

Efectividad de cepas de *Trichoderma* spp., y *Lecanicillium* spp., en el control de la roya (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) en el cultivo del café en Nayarit, México

Effectiveness of *Trichoderma* spp. and *Lecanicillium* spp. strains in the control rust (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) in coffee cultivation in Nayarit, Mexico

Roberto Sánchez-Lucio¹✉, Ernesto González-Gaona²✉, J. Saúl Padilla-Ramírez²✉, Miguel Ángel Gallegos-Robles^{1*}✉, Uriel González-Salas¹✉, Rafael Gómez-Jaimes³✉ y Karla Vanessa De Lira-Ramos²✉

¹ Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango CP 35111.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C.E. Pabellón, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes CP 20660.

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C.E. Santiago, Santiago Ix-cuintla, Nayarit, CP 63300.

ABSTRACT

The main coffee disease worldwide is rust by *Hemileia vastatrix*, which causes losses of up to 40% in production. Biological control with antagonistic fungi represents a management option compatible with the environment. *Trichoderma* and *Lecanicillium* strains native to the coffee producing areas of Nayarit were isolated and evaluated under field conditions. In general, *Lecanicillium* strains showed better performance than *Trichoderma* strains, with the exception of strain 39, in protecting coffee leaves against *Hemileia vastatrix* rust, with 80 % effectiveness and reductions in the damage scale at 1 and 2. Therefore, these strains represent a good option for the biological control of *Hemileia vastatrix* in the study area. Besides, if combat measures are not applied, the infestation percentages reach 85 % and the damage levels are 3 and 4, causing severe coffee cultivation production losses.

Keywords: Biological control; Incidence; Severity; *Trichoderma*; *Lecanicillium*

RESUMEN

La principal enfermedad del café a nivel mundial es la roya causada por *Hemileia vastatrix*, que ocasiona pérdidas hasta del 40 % en la producción. El control biológico con hongos antagonistas representa una opción de manejo compatible con el ambiente. Se aislaron y evaluaron en condiciones de campo cepas de *Trichoderma* y *Lecanicillium* nativas de la zona cafetalera de Nayarit. En general las cepas de *Lecanicillium* presentaron mejor desempeño que las de *Trichoderma* con excepción de la cepa 39 en la protección de las hojas de café contra la roya con efectividades del 80 % y reducciones en la escala de daño a 1 y 2. Por lo anterior, estas cepas representan una buena opción en el control biológico de *Hemileia vastatrix*, en el área de estudio. Por otra parte, si no se aplican medidas de combate los porcentajes de infestación llegan al 85 % y los niveles de daño son del 3 y 4, provocando graves pérdidas en la producción del cultivo del café.

Palabras clave: Control biológico; Incidencia; Severidad;

Trichoderma; *Lecanicillium*

INTRODUCCIÓN

En México, el café orgánico (arábica) es altamente demandado y genera hasta 500 mil empleos en 15 entidades federativas con una superficie estimada de 761 mil hectáreas (Torres-Castillo *et al.*, 2020). Los principales estados productores son Chiapas, Veracruz y Oaxaca con una superficie de 253,458; 145,211 y 134,113 ha respectivamente. Otros estados productores importantes son: Puebla, Guerrero, Hidalgo, Nayarit y San Luis Potosí (SIAP, 2020). Según la Organización Internacional del Café (OIC), Brasil, Colombia y Vietnam encabezan la lista como los principales productores a nivel mundial, mientras que México es el onceavo productor mundial (SAGARPA, 2018). El café es considerado como el producto agrícola más importante en el comercio internacional, y una mínima reducción en el rendimiento o un ligero aumento en los costos de producción de este cultivo por efecto de *H. vastatrix*, puede tener un gran impacto en los cafecultores y en los países cuyas economías son totalmente dependientes de las exportaciones del café (Arneson, 2000; Talhinhos *et al.*, 2017).

Actualmente, México es el principal productor de café orgánico del mundo. Sin embargo, ha tenido una lenta recuperación debido a las grandes pérdidas de producción desde 2012 y 2013, años de la "crisis de la roya" ocasionadas por brotes tempranos y altamente agresivos tanto de la broca como de la roya del café (Avelino *et al.*, 2015; Torres-Castillo *et al.*, 2020).

La roya del café *Hemileia vastatrix* Berkeley y Broome (Basidiomycota: Pucciniales), fue descrita en 1869 en África oriental y Ceilán. Desde entonces se ha extendido a las áreas de cultivo de café en todo el mundo. Esta enfermedad ha producido los mayores brotes en Asia, África y América, ocasionando grandes pérdidas de rendimiento, lo que la convierte en la más importante enfermedad del café arábica en huertos comerciales de muchos países tropicales y subtropicales (Talhinhos *et al.*, 2017). En México la roya del

*Autor para correspondencia: Miguel Ángel Gallegos Robles
 correo-e: garoma64@hotmail.com

Recibido: 24 de mayo de 2023

Aceptado: 29 de enero de 2024

Publicado: 19 de febrero de 2024

café se ha reportado en: Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, Hidalgo, Nayarit, San Luis Potosí, Jalisco, Colima, Tabasco, Estado de México, Querétaro, Morelos y Michoacán (SENASICA, 2016).

Su ataque provoca la caída prematura de hojas, propiciando la reducción de la capacidad fotosintética, así como el debilitamiento de árboles atacados, una maduración irregular y reducción de la producción en el siguiente ciclo del 20 %; en infecciones severas puede ocasionar la muerte regresiva de ramas e incluso la muerte de árboles (Chain-Guadarrama *et al.*, 2019; Pilozo *et al.*, 2022).

