRIM, (2013).

La producción nacional es baja, esto es atribuido a varias causas, entre ellas, explotación tradicional con bajo uso de tecnología, este descuido permite la incidencia de problemas fitosanitarios, COFENAC, (1998). El cultivo del café al igual que otros cultivos esta expuesto en mayor o menor grado a numerosas enfermedades que disminuyen su rentabilidad. Entre las mas importantes a nivel foliar se destaca la **roya del café**, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk & Br.

La roya del café se presento por primera vez en el Ecuador en 1981 proveniente del Perú atravesando la frontera cerca de Zumba, en la provincia de Zamora Chinchipe donde se establecen los primeros focos de infección INIAP, (1993). Actualmente esta enfermedad esta presente en toda el área de la caficultura nacional, debido a que muchas áreas presentan condiciones favorables para su desarrollo, especialmente en los cafetales ubicados en la parte más alta y húmeda. COFENAC, (1998).

En algunos sectores cafetaleros se ha observado la presencia del hongo *Verticillium sp.*, como parasito de *Hemileia vastatrix*. Estas y otras observaciones locales muestran que el *Verticillium sp*, restringe notablemente el desarrollo de la roya, impidiendo el crecimiento normal de las pústulas, INIAP, (1997). Por los antecedentes expuestos se hizo necesario realizar el presente estudio, con el propósito de desarrollar una estrategia adecuada y eficiente para el control biológico de la roya, como contribución al sector caficultor en el mejoramiento de su

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

nivel socioeconómico y a la vez disminuir las aplicaciones con productos químicos que constituyen serios problemas de manejo e impactos ecológicos y salud.

Materiales y métodos.

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento Nacional de Protección Vegetal, de la Estación Experimental Portoviejo del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), y en cultivos establecidos de café en el Cantón Paján (sitios: Limón de Procel y la Victoria de Cascol), Zona Húmeda de Manabí.

*Obtención, aislamiento y multiplicación de *Verticillium sp.**

La obtención de cultivos puros *Verticillium sp.* se realizó a partir de hojas de café que presentaban pústulas de roya parasitadas por el hongo en mención y fueron colectadas en los Recintos la Naranja y Prosperina del Cantón Jipijapa. Zona cafetalera ubicada entre 500 600 m.s.n.m., con temperatura promedio de 21.7°C, entre los meses de mayo a noviembre período la mayor incidencia de la enfermedad.

La urediniosporas de *Hemileia vastatrix* Berk & Br., (Gráfica 1), agente causante de la roya del cafeto, son frecuentemente parasitadas por el hongo *Verticillium lecanii*. El tejido de la hoja de café no es infectado por este hongo, las hojas en las que se encuentra parasitando pústulas de roya, muestran a menudo necrosis y caen más rápido que las no parasitadas. Leal, (1963).

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco



Gráfica 1. Hoja parasitada por *Hemileia vastatrix* (Roya)

El control biológico en la filósfera está basado en el antagonismo microbiano en la fase de penetración del patógeno o en el hiperparasitismo, una vez establecido la infección. Además de la introducción de antagonistas, el uso de antagonismo natural en un programa de control integrado de enfermedades, es un medio más eficiente de combate. Blakeman, J. y Fokkema, N., (1982) y Whipps, M., (1984).

Otro hongo que la literatura señala como antagonista de las royas y corresponde al género *Verticillium* sp., algunas veces citado en la literatura como *Lecanicillium* sp. Canjura, *et al.*, (2002). El hiperparásito *V. lecanii* actúa mediante penetración y muerte de urediniosporas de roya en la pústula. De esta manera, el hiperparásito reduce el grado e infección en la hoja. Subramanian, (1972).

Verticillium Es un hongo que tiene conidióforos delgados y ramificados al menos algunas ramas son verticiladas (verticilios); tienen conidias (Phialosporas) ovoides a elipsoides, hialinas uniceluladas, portadas simplemente en pequeños racimos suculentos apicalmente. La mayoría de

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

las especies de *Verticillium* son parásitos vasculares en plantas superiores, parásitos en otros hongos o saprofitos. Barnett y Hunter, (1972).

Mahfund, *et al.*, (2006), señala que los efectos de dos especies de este género pueden actuar desde la decoloración de uredósporas, formación de micelio blanco sobre ellas o necrosamiento, dependiendo el tiempo de aplicación.

Gonzalez, *et al.*, (2002), Se conocen varios hiperparásitos del hongo *Hemileia vastatrix* entre ellos se destacan *Cladosporium hemileia* y *Verticillium hemileia* (*Verticillium lecanii*). Este último hongo produce un micelio blanco que se puede observar sobre las pústulas de la roya. Esto sugiere que el porcentaje de parasitismo de *Lecanicillium* sp., varía entre especies y aislamientos. Arriola *et al.*, (1998).

