

ALGUNOS ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Cercospora coffeicola*

Homero Gonzalo Rengifo-Guzmán*; Jairo Eduardo Leguizamón-Caycedo**;
Néstor Miguel Riaño-Herrera***

RESUMEN

RENGIFO G., H. G.; LEGUIZAMÓN C., J. E.; RIAÑO H., N. M. Algunos aspectos biológicos de *Cercospora coffeicola* Cenicafé 53(3): 169-177. 2002.

La mancha de hierro ataca hojas y frutos del cafeto con alta incidencia y severidad en la zona cafetera del país, especialmente en cultivos establecidos a plena exposición solar y con deficiencia de nutrientes. La dificultad para lograr el aislamiento, crecimiento y esporulación del hongo causante, en medio sintético, ha sido una de las mayores limitaciones para realizar los estudios biológicos. Con el fin de obtener información en algunos aspectos biológicos se hizo una recolección de hojas infectadas naturalmente en Cenicafé (La Granja), en la Estación Central Naranjal y en las subestaciones experimentales de Supía (Caldas), Maracay (Quindío) y Sasaima (Cundinamarca). Las muestras se desinfectaron con agua destilada estéril (ADE), hipoclorito de sodio o etanol. El hongo se cultivó en dos medios sintéticos, Jugo V-8 modificado (V8) y extracto de hojas de café, avena, agar (CAA). A cada aislamiento se le midió la tasa media de crecimiento radial, la esporulación y la patogenicidad. El aislamiento con ADE dio mejor respuesta. Por su apariencia fenotípica se codificaron siete aislamientos del patógeno (Cc9901 a Cc9907). La tasa media de crecimiento radial no presentó diferencias estadísticas ($p=0,05$) para los medios de cultivo; sin embargo, con el medio CAA se obtuvo la mayor esporulación. Se observó variabilidad entre los aislamientos respecto a la patogenicidad.

Palabras claves: *Cercospora coffeicola*, aislamientos, biología, patogenicidad.

ABSTRACT

The iron spot disease attacks coffee leaves and fruits with high incidence and severity in the Colombian coffee zone, especially in crops directly exposed to solar radiation and low nutrients supply. The difficulty to achieve isolation, growth and fungus sporulation in a synthetic media has been one of the greatest limitations to carry out the biologic studies. In order to obtain information on the matter, a collection of naturally infected leaves was made at Cenicafé (La Granja), in the Central Station Naranjal and in the experimental sub-stations in Supía (Caldas), Maracay (Quindío) and Sasaima (Cundinamarca). The samples were disinfested with sterile distilled water SDW, sodium hypochlorite or ethanol. The fungus was cultured in two synthetic media, modified juice V8 and coffee leaves extract, oats, agar (CAA). In each isolation the average rate of radial growth, sporulation and pathogenicity conditions were measured. The isolation with SDW displayed a better answer. Seven isolations of the pathogen were codified according to their physical appearance (Cc9901 a Cc9907). The average rate of radial growth did not exhibit statistical differences ($p=0.05$) for the culture media, nonetheless, with CAA media the highest sporulation was obtained. Variability among the isolations with respect to pathogenicity was observed.

Keywords: *Cercospora coffeicola*, isolations, biology, pathogenicity.

* Becario, Colciencias.

** Investigador Principal I. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia, hasta mayo de 2000.

*** Investigador Científico II. Fisiología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

El hongo *Cercospora coffeicola* agente causante de la enfermedad conocida como mancha de hierro ataca hojas y frutos del cafeto con amplia incidencia y severidad en la zona cafetera del país, especialmente en cultivos establecidos a plena exposición solar y pobres en nutrientes (5, 6, 9, 10).

La enfermedad se caracteriza por la presencia en hojas y frutos de manchas anfígenas generalmente circulares, aunque también pueden ser de forma irregular, de color pardo claro a marrón rojizo, que pueden tener entre 1 y 3mm hasta 1cm de diámetro. Las manchas pueden estar rodeadas de un halo de color amarillo que se pierde difusamente sobre el tejido verde. En su gran mayoría, y sobre la parte central, se presenta un color blanquecino rodeado de un anillo rojizo (1, 5, 6, 7, 9, 10).