Para el control de la roya del café la mayoría de los productores realizan la aplicación de fungicidas de síntesis química; sin embargo, esto trae incrementos en los costos de producción, deterioro de los agroecosistemas y baja sustentabilidad a mediano y largo plazo (Arneson, 2000; Johnson *et al.*, 2020; Torres-Castillo *et al.*, 2020). Por otra parte, mediante la producción orgánica es posible producir alimentos de alta calidad, además de conservar y mejorar los recursos naturales. También contribuye al cuidado de la salud de los trabajadores agrícolas y consumidores (Cervantes y Estrada, 2018).

Actualmente, una de las estrategias más sustentables para manejo de la roya del café, es el control biológico con el uso de microorganismos. La utilización de cepas antagonistas del hongo *Trichoderma spp.*, para el control de la roya del café han disminuido la incidencia y severidad de la enfermedad a niveles que no afectan el rendimiento y la calidad de la cereza (Talhinhas *et al.*, 2017; Johnson *et al.*, 2020), ya que las especies de *Trichoderma* son antagonistas sobre patógenos perjudiciales, además de su efecto como hiperparásito que suprime a los microorganismos que generan las enfermedades fitopatógenas (Cubilla *et al.*, 2019).

Lecanicillium lecanii es considerado un hongo hiperparásito de *H. vastatrix* en forma natural (Gómez *et al.*, 2018). Asimismo, González y Surís (2007), reportaron un estudio donde obtuvieron como resultado un alto porcentaje de parasitismo y deformación de las uredosporas del fitopatógeno, por lo que resultó exitoso como herramienta para reducir la incidencia y severidad de *H. vastatrix*. También Vandermeer *et al.* (2009), reportaron la evidencia de hiperparasitismo a *H. vastatrix* por el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii*, a través de un mecanismo ecológico complejo.

El objetivo de este estudio fue seleccionar cepas de los hongos *Trichoderma spp.*, y *Lecanicillium spp.*, presentes en suelo y follaje de huertos de café de las zonas cafetaleras de Nayarit, y evaluar su efectividad biológica en condiciones de campo contra la roya causada por *H. vastatrix*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El estudio se estableció en la localidad "La casa" en el ejido de Cumbres de Huicicila, en el Municipio de Compostela, Nayarit (21° 01' 48" latitud N y 105° 0' 45" longitud W y 860 msnm). La huerta se considera como un sistema productivo rústico tradicional o de montaña (Moguel y Toledo, 1999), con tendencia a orgánico, de temporal, café tipo arábica,

de tres años con Catimor (Caturra X Híbrido Timor) y Típica, con cosecha durante los meses de diciembre a febrero, con reporte de alta incidencia de la roya del café en ciclos anteriores, la vegetación empleada como sombra abarca guamo (*Inga spp.*), cuero de indio (*Bursera simaruba* (L.) Sarg. 1890) tepehuacate (*Lysiloma acapulcense* (Kunth) Benth.), tepezapote (*Ternstroemia tepezapote* Schltldl. & Cham.) y forma parte de la provincia fisiográfica de la Faja Volcánica Transmexicana, con clima cálido subhúmedo con vegetación considerada como selva baja caducifolia y selva perennifolia (INEGI, 2010).

Recolecta de muestras para aislamiento de *Trichoderma* y *Lecanicillium*

Las cepas empleadas en el estudio se aislaron del suelo y follaje de huertos de café de las zonas cafetaleras de Nayarit en los municipios de Tepic, Xalisco, San Blas, Rosamorada, Compostela, Ruíz y Santiago Ixcuintla. Se realizaron recolectas en octubre y noviembre del 2021 de un total de 15 huertos que no han sido perturbados por actividades agrícolas y con abundante vegetación. Las muestras obtenidas fueron de suelo y follaje de cafetos, raíces de gramíneas, raíces adventicias y hojas de árboles silvestres. En el caso de las muestras de suelo, éstas se tomaron debajo de la copa de tres árboles por huerto, así mismo se quitó la hojarasca superficial y se obtuvo 1.0 kg de muestra compuesta de los primeros 30 cm de profundidad de suelo, mientras que del follaje de los mismos árboles se consideraron 10 hojas por planta. En el caso de las raíces adventicias se cortaron pedazos de raíz de seis árboles por huerto diferentes a los seleccionados para muestras de suelo. Posteriormente las muestras se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Santiago Ixcuintla, del INIFAP-Nayarit para su almacenamiento y procesamiento.

Aislamiento y selección de cepas

Las cepas de *Trichoderma* y *Lecanicillium* se aislaron a partir de muestras de suelo mediante la técnica de diluciones seriadas (proporción de 1.0 gramo de suelo por 9.0 mL de agua estéril, respectivamente). Estas muestras se sembraron en cajas Petri de 9.0 cm de diámetro, utilizando medio de cultivo PDA. Posteriormente, se realizaron resiembras sucesivas hasta obtener cultivos puros, de los cuales se obtuvieron cepas monospóricas, siguiendo la metodología descrita por Gilchrist-Saavedra *et al.* (2005). En el caso del follaje y las raíces adventicias, se realizaron raspados del tejido vegetal donde se observaba crecimiento micelial, y se sembraron por estriado en el medio utilizando un asa bacteriológica. Posteriormente, se llevó a cabo la identificación morfológica de las cepas de *Trichoderma spp.*, siguiendo la guía taxonómica de Siddiquee (2017), donde se consideraron características macroscópicas como la forma y disposición de conidios y conidióforos, filídes y clamidosporas, así como la textura del micelio, la formación de anillos concéntricos y la pigmentación de los conidios. En cuanto a las cepas de *Lecanicillium spp.*, su identificación se basó en claves taxonómicas tanto generales como específicas (Humber, 1997; Zare y Gams, 2004).