Eskes, *et al.*, (1991), a partir de lesiones de roya del café se lograron aislar *Verticillium lecanii*, en un medio de elevado índice de humedad en laboratorio, pero solo en contados casos en el campo también se aislaron *V. leptobactrum* de lesiones de roya del café en laboratorio lo cual permite afirmar, por primera vez, que esta especie es un hiperparásito de *Hemileia vastatrix*. Ambas especies mostraron acciones antibióticas e hiperparásitas casi idénticas en laboratorio.

Vélez, Rosillo, (1985), manifiestan que ensayos de laboratorio confirmaron que el extracto metabólico de *Verticillium lecanii* afectó drásticamente el proceso de germinación de las urediniosporas de roya. Estos ensayos en invernadero y laboratorio evidenciaron el efecto protector de dicho extracto contra la infección por roya.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

Para el aislamiento las hojas fueron llevadas al laboratorio donde se extrajeron masa miceliales del hongo *Verticillium sp.* estas muestras fueron sembradas en platos de Petri esterilizados que contenían medios de cultivos agar-agua (A.A) al 2%.

Vélez, (1991), estableció el efecto de los estratos del hiperparásito *Verticillium lecanii* sobre los procesos germinativos e infectivo de *Hemileia vastatrix* Berk & Br., en plántulas de *Coffea arábica* Var. Caturra, en condiciones de laboratorio e invernadero.

Leguizamón, *et al.*, (1989), encontró que el cultivo licuado (micelio y conidias) y el extracto metabólico de *Verticillium lecanii* cultivado en caldo de papa dextrosa (CPD) afectó la evolución de la lesión y la germinación de urediniosporas de *Hemileia vastatrix*.

Las colonias obtenidas en este medio de cultivo fueron purificadas y transferidas a platos de Petri que contenían papa-dextrosa agar (P.D.A.) al 2% para su conservación.

Para la multiplicación de *Verticillium sp.* se estudiaron diferentes medios de cultivos con el fin de determinar, el que más propicie mayor cantidad de inóculo en forma de conidias y clamidosporas.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 unidades por tratamiento, los tratamientos estuvieron formulados (4 medios sólidos y 4 medios líquidos), cada tratamiento sólido (con agar) estuvo conformado por 10 platos Petri conteniendo 25 ml. de medio. Los medios líquidos (sin agar) en igual número se utilizó frascos Erlenmeyers conteniendo 25ml. de

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

medio líquido, los cuales fueron colocados en un agitador eléctrico de movimiento horizontal regulable a la conveniencias del experimento, y se los mantuvo en movimiento mientras duro la prueba. (Gráfica 2).



Gráfica 2. Materiales utilizados para la inoculación del hongo *Verticillium sp.*

Hansser *et al.*, (1982), investigando al microscopio de luz la interacción entre *Puccinia graminis* var. *Tritici* y *V. lecanii*, encontraron el hiperparásito entre las urediniosporas de la roya, después de 24 horas de inoculación. Observaciones al microscopio electrónico de esta interacción confirmaron que la penetración directa depende fundamentalmente de la capacidad enzimática de *V. lecanii*.

Vélez, (1991), a medida que se aumenta la concentración del extracto de *Verticillium lecanii*, se disminuyó la tasa de urediniosporas de roya, en un comportamiento cuadrático y un ajuste del 77%. De igual manera, estos extractos prolongaron los periodos de latencia de *H.*

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

vastatrix, redujeron el grado de infección y la tasa de producción de urediniosporas del hongo; el efecto persistió a través del tiempo.

Canjura, *et al.*, (2002), Las cepas de *Verticillium sp.* produjeron satisfactoriamente conidias en los fermentadores artesanales. No se observó la presencia de clamidosporas en el fermentador, lo cual podría sugerir que las cepas corresponden a la especie *Verticillium lecanii*. La reducción de la concentración de melaza no afectó la producción final de conidias de las cepas de CATIE, Pejibaye y Tuis; por lo tanto, se puede usar la dosis más baja (8g/l).

Para la toma de datos y métodos de evaluación se determinó el número de días en que el hongo tardó en propagarse y cubrir el medio contenido en el plato Petri. El conteo de conidias y clamidosporas se verificó utilizando la cámara de Newaver. Para realizar el conteo de conidias y clamidosporas se licuó cada unidad experimental de 25ml., agregándole 75ml. de agua destilada esterilizada para completar 100ml. de suspensión.