El hongo *C. coffeicola* tiene micelio septado, conidióforos oscuros, rectos, flexuosos, fasciculados, sinuosos y dentados. Los conidióforos se desprenden y son llevados por el viento a grandes distancias (1, 5, 6). Las esporas son individuales, hialinas, pluriseptadas, lisas, de forma alargada y tamaño variable. Luego de estudios sobre su crecimiento y biología molecular, varios autores indican que existe una amplia variabilidad genotípica (6, 8, 9, 11).

En el campo el hongo es favorecido por altas temperaturas, de ahí que sea más destructivo en meses de verano y climas cálidos. En la noche y en días fríos y nublados, con alta humedad relativa pueden ocurrir fructificaciones conidiales de aspecto grisáceo, a ambos lados de la hoja (5).

Una de las limitaciones para el estudio de este hongo está en la dificultad de su crecimiento en medios sintéticos; por tanto, para contribuir al conocimiento de la biología de este importante microorganismo fue necesario

obtener y estandarizar una metodología que permitiera su crecimiento y esporulación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El trabajo se realizó en el laboratorio y en la casa de mallas de la Disciplina de Fitopatología, del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Planalto, en Chinchiná, Caldas.

Aislamiento de *Cercospora coffeicola*. Las muestras de hojas con síntomas característicos de la enfermedad se recolectaron en las subestaciones de Cenicafé, relacionadas y descritas en las Tablas 1 y 2. Estas hojas (Figura 1), se lavaron con agua corriente y se desinfectaron de acuerdo con tres tratamientos establecidos:

- 1) - 30 segundos en solución de hipoclorito de sodio al 2% y luego lavado abundante con agua destilada estéril (ADE).
- 2) - 30 segundos en alcohol (etanol) del 70%, y lavado abundante con ADE.
- 3) - 5 minutos sumergidas en ADE y lavado posterior con ADE.

Las hojas se colocaron en cámara húmeda y en completa oscuridad, a 24°C y 100% de humedad relativa. Después, a las 20 horas hubo esporulación. En una cámara de flujo laminar con ayuda de un estereoscopio se localizaron las esporas sobre las lesiones y se transfirieron a cajas de Petri que contenían aproximadamente 20ml de PDA estéril acidificado (ácido láctico del 90%, pH 4,0); a los 15 días se realizó una evaluación y aquellas cajas que presentaban crecimientos puros fueron utilizadas para sembrar el hongo en los medios de cultivo jugo vegetal V8 (V8) y Extracto de hojas de café - Avena - Agar (CAA).

Tabla 1. Ubicación geográfica y condiciones climáticas de los sitios de recolección de muestras de hojas de café con síntomas de mancha de hierro (Fuente: Anuario Meteorológico Cafetero 1998).

Subestación	Municipio	Depto	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)	T (°C) ¹	Precipitación (mm) ²	Humedad Relativa ³
Naranjal	Chinchiná	Caldas	04° 59'	75° 39'	1400	21,7	2987,4	78,6
Cenicafé	Chinchiná	Caldas	05° 0'	75° 36'	1310	21,6	2662,0	79,0
R. Escobar	Supía	Caldas	05° 28'	75° 39'	1320	22,4	2095,3	74,4
Maracay	Quimbaya	Quindío	04° 36'	75° 46'	1450	21,1	2459,3	77,5
S. Bárbara	Sasaima	C/marca	04° 57'	74° 25'	1450	20,9	2604,6	77,7

¹ Promedio de temperatura anual.

² Acumulado precipitación anual.

³ Promedio humedad relativa anual

Tabla 2. Procedencia de muestras de hojas de cafetos en estados de almácigo y adulto, variedades Caturra y Colombia con *Cercospora coffeicola*.

Fecha	Procedencia	Variedad	Órgano	Estado Planta
99.03.19	Naranjal	Caturra	Hoja	Almácigo
99.04.20	Cenicafé	Caturra	Hoja	Almácigo
99.04.27	Rafael Escobar	Colombia	Hoja	Adulta
99.05.06	Maracay	Colombia	Hoja	Almácigo
99.05.26	Santa Bárbara	Colombia	Hoja	Adulta
99.05.03	Naranjal	Caturra	Hoja	Almácigo



Figura 1. Hoja de *Coffea arabica* L. var. Caturra con síntomas característicos de mancha de hierro. Se observan manchas circulares e irregulares anóxicas por la haz de la hoja, de color pardo a marrón rojizo y con el centro de color cenizo.