De las cepas aisladas, tanto del suelo como de follaje y raíces adventicias, se determinó su capacidad de crecimiento radial y velocidad de esporulación. Se seleccionaron aquellas que mostraron el crecimiento más rápido y una mayor rapidez en la esporulación. Se obtuvieron 12 cepas de *Trichoderma* (1, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 25, 27, 28, 31, 39) y tres de *Lecanicillium* (1, 3 y 4) (Tabla 1). Para su evaluación en campo las cepas se incrementaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Se realizó un conteo del número de esporas mediante un hematocímetro para obtener una concentración de 1.0×10^8 esporas por mL. Los tratamientos (cepas) se aplicaron con mochila Swissmex de 15 L, con boquilla de cono para insecticidas. A todos los tratamientos se les adicionó adherente Inex® a dosis de 1.0 ml/L de agua más 10 mL de Tween 20® para provocar la emulsión, en total se realizaron cinco aplicaciones con intervalo cada siete días.

Pruebas en fase de campo para el control de roya

Se realizaron de septiembre de 2021 a enero de 2022, en un diseño en bloques completos al azar con 16 tratamientos (15 cepas más un testigo absoluto) y 20 repeticiones por tratamiento, considerando un árbol como unidad experimental. En cada unidad experimental se marcó la hoja central de la rama donde se determinó la incidencia en la rama y la severidad de la enfermedad en dicha hoja.

Para la incidencia se contaron las hojas presentes en la rama seleccionada y las hojas con daño y se determinó el porcentaje de hojas dañadas (SENASA, 2013; Julca *et al.*, 2019). Mientras que para la severidad se recolectó la hoja marcada y se determinó el grado de daño acorde a la escala de Eske, 1983 (Figura 1); la cual considera los siguientes niveles: 0 = sano, 1 = leve, 2 = moderada, 3 = alta y 4 = muy alta. Donde el nivel 1, es cuando existen pústulas en 1 - 5 % de la superficie

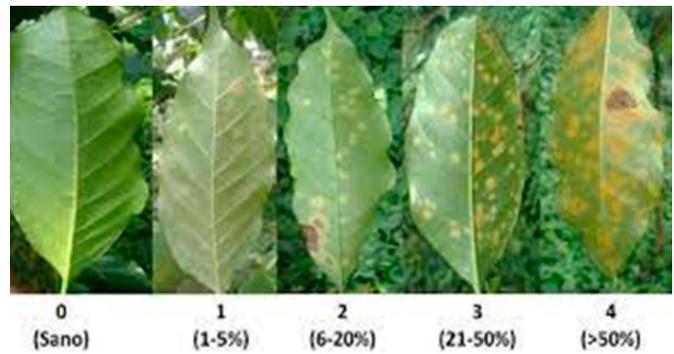


Figura 1. Escala para determinar la severidad del daño por roya en hojas de café.

Figure 1. Scale to determine the severity of rust damage in coffee leaves.

de la hoja, nivel 2 se presentan pústulas en 6 - 20 % de la superficie de la hoja, nivel 3 se observan pústulas en el 21 - 50 % de la superficie de la hoja y el nivel 4 cuando hay > 50 % de la superficie de la hoja afectada. Los datos obtenidos se transformaron a media ponderada de la infección (Townsend y Heuberger, 1943) mediante la siguiente fórmula:

$$PI = \frac{\sum(n \cdot v)}{CM \cdot N} \cdot 100$$

Donde: PI= media ponderada de infección, n = número de hojas por cada clase en la escala, v = valor numérico de cada clase, CM= categoría mayor, N = número total de hojas en la muestra. Para su análisis, los datos se transformaron a raíz cuadrada de X+0.5 para disminuir la varianza y se analizaron mediante el paquete estadístico SAS ver 9.2 (SAS, 2010) y las diferencias entre medias se compararon mediante Tukey al 0.05 %. Para determinar la efectividad biológica de los tratamientos, se aplicó la fórmula de Abbott (1987):

Table 1. Collection sites of coffee rust antagonists in Nayarit.
Tabla 1. Sitios de recolecta de antagonistas de la roya del café en Nayarit.

Localidad	Municipio	Latitud	Longitud	Altitud	Antagonista/Cepa	Origen*
El Sombrero	Ruiz	22°04'52"	104°52'07"	930	<i>Trichoderma spp.</i> 13	R. adv.
Banco Colorado	Ruiz	22°04'50"	104°52'19"	840	<i>Trichoderma spp.</i> 27	R. adv.
El Guajolote	Ruiz	22°04'51"	104°52'33"	810	<i>Trichoderma spp.</i> 4	R. adv.
Las Carboneras	Compostela	21°01'48"	105°00'45"	860	<i>Trichoderma spp.</i> 11	R. adv.
La Barranca	Compostela	21°19'33"	105°01'45"	920	<i>Lecanicillium spp.</i> 3	Follaje
La Mataiza	Compostela	21°17'38"	105°00'24"	930	<i>Trichoderma spp.</i> 1	R. adv.
Los Planteles	Compostela	21°18'47"	105°00'45"	870	<i>Trichoderma spp.</i> 15	R. adv.
El Guayabo	Compostela	21°17'43"	105°02'12"	940	<i>Lecanicillium spp.</i> 1	Follaje
Analco	Santiago Ixcuintla	21°52'05"	104°58'02"	475	<i>Trichoderma spp.</i> 25	Raíz
Las Iguanas	Santiago Ixcuintla	21°52'08"	104°57'59"	468	<i>Trichoderma spp.</i> 28	Raíz
Las Víboras	Santiago Ixcuintla	21°52'03"	104°57'46"	491	<i>Trichoderma spp.</i> 39	Suelo
Los Cerritos	Santiago Ixcuintla	21°52'42"	104°57'28"	483	<i>Trichoderma spp.</i> 6	Raíz
El Terruño	Santiago Ixcuintla	21°52'06"	104°57'38"	466	<i>Trichoderma spp.</i> 9	Suelo
La Guamera	Xalisco	21°23'43"	105°00'34"	1020	<i>Lecanicillium spp.</i> 4	Follaje
Malinal Viejo	Xalisco	21°22'56"	105°00'22"	1020	<i>Trichoderma spp.</i> 31	Suelo