El conteo se realizó en el momento en que el hongo cubrió la superficie del medio de cultivo, y el resultado fue en número de conidias y clamidosporas por cm² en los medios sólidos y número de conidias y clamidosporas por ml. en los líquidos. Estos resultados fueron promediados entre las 10 unidades experimentales, para obtener los valores de producción de conidias y clamidosporas de por cada sustrato probado.

Para la preparación de medios se utilizó los componentes convencionales, agar-dextrosa combinados con zanahoria, papa, maíz y soya siguiendo las proporciones utilizadas por Moreira

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

(1983). Para la siembra del inóculo, en el centro de cada unidad experimental se colocó un disco de PDA de 5mm de diámetro con crecimiento de *Verticillium sp.*

Análisis estadístico

Se determinó el número de días en que el hongo tardó en propagarse y cubrir el medio contenido en el plato Petri. El conteo de conidias y clamidosporas fue hecho, utilizando la cámara de Newaver.

Para realizar el conteo de conidias y clamidosporas se licuó cada unidad experimental de 25 ml. agregándole 75 ml. de agua destilada esterilizada para completar 100 ml. de suspensión.

El conteo se realizó en el momento en que el hongo cubrió la superficie del medio de cultivo, y el resultado fue en número conidias y clamidosporas por cm² en los medios sólidos y número conidias y clamidosporas por ml. en los líquidos. Estos resultados fueron promediados entre las 10 unidades experimentales, para obtener los valores de producción de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.* por cada sustrato probado.

A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza para determinar si hubo diferencias significativas entre tratamientos, aplicando la prueba de Tukey.

Estudio de diseminación de Verticillium sp. sobre Hemileia vastatrix

Estos ensayos se los realizó en zonas húmedas del Cantón Paján, en los sitios Limón de Procel y la Victoria de Cascol, situado entre 500-600 m.s.n.m.; las coordenadas geográficas 0° 10' de latitud N hasta 1° 50' de latitud S y desde 79° 25' hasta 80° 75' de longitud O.; en cultivos

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

establecidos de café con textura de suelo limo arcilloso de drenaje natural, pendiente del 25% con Ph de 6,8 a 7, temperatura de 18-24°C, la precipitación anual de 1,000 a 1,300mm, humedad relativa 82.4%.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones donde cada tratamiento estuvo conformado por dos árboles adultos de la misma característica, los mismos que constituían una parcela, las evaluaciones del parasitismo fueron realizadas tomando los números de pústulas con roya, número de pústulas con *Verticillium sp.*, número de pústulas inhibidas.

Moreira, (1983), bajo condiciones de campo en el sitio La Naranja, del Cantón Jipijapa se asperjó suspensiones de esporas de *Verticillium sp.* en densidades de 200.000 – 300.000 – 400.000 – 500.000 esporas/ml. de agua destilada, esterilizada en plantas adultas de café de la variedad *Caturra Roja*, evidenciándose un claro efecto parasítico sobre las uredósporas de *H. vastatrix*.

Este experimento se realizó entre los meses de agosto a noviembre, temporada en la que se presentó la infección de *Hemileia vastatrix* debido a las temperaturas favorables para su desarrollo. Se probó el efecto de *Verticillium sp.* sobre *H. vastatrix*, en plantas de café de la variedad *Caturra* en las áreas de producción. (Gráfica 3).

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco



Gráfica 3. Inoculación de *Verticillium sp.* en árboles de café Parasitados por *Hemileia vastatrix*

Los cuatro primeros tratamientos fueron asperjados con suspensiones de *Verticillium sp.*, en densidades de 500.000, 600.000, 700.000, 800.000 conidias y clamidosporas por ml. de agua destilada estéril. En el tratamiento de inóculo en depósito abierto se utilizó platos de Petri desechables dentro del cual se colocó el *Verticillium sp.* ubicando el plato Petri en la parte media del árbol en observación. Para el tratamiento de inóculo en fundas de gasa, estas fueron humedecidas con *Verticillium sp.* y colgadas a la mitad de los árboles en estudio.

La primera evaluación se la realizó a los 25 días después de aplicar los tratamientos con conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.* (Gráfica 4).

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco



Gráfica 4. Efecto inicial de *Verticillium sp.* sobre *Hemileia vastatrix*

Así mismo se observó el radio de dispersión del hongo en las plantas vecinas de la parcela, con el propósito de determinar el momento de inicio de la colonización sobre las pústulas de roya en las hojas de los árboles de café tratadas y en las plantas de café circundantes. A los datos obtenidos se les hizo análisis de varianza para la prueba de significación Tukey al 5% de probabilidades.