Evaluación de medios de cultivo. Se probaron y adaptaron las metodologías de Peloso *et al.* (12) y Smith (13) con el fin de encontrar el medio de cultivo que garantizara el mejor crecimiento y esporulación.

Jugo V-8. Siguiendo la metodología de Peloso *et al.* (12) y con las modificaciones necesarias se mezclaron 3,0g de CaCO_3 y 15g de Agar-agar en 1.000ml de ADE. Se adicionaron 200ml de jugo vegetal V-8 y se ajustó el pH a 7,0 con KOH, 1N. El medio se esterilizó en autoclave a 121°C, 15 PSI durante 20 minutos y se sirvieron aproximadamente 20ml por caja de Petri. Se sembraron 0,25 cm² de PDA con micelio del hongo. Las cajas se sellaron y se colocaron a 25 ± 1°C con fotoperíodo de nueve horas de luz y 15 de oscuridad, en arreglo completamente al azar.

Cinco días después de la siembra se agregaron 3ml de ADE por caja de Petri y con un rodillo bacteriológico se realizó un raspado para desprender de esporas. Se recogió la suspensión en un tubo de ensayo y con ayuda de una micropipeta se depositaron 10 µl en la cámara de Neubauer para conteo de esporas en cinco campos.

Extracto de hojas de café – avena - agar (CAA).

Se ajustó y modificó la metodología de Smith (13) de la siguiente forma: 60g de hojas jóvenes de café *Coffea arabica* L. cv. Caturra, se lavaron con agua corriente, se picaron y se licuaron en 500ml de ADE a 2.800rpm durante 3 minutos. El extracto se filtró a través de dos capas de gasa. Por otro lado, se mezclaron 20g de harina de avena Quaker® en 500ml de ADE y se llevaron a cocción por 10 minutos. Luego se filtró a través gasa. Posteriormente, se mezclaron las dos soluciones en relación volumétrica 1:1, se ajustó el pH a 7,0 con KOH 1N y se adicionaron 1,5g de agar-agar por cada 100ml de medio y se esterilizó en autoclave a 121°C y 15 PSI durante 20 minutos. Se sirvieron aproximadamente 20ml por caja de Petri y se sembraron 0,25cm² de PDA con micelio del hongo en cada una. Las cajas se sellaron y colocaron a 25 ± 1°C con fotoperíodo de nueve horas de luz y 15 de oscuridad en arreglo completamente al azar, y el conteo de esporas se realizó como en el caso anterior.

Las variables de respuesta considerada para evaluar los medios de cultivo, fueron el conteo de esporas, la tasa media de crecimiento radial y la patogenicidad. Para estas dos últimas la metodología empleada fue la siguiente:

Tasa media diaria de crecimiento radial. Se sembraron porciones de 0,09cm² de PDA con micelio de los aislamientos Cc9901, Cc9902, Cc9903, Cc9904, Cc9905, Cc9906 y Cc9907 en cajas de Petri que contenían los medios de cultivo V8 y CAA con tres repeticiones por aislamiento. Se pusieron sobre mesas en laboratorio a 24 ± 1°C y 70% de humedad relativa y cada dos días y hasta el día 27 se registraron lecturas con ayuda de un calibrador milimétrico digital.

Prueba de patogenicidad. 30 días después de siembra del hongo en los medios V8 y CAA se obtuvieron 5g de micelio y esporas de cada aislamiento mediante raspado. Cada muestra

se mezcló con 45ml de ADE y se homogeneizó a 2.800rpm durante 3 minutos. En cámara de inoculación, se inocularon hojas correspondientes al primer par bien expandido de plántulas de *C. arabica* L cv. Caturra de 6 meses de edad, con 6 gotas (3 gotas a cada lado de la nervadura central) de 5 µl del homogeneizado de cada aislamiento. Los cafetos se llevaron a cámara húmeda por 48 horas en completa oscuridad y luego a la casa de malla donde se calificó el Porcentaje de Manchas Expresadas por planta (PME).