* origen del aislamiento: suelo, follaje, raíz adventicia

Tabla 2. Incidencia de la roya del café bajo tratamientos de control biológico con cepas de *Trichoderma spp.* y *Lecanicillium spp.* en Compostela, Nayarit.

Table 2. Incidence of coffee rust under biological control treatments with *Trichoderma spp.* and *Lecanicillium spp.* strains in Compostela, Nayarit.

Tratamiento (Cepa)	Incidencia (%)
Testigo sin tratamiento	4.8* a
<i>Trichoderma spp.</i> 13	3.4 b
<i>Trichoderma spp.</i> 11	2.4 bc
<i>Trichoderma spp.</i> 06	2.2 bc
<i>Trichoderma spp.</i> 01	2.1 bc
<i>Trichoderma spp.</i> 09	2.05 bc
<i>Trichoderma spp.</i> 15	2.04 bcd
<i>Trichoderma spp.</i> 04	2.0 bcd
<i>Trichoderma spp.</i> 31	1.8 bcd
<i>Trichoderma spp.</i> 25	1.75 bcd
<i>Trichoderma spp.</i> 28	1.7 bcd
<i>Trichoderma spp.</i> 27	1.6 bcd
<i>Lecanicillium spp.</i> 04	1.53 cd
<i>Lecanicillium spp.</i> 03	1.0 cd
<i>Trichoderma spp.</i> 39	0.99 d
<i>Lecanicillium spp.</i> 01	0.92 d

$$\%E = [IT - It / IT] * 100$$

Donde: % E = porcentaje de efectividad, IT = infección en el testigo, It = infección en el tratamiento.

Antes de la aplicación de los tratamientos, donde se detectó una infestación inicial de la enfermedad se realizó un blanqueo, el cual consistió eliminar todas las hojas dañadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia

Todos los tratamientos de control biológico fueron estadísticamente diferentes con respecto al testigo, siendo este último el que mostró la mayor incidencia de roya (Tabla 2). En términos generales, los tratamientos basados en *Lecanicillium* exhibieron una menor incidencia de roya en comparación con los tratamientos de *Trichoderma*, con la excepción de la cepa 39. La cepa de *Trichoderma* con un rendimiento inferior fue la cepa 13, aunque no difirió significativamente de la mayoría de las cepas de *Trichoderma* evaluadas. En cuanto a esta variable, se observó la menor incidencia de roya en los tratamientos con *Trichoderma* 39 y *Lecanicillium* 1. El grado de parasitismo generado por estos dos organismos contra *H. vastatrix* también fue reportado por Halpay *et al.* (2020) en condiciones de laboratorio.

Severidad y porcentaje de infestación

En relación con la severidad de la roya en las hojas bajo tratamiento de control biológico (Tablas 3 y 4), se observó que todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al testigo. Las cepas que exhibieron un menor grado de severidad de daño fueron *Trichoderma* 39 (valor de 1.04), *Lecanicillium* 1 (valor de 1.24), *Lecanicillium* 3 (valor de 1.25)

Tabla 3. Severidad de la roya del café, porcentaje de infestación (PI) y efectividad biológica (EB) bajo tratamiento de control biológico con cepas de *Trichoderma spp.* y *Lecanicillium spp.* en Compostela, Nayarit.

Table 3. Coffee rust severity, infestation percentage (PI) and biological effectiveness (EB) under biological control treatment with *Trichoderma spp.* and *Lecanicillium spp.* strains in Compostela, Nayarit.

Tratamiento	Severidad	PI	EB
Testigo sin tratamiento	3.31 a	85	
<i>Trichoderma spp.</i> 11	1.92 b	28.75	66.17
<i>Trichoderma spp.</i> 13	1.85 bc	36.25	57.35
<i>Trichoderma spp.</i> 09	1.71 bc	25.0	70.58
<i>Trichoderma spp.</i> 06	1.68 bc	26.25	69.11
<i>Trichoderma spp.</i> 15	1.65 bc	25.0	70.58
<i>Trichoderma spp.</i> 28	1.62 bcd	20.0	76.47
<i>Trichoderma spp.</i> 04	1.60 bcde	23.75	72.05
<i>Trichoderma spp.</i> 25	1.56 bcde	21.25	75.0
<i>Trichoderma spp.</i> 27	1.50 bcde	17.5	79.41
<i>Trichoderma spp.</i> 01	1.49 bcde	25.0	70.58
<i>Trichoderma spp.</i> 31	1.32 cde	22.5	73.52
<i>Lecanicillium spp.</i> 04	1.29 cde	15.0	82.35
<i>Lecanicillium spp.</i> 03	1.25 de	15.0	82.35
<i>Lecanicillium spp.</i> 01	1.24 de	10.0	88.23
<i>Trichoderma spp.</i> 39	1.04 e	13.75	83.82

*Niveles en la escala de incidencia 1 = leve, 2 = moderada, 3 = alta y 4 = muy alta.