Vélez, (1991), al asperjar cultivos licuados de *Verticillium lecanii* sobre las lesiones establecidas de *H. vastatrix*, se observó cubriendo la lesión por el micelio blanco con pérdida completa de ésta. El estrato metabólico de *V. lecanii* asperjado a lesiones establecidas de *H. vastatrix* originó una depresión central de las lesiones que se acentuó a través del tiempo. Microscópicamente el efecto se manifestó con inhibición total de la germinación y algunos cambios morfológicos en las urediniosporas.

Histológicamente las hojas asperjadas con el cultivo de *V. lecanii* mostraron al micelio del hongo formando redes alrededor de las urediniosporas de roya, en el sitio de penetración al

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

estoma. El cultivo y extracto metabólico de *V. lecanii* asperjado en hojas sanas, no provocó ningún cambio visible en las hojas. El seguimiento efectuado, evidencia el efecto erradicativo de *V. lecanii* y su inocuidad en plantas sanas; factores fundamentales en un microorganismo usado en control biológico. Vélez, (1991).

Carrión, (1988), en aspersiones realizadas con soluciones conidiales de *Verticillium lecanii*, 36 cafetos escogidos al azar y atacados por roya se llevaron a cabo en los meses de menor precipitación del año (diciembre-abril). Se cuantificó mensualmente la infección de la roya y la incidencia de *V. lecanii*, así como la tasa de defoliación de los cafetos en diferentes tratamientos. Se logró inducir y aumentar la incidencia de *V. lecanii* hasta 13.66 veces, por lo que la tasa de incremento del hiperparásito fue mayor que el de la roya en todos los tratamientos, con respecto al inicio del experimento.

El número de aspersiones realizadas tuvo una influencia significativa en el incremento de la incidencia de *V. lecanii* y en la disminución de la tasa de defoliación. Los grupos tratados con 5 aspersiones presentaron el porcentaje más alto de infección de *V. lecanii* 35.56%, mientras que los grupos con 4 aspersiones tuvieron la tasa de defoliación más baja 0.22%. Carrión, (1988).

Eskes, *et al.*, (1991), un bajo índice de humedad relativa parece inhibir completamente el crecimiento y el desarrollo de *V. lecanii* y *V. leptobactrum*. Las pruebas de campo mostraron que los hiperparásitos poseen una baja capacidad para sobrevivir en lesiones de roya del café al aire libre, lo cual limita su poder de agente de lucha contra la roya del café en las condiciones climáticas del Estado de Sao Paulo, Brasil.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

La presencia de uredósporas de roya no mejoró la concentración final de conidias de dichas cepas, por lo que no se justificó su uso en los fermentadores. Para la cepa de Guayabo, no se pudo definir el efecto de la concentración de melaza ni de la presencia de uredósporas de roya en el sustrato. Para la fase de campo, las condiciones del ensayo en macetas y con inóculo natural de roya no permitieron determinar la capacidad hiperparasítica de las cepas de *Verticillium sp.* Canjura, *et al.*, (2002),

Resultados y discusión.

Mediante un examen visual de las pústulas de roya colonizadas por *Verticillium sp.* se pudo observar la presencia de un micelio blanco de aspecto algodónoso, desarrollado sobre la masa de uredósporas. (Gráfica 5).



Gráfica 5. Presentación típica de *Verticillium sp.* De aspecto algodónoso impidiendo el desarrollo de las pústulas de *Hemileia vastatrix*

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

Al observar al hongo *Verticillium sp.*, bajo el microscopio compuesto a 1.250 aumentos, se encontraron las siguientes estructuras: micelio constituido por hifas ramificadas en verticilos, conidióforos delgados erectos y verticilados, conidias unicelulares hialinas ovoides raramente elipsoidales. Además se observó clamidosporas, que son esporas de paredes engrosadas que les permite resistir condiciones adversas al desarrollo del hongo. Concuerda con estudios efectuados por Barnett y Hunter, (1972), Mahfund, *et al.*, (2006), Gonzalez, *et al.*, (2002).

Multiplicación de Verticillium sp. en medios sólidos y líquidos

En medios de cultivos sólidos probados, el hongo alcanzó su máximo crecimiento en maíz-dextrosa-agar y zanahoria-dextrosa-agar, necesitó 34 días para cubrir la superficie del medio contenido en el plato Petri. En los medios de cultivo papa-dextrosa-agar y soya-dextrosa-agar el hongo alcanzó un diámetro de 47mm. y 51mm. A los 48 días respectivamente, momento en que se dio finalizada la prueba. Este ensayo de laboratorio permitió determinar a nivel in vitro los medios de cultivos más favorables para el desarrollo de *Verticillium sp* siendo el medio de cultivo líquido, el tratamiento papa-dextrosa que obtuvo mayor producción; y en cuanto al medio de cultivo sólido, el tratamiento maíz-dextrosa-agar el que obtuvo un mayor porcentaje de reproducción de *Verticillium sp*. Tal como lo menciona Leguizamón, *et al.*, (1989), el extracto metabólico de *Verticillium lecanii* cultivado en caldo de papa dextrosa (CPD).