PME = (Número de manchas por planta / 12) x 100.

Se tuvieron seis repeticiones (una planta con dos hojas) por aislamiento y por medio de cultivo (V8 y CAA) en un arreglo completamente al azar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de *Cercospora coffeicola*. Las hojas con presencia del hongo y desinfectadas con ADE mostraron las primeras esporas 20 horas después de colocarlas en cámara húmeda y presentaron crecimiento micelial abundante a las 48 horas (Figura 2). La desinfección con hipoclorito de sodio al 2% y etanol al 70% aumentó el tiempo de esporulación a 48 horas y se redujo considerablemente el número de esporas y crecimiento micelial producido. Las esporas sembradas en PDA acidificado y provenientes de muestras desinfectadas con hipoclorito y etanol presentaron baja germinación y pocas colonias comparadas con el tratamiento de ADE.

Tres días después de sembradas las esporas en PDA - acidificado se observó un crecimiento algodonoso, hialino hacia la periferia y verde blanquecino hacia el centro (Figura 3), que correspondió al micelio del hongo, y posteriormente presentó coloración particular

para cada aislamiento lo cual permitió tener esta característica como atributo para su identificación, tal como se presenta en la Tabla 3.

Evaluación de medios de cultivo. El medio de cultivo utilizado tuvo influencia sobre la apariencia fenotípica del hongo y la esporulación (Figura 4, Tabla 4). La mayor esporulación se obtuvo para todas las fechas de evaluación

con el medio CCA, presentando los valores máximos el día 13. Los resultados concuerdan con los encontrados por Buitrago (3) y Baquero (2) quienes concluyeron que la presencia de extracto de café en el medio y el pH cercano a la neutralidad favorecen la esporulación del hongo *in vitro*.

Tasa media diaria de crecimiento radial. No se encontraron diferencias estadísticas signi-

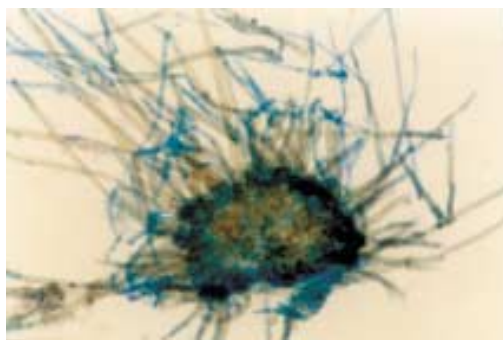


Figura 2. Conidióforos y esporas de *Cercospora coffeicola* observados al estereoscopio (4x) 20 horas después de colocar las muestras en cámara húmeda.



Figura 3. Colonia de *Cercospora coffeicola* en PDA vista al estereoscopio (4x), tres días después de siembra de esporas.

Tabla 3. Codificación de aislamientos de *Cercospora coffeicola* y características del crecimiento en medio de cultivo PDA.

Código	Proceden	Características
Cc9901	Naranjal	Aislamiento agresivo sobre plantas de almácigo. Aislamiento con crecimiento verde grisáceo en los primeros días. Blanquecino sobre la superficie, base negra hacia el centro y vino tinto la periferia.
Cc9902	Maracay	Crecimiento superficial verde grisáceo con base negra y vino tinto.
Cc9903	Sasaima	Crecimiento superficial verde blanquecino con base negro-verdosa.
Cc9904	Naranjal	Crecimiento superficial verde grisáceo al centro y periferia vino tinto. Base negra al centro con bordes vino tinto.
Cc9905	Supía	Superficie verde blanquecina. Base vino tinto al centro y negro a la periferia.
Cc9906	Cenicafé	Superficie verde blanquecina. De base irregular presentando mitad negro y mitad vino tinto.
Cc9907	Naranjal	Superficie verde blanquecina. Fondo vino tinto al centro y negra la periferia.

ficativas entre los medios de cultivo y los aislamientos estudiados con relación a la tasa media diaria de crecimiento radial (Tabla 5). Sin embargo, es importante resaltar que cuatro de los siete aislamientos presentaron una tasa media superior en CAA que en V8. Estos resultados son similares a los encontrados por Leguizamón (8).