Tabla 4. Nivel de daño por la roya del café bajo tratamiento de control biológico con cepas de *Trichoderma spp.* y *Lecanicillium spp.* en Compostela, Nayarit.

Table 4. Coffee rust damage level under biological control treatment with *Trichoderma spp.* and *Lecanicillium spp.* strains in Compostela, Nayarit.

Tratamiento	Nivel de daño*				
	0	1	2	3	4
Testigo sin tratamiento	0	0	0	12	8
<i>Trichoderma spp.</i> 11	2	13	5	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 13	0	11	9	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 09	3	14	3	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 06	3	13	4	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 15	4	12	4	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 28	4	16	0	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 04	5	11	4	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 25	5	13	2	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 27	5	14	1	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 01	2	16	2	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 31	6	10	4	0	0
<i>Lecanicillium spp.</i> 04	8	12	0	0	0
<i>Lecanicillium spp.</i> 03	9	10	1	0	0
<i>Lecanicillium spp.</i> 01	12	8	0	0	0
<i>Trichoderma spp.</i> 39	9	11	0	0	0

*Escala de Eske, 1983 para evaluación de daño por roya del café. Niveles en la escala de incidencia 0 = sano 1 = leve, 2 = moderada, 3 = alta y 4 = muy alta.

por *Lecanicillium* 4 (valor de 1.29). Estos niveles de severidad encontrados en la presente investigación son comparables a los reportados por Alomía-Lucero y Cosigna-Eslava (2021), quienes registraron valores de severidad de daño de 0.93 con el uso de *Lecanicillium* y 1.27 con *Trichoderma*. Por otro lado, las cepas de *Trichoderma* 11 y 13 mostraron un rendimiento inferior, aunque no difirieron estadísticamente de las cepas 9, 6, 15, 28, 4, 25, 27 y 1. Las cepas de mejor desempeño fueron *Trichoderma* 39 y 31, así como *Lecanicillium* 1, 3 y 4.

Los valores de infestación (PI) variaron del 10 al 36.25 % en los tratamientos con control biológico, mientras que en el testigo fue del 85 %, los de menor PI fueron los tratamientos con *Lecanicillium* y *Trichoderma* 39 con PI del 10 - 15 %, estos resultados son inferiores a los obtenidos por Alomía-Lucero y Cosigna-Eslava (2021), quienes reportaron valores de 35 a 36.47 % de infestación utilizando la combinación de *Trichoderma* y *Lecanicillium*. En general los tratamientos con control biológico presentaron un 70 % de efectividad con excepción de la cepa 13 de *Trichoderma*. Los mejores tratamientos fueron las tres cepas de *Lecanicillium* y la cepa *Trichoderma* 39 con 80 % de efectividad. Gómez-De la Cruz *et al.* (2017) reportan que *Lecanicillium* spp., presentó un nivel de control de 68.10 %, a las 120 horas posteriores a la inoculación con roya del café. Estos datos son inferiores a los encontrados en esta investigación. Arriola *et al.* (1998) mencionaron que el porcentaje de parasitismo de *Lecanicillium* sp., varía entre especies y aislamientos.

Al aplicar los tratamientos de control biológico con *Trichoderma* y *Lecanicillium*, los niveles de daño en las hojas (ver Tabla 4) se sitúan predominantemente en las categorías 1 y 2, mientras que en ausencia de control, los niveles de daño alcanzan las categorías 3 y 4, como se observa en el testigo. Este fenómeno se atribuye a la capacidad del *Trichoderma* como hongo micoparásito, el cual ataca, penetra y elimina al hongo *H. vastatrix* (Vidal-Martínez *et al.*, 2021). León *et al.* (2019) corroboraron que *Trichoderma* genera un 100% de micoparasitismo, gracias a los metabolitos que inhiben el crecimiento micelial de *H. vastatrix*, promoviendo así la obtención de niveles bajos de daño. De manera similar, Díaz-Vicente *et al.* (2014) señalan que *Lecanicillium lecanii* ha sido identificado como micoparásito de *H. vastatrix*.

El nivel de parasitismo inducido por los dos organismos (*Trichoderma* y *Lecanicillium*) sobre *H. vastatrix* fue también documentado por Halpay *et al.* (2020) en condiciones de laboratorio. Los grados de severidad identificados en este trabajo de investigación son consistentes con los informados por Alomía-Lucero y Cosigna-Eslava (2021), quienes señalan valores de severidad de daño de 0.93 y 1.27 para *Lecanicillium* y *Trichoderma*, respectivamente.

El hongo antagonista *Trichoderma* spp., se ha utilizado como agente de control biológico para combatir enfermedades de plantas causadas por hongos fitopatógenos. Este hongo afecta el desarrollo de los fitopatógenos al competir por recursos, producir antibiosis, alimentarse de ellos mediante enzimas líticas y micoparasitismo (Fravel, 1988; Ghisalberti y Sivacithamparam, 1991; López-Ferrer