En cuanto a la densidad de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.*, en los diferentes medios de cultivos los resultados estadísticos indican diferencias altamente significativas. Siendo el medio de cultivo maíz-dextrosa-agar, el que propició la máxima producción de conidias y clamidosporas por cm² con 6'472.128 unidades. Seguido por zanahoria-dextrosa-agar con

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

5'443.743; soya-dextrosa-agar con 3'105.911, siendo el más bajo en densidad el medio papa-dextrosa-agar con una producción de 2'410.975 conidias y clamidosporas.

En los medios líquidos estudiados y de acuerdo al análisis estadístico se encontró diferencias significativas para la producción de conidias y clamidosporas/ml., a los 48 días en que finalizó el ensayo, el hongo alcanzó las siguientes cantidades: en el tratamiento papa-dextrosa 3'465.900 unidades/ml., seguido del tratamiento maíz-dextrosa 2'896.500 unidades/ml., el tratamiento zanahoria-dextrosa 2'138.900 unidades/ml., ubicándose en el último lugar el tratamiento soya-dextrosa con 1'046.500 conidias y clamidosporas. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.* en diferentes medios de cultivos sólidos y líquidos

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE CONIDIAS Y CLAMIDOSPORAS/cm ²
1. Maíz-Dextrosa-Agar	6'472.128 a
2. Zanahoria-Dextrosa-Agar	5'443.743 ab
3. Papa-Dextrosa	3'465.900 bc
4. Soya-Dextrosa-Agar	3'105.911 cd
5. Maíz-Dextrosa	2'896.500 cd
6. Papa-Dextrosa-Agar	2'410.975 cd
7. Zanahoria-Dextrosa	2'138.900 cd
8. Soya-Dextrosa	1'046.500 d
X	3'372.576
TUKEY	2'010.494
C.V.%	36.1%

INIAP, E.E. PORTOVIEJO

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

Datos con la misma letra no difieren significativamente.

Evaluación de la diseminación de *Verticillium sp.* sobre *Hemileia vastatrix*

Bajo condiciones de campo la colonización de *Verticillium sp.* en la localidad de *Limón de Procel* ocurrió en forma óptica 25 días después de la aplicación. De acuerdo a los resultados del análisis estadístico no hubo significación para los tratamientos estudiados en cuanto al porcentaje de pústulas colonizadas por *Verticillium sp.*; pero se observó que el tratamiento 800.000 conidias y clamidosporas/ml. tuvo mayor porcentaje de colonización con 39,80%, seguido del tratamiento 600.000 conidias y clamidosporas/ml. que presentó un 38,80% de colonización; mientras que los tratamientos que tuvieron los porcentajes más bajos fueron: inóculo en depósito abierto y el testigo, con 30,30% y 26,30% respectivamente. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de aplicaciones de *Verticillium sp.* sobre los porcentajes de pústulas con roya, pústulas colonizadas y pústulas inhibidas, en estudio de diseminación de para control biológico de la roya del café: el limón de procel Pajan.

TRATAMIENTOS	% Pústulas con Roya	% Pústulas de Roya con <i>Verticillium sp.</i>	% Pústulas Inhibidas
1. 500.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	54.30	35.50	10.20
	49.60	38.80	11.60
2. 600.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	50.40	35.40	14.20
	43.40	39.80	16.80
3. 700.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	56.70	30.30	13.00
	54.00	36.20	9.80
4. 800.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	62.20	26.30	11.50
5. Inóculo en Depósitos Abiertos			

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

6.	Inóculo en Fundas de Gasa			
7.	Testigo (Sin <i>Verticillium sp.</i>)			
X		52.90	34.60	20.04
C.V.%		16.72%	22.18%	30.73%
TUKEY		N.S.	N.S.	N.S.

Primera evaluación 25 días desde la aplicación de los tratamientos

En lo relacionado a pústulas inhibidas y de acuerdo al análisis estadístico no hubo significación estadística observando que el tratamiento que tuvo una mayor inhibición fue el de 800.000 conidias y clamidosporas/ml. con el porcentaje de 16.80%, seguido por el tratamiento 700.000 conidias y clamidosporas/ml. con un porcentaje de 14.20% de inhibición; los tratamientos que tuvieron los más bajos porcentajes fueron 500.000 conidias y clamidosporas/ml. seguido por inóculo en fundas de gasa con el porcentaje de 10.20%, y 9,80% respectivamente. Vélez, (1991), estableció el efecto de los estratos del hiperparásito *Verticillium lecanii* sobre los procesos germinativos e infectivo de *Hemileia vastatrix* Berk & Br., en plántulas de Coffea arábica Var. Caturra.