et al., 2017). Además, se ha reportado que *Trichoderma* induce mecanismos de resistencia al producir fitoalexinas, flavonoides y derivados fenólicos (Vinale *et al.*, 2010; Mukerjee *et al.*, 2013) y promueve el crecimiento vegetal mediante la producción de sideróforos que facilitan la absorción de nutrientes y fitohormonas (Castro y Revillas, 2005; Ortuño *et al.*, 2013; Candelero *et al.*, 2015). Estos mecanismos favorecen el control de hongos fitopatógenos (Jensen y Wolffhechel, 1995; Martínez *et al.*, 2013; Candelero *et al.*, 2015). La combinación de estas estrategias muestra efectos sinérgicos, lo cual es especialmente importante en condiciones de campo. En este experimento, se observó que la aplicación en campo con algunas de las cepas de *Trichoderma* aisladas logró disminuir la incidencia y severidad de *H. vastatrix*, lo cual contribuyó a la reducción del daño por roya en hojas de café. Además, se ha reportado la actividad antagonista *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. hacia hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata*, con porcentajes de inhibición superiores al 60 %. Por lo tanto, *Trichoderma* representa una alternativa para el control biológico de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos (Rubio-Tinajero *et al.*, 2021; Savin-Molina *et al.*, 2021). En general, el desempeño de una cepa de *Trichoderma* en el campo es el resultado de diferentes estrategias, como la competencia, la antibiosis y el micoparasitismo, que influyen en su capacidad para controlar los fitopatógenos. Por lo tanto, el uso de consorcios de cepas puede ser una buena opción para potenciar el efecto de cada una de ellas (Pérez *et al.* 2015).

Lecanicillium spp., el segundo hongo antagonista que se evaluó en este experimento, se ha utilizado como agente de control biológico en regiones tropicales. Sin embargo, es necesario considerar el efecto de factores abióticos como la humedad relativa (HR) y la temperatura para seleccionar cepas con mayor potencial como agentes microbianos fúngicos (Kamney, 2008). Alavo y Accodji (2004) informaron que la eficacia de *L. lecanii* es mayor en condiciones de alta humedad relativa, lo que puede limitar su eficacia, especialmente en condiciones de campo con ambientes secos o de baja HR. Por otro lado, Ayala-Zermeño *et al.* (2020) estudiaron el efecto de diferentes temperaturas en el crecimiento de cultivos polispóricos, monospóricos y cepas de referencia de *Lecanicillium lecanii*, observando que todos los hongos estudiados presentaron la mayor tasa de crecimiento a 25 °C y ninguno creció a 35 °C, lo cual sugirió que este micoparásito es más tolerante a temperaturas más frescas, ya que encontraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento de los cultivos polispóricos, monospóricos y cepas de referencia a 15, 25 y 30 °C, lo que indicó la variabilidad intraespecífica del hongo. Para el caso de este experimento, se determinó que las cepas de *Lecanicillium* disminuyeron de manera significativa la incidencia y severidad de *H. vastatrix*, estos efectos probablemente pudieron estar asociado a las temperaturas que prevalecieron en el periodo que se realizaron las aplicaciones del hongo (diciembre y

enero), donde la temperatura máxima promedio fue de 29 °C en ambos meses, y la temperatura mínima promedio fue de 17 °C en diciembre y de 15 °C en enero (CONAGUA, 2024). En cuanto al control natural de la roya del café por *L. lecanii*, se ha mencionado la existencia de un mecanismo ecológico complejo que implica el mutualismo entre una hormiga (*Azteca instabilis*) y una escama (*Coccus viridis*). En este contexto, se observó que a medida que aumentaba la población de insectos, disminuía la incidencia de la roya y viceversa. La conclusión obtenida fue que, además de las condiciones ambientales, el mutualismo con insectos y otros hongos desempeñan un papel crucial en la densidad general de esporas de *L. lecanii*, favoreciendo así su presencia constante en el entorno (Cortez-Madrigal *et al.*, 2003; Vandermeer *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

La utilización de hongos antagonistas, en particular *Trichoderma* y *Lecanicillium*, podría ser una estrategia prometedora para el manejo ecológico de la roya del café. *Trichoderma*, al desplegar diversas estrategias como la competencia, antibiosis y micoparasitismo, mostró ser una alternativa valiosa con efectos sinérgicos destacados en condiciones de campo. Por otro lado, *Lecanicillium*, destacó por su potencial como agente de control biológico contra la roya, aunque se enfatiza la necesidad de tomar en cuenta los factores abióticos, como la humedad relativa y la temperatura, para optimizar su eficacia y adaptar su aplicación a las condiciones específicas del entorno. La combinación de *Trichoderma* y *Lecanicillium*, podrían ofrecer una estrategia eficaz y respetuosa con el medio ambiente para disminuir la incidencia y severidad de la enfermedad, lo que significaría beneficios notables tanto en el ámbito agronómico como ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad Juárez del Estado de Durango por permitirme realizar el trabajo de investigación y al CONAHCYT por el apoyo económico de la beca. Al INIFAP, Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit, e INIFAP, Campo Experimental Pabellón de Arteaga, Aguascalientes. Por permitirme utilizar las instalaciones y equipo, para el aislamiento, identificación y cultivo de los hongos antagonistas.

CONFLICTOS DE INTERES

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS

Abbott, W.S. 1987. Classic Paper: Abbott's Formula. A Method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal American Mosquito Control Association. 3(2): 302-303. DOI: 10.1146/annurev.en.39.010194.000323

- Alavo, T.B.C. y Accodji, M. 2004. The entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Deuteromycetes, Moniliaceae). The proteins hydrophobins and the biological control of aphids (Homoptera, Aphididae): Literature review. Archives of Phytopathology and Plant Protection 37: 201-204. Doi.org/10.1080/03235400842000202210
- Alomía, L.J.M. y Cosinga, E. R. 2021. Hiperparasitismo y antagonismo de *Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome en cafetales de Satipo-Perú. Revista Investigación Agraria. 3(2): 49-62. Doi.org/10.47840/RelnA.3.2.1116
- Arneson, P.A. 2000. Coffee rust. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0718-02.
- Arriola, M.C., Chet, I. y 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>
- Avelino, J., Cristancho, M., Georgiou, S., Imbach, P., Aguilar, L., Bornemann, G., Laderach, P., Anzueto, F., Hruska, A. y Morales, C. 2015. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): Impacts, plausible causes and propose solutions. Food Security 7(2): 302-321. Doi: 10.1007/s12571-015-0446-9.
- Ayala-Zermeño M.A., Mier T., Sánchez R.J. y Toriello C. 2020. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. 2005. Revista Mexicana de Micología. 20:96-97. <https://www.redalyc.org/pdf/883/88302014.pdf>
- Castro, A.M. y Revillas, C.A. 2005. Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. Boletín CENICAFÉ. Avance técnico No. 336. <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0336.pdf>
- Cervantes, E. y Estrada, E. 2018. Socialización de conocimientos del café orgánico en el contexto de espacios colectivos de grupos localizados de parentesco tseltales, Tenejapa, Chiapas. Revista de El Colegio de San Luis. 8(15): 47-75. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-899X2018000100047&script=sci_abstract
- Chain, G.A., Martínez, R.M., Cárdenas, J.M., Vilchez, M.S. y Harvey, C.A. 2019. Uso de prácticas de adaptación basada en ecosistemas por pequeños cafetaleros en Centroamérica. Agronomía Mesoamericana 30(1): 1-18. Doi.org/10.15517/am.v30i1.32615
- Cortez-Madrigal, H., Alatorre-Rosas, R., Mora-Aguilera, G., Bravo-Mojica, H., Ortiz-García, C.F., Aceves-Navarro, L.A. 2003. Caracterización de aislados multispóricos y monospóricos de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* para el manejo de *Toxoptera aurantii* en cacao. BioControl 48, 321-334.
- Cubilla, A., Ruiz, D., Romero, M., Flores, M. y Barúa, J. 2019. Antibiosis de proteínas y metabolitos en especies de *Trichoderma* contra aislamientos paraguayos de *Macrophomina phaseolina*. Agronomía Mesoamericana 30(1): 63-77. Doi.org/10.15517/am.v30i1.34423
- Díaz, V.V.M., Pérez, Q.J.N., Pinson, R.E.P., Magallanes, C.R., De Coss, F.M.E. y Cabrera, A.M. E. 2014. Producción de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.) AgroProductividad. 7(3): 29-33. File:///C:/Users/Windows10/Downloads/valeria_sias,+Journal+editor,+con-4%20(2).pdf
- Díaz-Vicente, V.M., Pinzón-Rincón, E.P., Pérez-Quintanilla, J.N., Cabrera-Alvarado, M.E., Magallanes-Cedeño, R., y De Coss-Flores, M.E. 2014. El hongo *Verticillium hemileiae* Bouriquet,