De acuerdo al análisis estadístico de las observaciones realizadas a los 48 días después de la aplicación en los tratamientos de estudio del sitio Limón de Procel indican que no hay diferencia significativa en pústulas de roya con *Verticillium sp.* al igual que en pústulas inhibidas. La tercera evaluación se la realizó a los 65 días después de la aplicación observándose que las pústulas de roya en su totalidad se encontraban inhibidas debido a la acción de parasitismo de *Verticillium sp.* (Gráfica 6).

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco



Gráfica 6. Pústulas y lesiones de roya con presencia de *Verticillium sp.*

Las observación realizada en el sitio *Las Pajitas de Cascol* a los 25 días de inoculo el hiperparásito y de acuerdo a los resultados del análisis estadístico se determinó que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos en estudio.

Referente a pústulas de roya colonizadas por *Verticillium sp.* se observó que el tratamiento que obtuvo el mayor porcentaje de colonización de *Verticillium sp.* fue el de 600.000 conidias y clamidosporas/ml. con un promedio de 22.00%, seguido por el tratamiento de inóculo en fundas de gasa con un porcentaje de 20.20% de colonización sobre pústulas de roya. Los tratamientos que alcanzaron los porcentajes más bajos fueron 800.000 conidias y clamidosporas/ml. y 500.000 conidias y clamidosporas/ml. con promedios de 7.10% y 5.00% respectivamente.

Concerniente a pústulas inhibidas podemos indicar y de acuerdo al análisis estadístico que el tratamiento de dispersión con 500.000 conidias y clamidosporas/ml. tuvo el más alto

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

porcentaje de inhibición con el 50.60%, seguido del tratamiento inóculo en fundas de gasa con el 44.80%; los tratamientos que obtuvieron los mas bajos porcentajes son el testigo con el 22.80% y el tratamiento 600.000 conidias y clamidosporas/ml. con un porcentaje de 13.90% de inhibición. (Cuadro 3).

Acorde a lo expuesto y al análisis estadístico el ensayo en el sitio Las Pajitas de Cascol, durante los primeros 25 días no hubo significación estadística en ninguno de los tratamientos.

Cuadro 3. Efecto de aplicaciones de *Verticillium sp.* sobre los porcentajes de pústulas con roya, pústulas colonizadas y pústulas inhibidas, en estudio de diseminación de para control biológico de la roya del café: Las Pajitas Cascol.

TRATAMIENTOS	% Pústulas con Roya	% Pústulas de Roya con <i>Verticillium sp.</i>	% Pústulas Inhibidas
1. 500.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	44.40	5.00	50.60
2. 600.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	64.10	22.00	13.90
3. 700.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	50.10	13.14	36.50
4. 800.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	64.70	7.10	28.20
5. Inóculo en Depósitos Abiertos	45.80	15.00	39.20
6. Inóculo en Fundas de Gasa	35.00	20.20	44.80
7. Testigo (Sin <i>Verticillium sp.</i>)	63.10	14.10	22.80
X	52.46	13.83	33.71
C.V.%	48.60%	68.18%	49.51%
TUKEY	N.S.	N.S.	N.S.

Primera evaluación 25 días desde la aplicación de los tratamientos

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

La segunda evaluación realizada a los 45 días desde la inoculación los datos obtenidos de acuerdo con el análisis estadístico los resultados fueron no significativos para los tratamientos estudiados, tanto en pústulas de roya con *Verticillium sp.* y pústulas inhibidas.

La tercera evaluación se la efectuó a los 65 días alcanzando el máximo control el tratamiento en inóculo en depósito abierto con un 16.60%, seguido de el tratamiento 700.000 conidias y clamidosporas/ml. con el 14.90% de parasitismo; los tratamientos que tuvieron su más bajo control fueron el testigo con el 5.40%, seguido por el tratamiento de 600.000 conidias y clamidosporas/ml. con un porcentaje de 4.80%. en cuanto a pústulas inhibidas el tratamiento de mayor control fue inóculo en depósito abierto con el 82.60%, seguido por 500.000 conidias y clamidosporas/ml. con el 74.90% de inhibición; los tratamientos que alcanzaron el más bajo control son testigo con el 60.10%, seguido por 700.000 conidias y clamidosporas/ml. con el 59.60% de inhibición. (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de aplicaciones de *Verticillium sp.* sobre los porcentajes de pústulas con roya, pústulas colonizadas y pústulas inhibidas, en estudio de diseminación de para control biológico de la roya del café: Las Pajitas Cascol.

TRATAMIENTOS	% Pústulas con Roya	% Pústulas de Roya con <i>Verticillium sp.</i>	% Pústulas Inhibidas
1. 500.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	14.50	10.60	74.90
2. 600.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	22.40	4.80	72.80
3. 700.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	25.50	14.90	59.60
3. 700.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	22.50	13.00	64.50
3. 700.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	17.80	16.60	65.60

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

destilada estéril	9.20	8.20	82.60
4. 800.000 conidias y clamidosporas/ml. de agua destilada estéril	34.50	5.40	60.10
5. Inóculo en Depósitos Abiertos			
6. Inóculo en Fundas de Gasa			
7. Testigo (Sin <i>Verticillium sp.</i>)			
X	20.90	10.50	68.60
C.V.%	58.19%	53.35%	20.71%
TUKEY	N.S.	N.S.	N.S.

Tercera evaluación 65 días desde la aplicación de los tratamientos

A los 80 días después de haberse inoculado el *Verticillium sp.* se efectuó una última observación visual en la que se verificó que el hiperparásito *Verticillium sp.* había actuado en las plantas tratadas y vecinas en forma eficiente llegando a satisfacer todas las expectativas creadas por el parasitoide, es así que de los análisis estadísticos de las evaluaciones realizadas en los dos ensayos no se encontró diferencias estadísticas significativas tanto en pústulas con *Verticillium sp.* como en pústulas inhibidas debido a la eficiencia de los tratamientos en estudio y a las condiciones climáticas favorables de los sitios, donde se ejecuto el experimento.

Los tratamientos testigos de ambas localidades en la primera evaluación presentaron invasión de esto probablemente se debió a la fácil diseminación del hongo.

Analizando el efecto de las diferentes concentraciones en la segunda y tercera evaluación se pudo determinar que en ambos ensayos el tratamiento inóculo en depósitos abiertos presentaba la mayor colonización sobre las pústulas de roya. Probablemente se debió a la permanencia del hongo en los recipientes, al igual que los otros tratamientos incluidos los testigos también presentaron un alto porcentaje de colonización e inhibición.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

A los 80 días se observó que el hiperparásito había actuado en las plantas tratadas incluido los testigos la fácil diseminación del hongo permitió observar el mismo en lugares aledaños al ensayo. En los análisis estadísticos no se encontró diferencias en ninguno de los tratamientos, considerando al *Verticillium sp.* un patógeno dinámico. Las condiciones climáticas que se presentaron en esta época del año jugaron un papel importante en la investigación, favorecido por la ubicación de los ensayos los cuales requerían una altitud que oscilara entre los 500 – 600 m.s.n.m.

Conclusión.

Los estudios demuestran que los diferentes medios de cultivos que tuvieron mayor desarrollo de conidias y clamidosporas de *Verticillium sp.* fue maíz-dextrosa-agar, zanahoria-dextrosa-agar en los medios sólidos y papa-dextrosa en los medios líquidos. En diseminación de conidias y clamidosporas en condiciones de campo en el sitio Limón de Procel a 25 días de haberse realizado la aplicación, se observó que la concentración de 800.000 unidades/ml. fue la primera en realizar la colonización e inhibición.

Transcurrido los 48 días desde la aplicación, la concentración de inóculo en depósitos abiertos tuvo la mayor colonización sobre pústulas de roya, siendo el testigo el que alcanzó su más baja colonización. A los 65 días de la aplicación se observó que el *Verticillium sp.* inhibió a las pústulas de roya en todos los tratamientos.

El ensayo del sitio Las Pajitas de Cascol a los 25 días de inoculado el hiperparásito la concentración de 600.000 conidias y clamidosporas/ml., tuvo la mayor propagación a diferencia

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

de las otras concentraciones, en lo relacionado a pústulas de roya con *Verticillium sp.*, la menor propagación fue el de 500.000 conidias y clamidosporas/ml. desde la inoculación transcurrido 45 días, la concentración de inóculo en depósitos abiertos indican un mayor efecto de colonización sobre pústulas de roya, siendo el tratamiento 800.000 unidades/ml. el que alcanzó el más bajo porcentaje. Después de 65 días de la aplicación el tratamiento que alcanzó el máximo control fue inóculo en depósitos abiertos, teniendo el más bajo porcentaje el tratamiento de 600.000 unidades/ml.

Bibliografía.