- alternativa para el control de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.). AgroProductividad año 7 vol 7(3):58-62. Disponible en *Agroproductividad* III 2014.pdf (colpos.mx)
- Eskes, A.B. 1983. Assesment methods for resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix* Berk. Br.) In: Eskes, A. B. Incomplete resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) Ph. D. dissertation. Wageningen (Holanda). Institute of Plant Breeding of the Agricultural University. P 4-14. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF19830873623>
- Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 26: 75-91. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.26.090188.000451>.
- Gilchrist, S.L., Fuentes, D.G., Martínez, C.C., López, A.R.M., Duveiller, E., Singh, R.P., Henry, M. y García, I.A. 2005 Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D. F. CIMMYT. 68 pp. <http://hdl.handle.net/10883/1272>
- Gómez, I., Pérez, E., Escamilla, E., Martínez, M., Carrión, G. y Hernández, T. 2018. Selección *in vitro* de micoparásitos con potencial de control biológico sobre roya del café (*Hemileia vastatrix*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1): 172-183. [Doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1708-1](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1708-1)
- González, E., y Surís, M. 2007. Selección *in vitro* de aislamientos promisorios de *Lecanicillium lecanii* (Zare y Gams) para la lucha biológica de *Hemileia vastatrix* (Berk. Et Br.). *Protección Vegetal*, 22(2): 128-130. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522007000200010
- Gómez, D.I., Pérez, E.P. y Escamilla, P.E. 2017. Selection *in vitro* of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*). *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 172-183. [Doi.org/10.18781/r.mex.fit.1708-1](https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1708-1)
- Halpay, M., Silverio, L., Mateo, A., Pimentel, A. y Cueto, J. 2020. Evaluación *in vitro* de micoparásitos con potencial de control sobre la enfermedad Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*) en la provincia San Juan, República Dominicana. *Revista Agropecuaria y Forestal*. 9(2): 17-24. <http://sodiaf.org.do/apf/index.php/apf/article/view/120/104>.
- Humber, R.A. 1997. Fungi: identification. In: Lacey L (ed) *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, San Diego, California, pp 153-185.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), Censo de población y vivienda, 2010. [Consultado 27 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2010/>
- Jensen, D.F. y Wolffechele, H. 1995. Biological Control: Benefits and Risks. (Series: Plant and microbial biotechnology research. In: The use of fungi, particularly *Trichoderma* spp. and *Gliocladium* spp., to control root and damping-off diseases. M. T. H., Heikki and J. M. Lynch (Eds), pp 177-189. Cambridge: Cambridge University Press. <https://www.nhbs.com/biological-control-benefits-and-risks-book>
- Johnson, M.A. y Manoukis, N.C. 2020. Abundance of coffee berry borer in feral, abandoned and managed coffee on Hawaii island. *Journal Applied Entomology*. 144(10): 920-928. [Doi.org/10.1111/jen.12804](https://doi.org/10.1111/jen.12804)
- Julca Otiniano, A., Borjas Ventura, R., Alvarado Huamán, L., Julca Vera, N., Castro Cepero, V. y Bello Amez, S. 2019. Relación entre la incidencia y la severidad de la roya del café (*Hemileia vastatrix*) en San Ramón, Chanchamayo, Perú. *Revista Ciencia e Investigación* vol4 (4): 1-9. Disponible en <https://doi.org/10.5281/zenodo.3477556>
- Kamnev, A.A. 2008. FTIR spectroscopic studies of bacterial cellular responses to environmental factors, plant-bacterial interactions and signalling. *Journal of Spectroscopy* 22:83-95. <http://dx.doi.org/10.3233/SPE-2008-0329>
- León, B., Arévalo, E. y Sophie, A. 2019. Sudden death of *Theobroma cacao* L. caused by *Verticillium dahliae* Kleb. in Peru and its *in vitro* biocontrol. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 20(1): 133-148. [Doi.org/10.21930/rcta.vol20_num1_art:1251](https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num1_art:1251).
- Mahfund, M.C., Mior, A.Z., Meon, S. y 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>.
- Moguel, P. y Toledo, V.M. 1999. Biodiversity conservation in traditional coffee systems of Mexico. *Conservation Biology*. 13(1): 11-21. [Doi: 10.1046/j.1523-1739.1999.97153.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.97153.x)
- Pérez, L., Belmonte, J.R., Núñez, H.G., Guzmán, R. y Mendoza, B. 2015. Sensibilidad *in vitro* de dos especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum* a agentes de control biológico y fungicidas. *Rev. Mex. Fitopatol.* 33(2):256-267.
- Pilozo, M.W., Indacochea, B.G., Castro, A.L., Vera, T. y Ortega, J.G. 2022. Principales enfermedades causantes de la pérdida de rendimientos de los cultivos de café arábigo (*Coffea arabica* L.) en la zona sur de Manabí, Ecuador. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador. UNESUM- Ciencias. *Revista Científica Multidisciplinaria*. 6(2): 117-134. [Doi:10.47230/unsum-ciencias.v6.n2.2022.632](https://doi.org/10.47230/unsum-ciencias.v6.n2.2022.632).
- SAGARPA. Reporte: El café en México, diagnóstico y perspectiva. Cámara de Diputados. México. 2018. [Consultado el 27 de abril de 2022]. Disponible en: <http://www.cedrssa.gob.mx/files/10/30E1%20caf%20C3%A9%20en%20M%20C3%A9xico:%20diagn%20C3%B3stico%20y%20perspectiva.pdf>.
- SAS Institute. 2010. Language and procedures. Release 9.2. SAS Institute. Cary, North Caroline, USA. <https://www.gob.mx/asiap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- SENASICA. Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome). Dirección General de Sanidad Vegetal. Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica No. 40. 23 p. Ficha Técnica de Roya del cafeto. pdf (senasica.gob.mx). 2016. [Consultado 27 de abril de 2023]. Disponible en: <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Roya%20cafeto/Fichas%20tecnicas/Ficha%20T%20C3%A9cnica%20de%20Roya%20del%20cafeto.pdf>
- SENASA. 2013. Norma para la ejecución y remisión de actividades del programa manejo integrado de plagas de cafeto. Disponible en: https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/SUB_DIR_CONTEP/1222.pdf
- SIAP. Subsistema de Información Agrícola. Información de cultivos 2019-2020. [Consultado 14 de enero de 2021] 2020. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Siddiquee, S. 2017. Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of *Trichoderma* Species from Tropical Regions. 10.1007/978-3-319-64946-7.
- Thalinhas, P., Batista, D., Diniz, I., Vieira, A., Silva, D., Loureiro, A., Tavares, S., Pereira, A. P., Azinheira, H. G., Guerra, G.L., Vársea, V. y Silva, M. C. 2017. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia*

- vastatrix*: one and half centuries around the tropics. *Molecular Plant Pathology*. 18(8): 1039-1051. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=EAipXUIAAAAJ&citation_for_view=EAipXUIAAAAJ:isC4tDSrTZIC
- Torres, C.N.E., Melchor, M.E.M., Ochoa, S.J.S., Ramírez, M.R.A., Parra, S.R. e Iqbal, H.M.N. 2020. Impact of climate change and early development of coffee rust-An overview of control strategies to preserve organic cultivars in Mexico. *Science of The Total Environment*. 738(140225): 1-49. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140225>.
- Townsend, G.R. y Heuberger, J.W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*. 27: 340-343. [https://www.scrip.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qIt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencID=725513](https://www.scrip.org/(S(i43dyn45teexjx455qIt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencID=725513)
- Vandermeer, J., Perfecto, I. y Liere, H. 2009. Evidence for hyperparasitism of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) by the entomogenous fungus, *Lecanicillium lecanii*, through a complex ecological web. *Plant Pathology*. 58(1): 636-641. [Doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02067.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02067.x)
- Vidal, M.N.A., Argumedo, D.R., Sánchez, P.J.R., Chiquito, C.R.G., González, M.D. y Sánchez, V.G. 2021. Microorganismos antagonistas: una alternativa para el control biológico de enfermedades fúngicas presentes en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*. 117(3): 214-226. <https://doi.org/10.12706/itea.2020.042>
- Zare, R, y Gams, W. 2004. A monograph of *Verticillium* section *Prostata*. *Rostaniha* 3:1-188. Disponible en: https://rostaniha.areeo.ac.ir/issue_10457_10680.html