- AGROCALIDAD, (2012), Manual de procedimientos para el registro de viveros y productores de material de propagación vegetal de café, Agencia ecuatoriana de aseguramiento de la calidad del agro, Dirección de sanidad vegetal, MAGAP, Ecuador.
http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/inocuidad/manual_cafe.pdf
- APRIM, (2013), Agencia de Promoción Regional de Inversiones de Manabí, Agencia adscrita al Gobierno Provincial de Manabí,
http://www.manabi.gob.ec/investmanabi/Expor_cafe2-0.php
- Arriola, M., Chet, I. and Rölz, C., (1998), Hongos que atacan la roya del café: Un breve comentario. Universidad Del Valle de Guatemala 8:2-6. Disponible en línea:
<http://uvg.edu.gt/publicaciones/revista/volumenes/revista8.pdf>
- Barnett y Hunter, B., (1972), *Illustrate genera of imperfect fungi*, Third edition, Burgess publishing Company, Minnesota, 88 p.
- Blakeman, J. y Fokkema, N., (1982), Potencial for Biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology*, Estados Unidos, 20: 167 – 192.
- Canjura, E., Sánchez, V., Krauss, U. y Somarriba, E., (2002), Reproducción masiva de *Verticillium sp.*, hiperparásito de la roya del café, *Hemileia vastatrix*, Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, Costa Rica, No. 66 p.13-19.
- Carrión, G., (1988), Estudios sobre el control biológico de la roya del café mediante *Verticillium lecanii* en México, V (1), 79 – 86 pp.
- COFENAC, (1998), Información departamento de división técnica COFENAC, Portoviejo, Ecuador.
- Eskes, A., Mendes, M., and Robbs, C., (1991), Laboratory and field studies on parasitism of *Hemileia vastatrix* with *Verticillium lecanii* and *V. leptobactrum*. *Café-Cacao-Thé*, Francia, V. 35(4):275-282.

Prevalencia y diseminación de *Verticillium Sp.* para el control biológico de la roya del café

Vol. 2, núm. 3., (2018)

Carlos Julio Cañarte Bello; Tomas Robert Fuentes Figueroa; Marcos Manuel Manobanda Guamán; Narciso Fernando Augusto Ayón Villao; Bienvenido Máximo Vera Tumbaco

-
- Gonzalez, J., López, A., Schuppener, H., Sonder, K. y Becker, S., (2002), La roya del café y su combate en Nicaragua, Instituto Nicaragüense de tecnología Agropecuaria, INTA, Misión Técnica Alemana, GTZ, Frankfurt, Alemania, 33 p.
- Hansser, G., Knorz, M. y Reisener, H., (1982), Light microscope investigations of the interaction between *Puccinia graminis* var. *Tritici* and *Verticillium lecanii*, 102 (3/4): 310 – 319 pp.
- INIAP, (1993), Manual del cultivo del café, EET-Pichilingue, FUNDAGRO, GTZ, Quevedo, Ecuador.
- INIAP, (1997), Departamento nacional de protección vegetal, fitopatología de la estación experimental Portoviejo, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP, Portoviejo, Ecuador.
- Leguizamón, C., Vélez, A., Gonzalez, S., (1989), Efectos de extractos metabólicos de *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*, CENICAFE, Colombia, 40(2): 31-39 pp.
- Mahfund, M., Mior, A., Meon, S. and Kadir, J., (2006), *In Vitro* and *in Vivo* Tests for Parasitism of *Verticillium psalliotae* Treschow on *Hemileia vastatrix* Berk and Br. Malaysian Journal of Microbiology. 2:46-50. Disponible en línea en: <http://www.myjournal.my/public/article-view.php?id=10291>
- Manobanda, M., Fuentes T., (1999), Prevalencia y diseminación de para el combate biológico de la roya del café en la zona Sur de Manabí, Tesis de pregrado, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta, Ecuador.
- Moreira, R., (1983), Estudio sobre combate biológico de la roya del café con el hongo *Verticillium sp.*, Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.
- Subramanian, (1972), Problems in pathology of coffee, Coffee Indian, Indian, 36 (2–3), 81 – 85 pp.
- Vélez, A., (1991), Estudio macro y microscópico del efecto de *Verticillium lecanii* sobre el desarrollo de lesiones de la roya del café, CENICAFE, Colombia, 42 : 13 – 20.
- Vélez, A., Rosillo, A., (1985), Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*, en condiciones de invernadero y de campo, V. 46(1), 45-55 pp.
- Whipps, M., (1984), Use of microorganisms for biological control of vegetable diseases. Aspects of Applied Biology, Inglaterra, 12: 75 – 94.