Prueba de patogenicidad. De 10 a 15 días después de la inoculación apareció un ligero amarillamiento en algunas hojas y en el sitio donde se colocó el inóculo. De 3 a 6 días después se manifestaron pequeños puntos oscuros que luego se tornaron rojizos (Figura 5). Las lesiones crecieron en tamaño y manifestaron los síntomas típicos de mancha de hierro (Figura 6).



Figura 4. Crecimiento del aislamiento Cc9901 en: a- V8, b- CAA, c- Cocción hojas de café y d- PDA. Se observa la coloración diferente del micelio.

Tabla 4. Promedio de esporas de *Cercospora coffeicola* por ml de suspensión en medios CAA y V8 ajustados con pH 7,0

Edad (días)	Esporas 10^3 /ml	
	CAA	V-8
5	3, 4	1, 3
13	6,0	5,5
20	2,5	0

Tabla 5. Tasa de crecimiento radial diaria en mm de aislamientos de *Cercospora coffeicola* en medios de cultivo CAA y V – 8.

Aislamiento	Medio	Tasa (mm)	CV
Cc9901	CAA	1,31a	16,28
Cc9901	V-8	1,19a	26,18
Cc9902	CAA	1,51a	18,22
Cc9902	V-8	1,12a	24,97
Cc9903	CAA	1,18a	20,70
Cc9903	V-8	1,33a	12,24
Cc9904	CAA	1,32a	21,77
Cc9904	V-8	1,60a	4,96
Cc9905	CAA	1,53a	2,72
Cc9905	V-8	1,33a	9,27
Cc9906	CAA	1,45a	18,64
Cc9906	V-8	1,74a	3,53
Cc9907	CAA	1,29a	16,06
Cc9907	V-8	1,09a	35,28



Figura 5. Síntomas iniciales de la mancha de hierro *Cercospora coffeicola*, en hojas de *C. arabica* L. cv. Caturra, observados 20 días después de inoculación por gota con micelio y esporas del hongo del aislamiento Cc9902.



Figura 6. Detalle de la lesión causada por *Cercospora coffeicola* en hojas de *C. arabica* L. var. Caturra.

La patogenicidad evaluada como el porcentaje de manchas expresadas por planta (PME) mostró que para los 26, 34 y 43 días después de inoculación sólo el aislamiento Cc9902 presentó diferencias estadísticas significativas ($p = 0,05$) con los demás aislamientos (Tabla 7).

El período de incubación para todos los aislamientos fue 26 días y no hubo diferencias estadísticas significativas ($p = 0,05$) entre ellos (Tabla 6).

La desinfección con agua destilada estéril (ADE) de hojas de café con síntomas de mancha de hierro disminuyó a 20 horas el tiempo de esporulación del hongo en cámara húmeda. Estos resultados son similares a los obtenidos por Castaño (5), quien encontró esporulación 24 horas después de colocar las muestras en cámara húmeda a 24°C. Este manejo particular es importante porque semeja las condiciones naturales donde se desarrolla la enfermedad. Por otra parte, el ADE garantizó la mejor germinación de esporas y formación de colonias que al utilizar hipoclorito de sodio al 2% y etanol del 70%. Estos dos últimos, además, retardaron el período de esporulación. No obstante las ventajas del uso de ADE como



Figura 7. Lesiones 40 días después de inoculación causados por el aislamiento Cc9902 de *C. coffeicola*.

Tabla 6. Período de incubación de aislamientos de *Cercospora coffeicola* en hojas de café c.v. Caturra de seis meses de edad, con dos unidades por bolsa.

Aislamiento	Periodo de incubación
Cc9901	25,4a*
Cc9902	25,16a
Cc9903	26,6a
Cc9904	26,0a
Cc9905	24,2a
Cc9906	28,8a
Cc9907	25,6a

*Valores con letras iguales no presentan diferencia estadística, Tukey ($p = 0,05$).

Tabla 7. Porcentaje de manchas expresadas por planta (PME) de aislamientos de *Cercospora coffeicola* en plantas de café cv. Caturra de seis meses de edad, 26, 34 y 43 días después de inoculación por gota.

Aislamiento	Días después de la inoculación		
	26 PME	34 PME	43 PME
Cc9901	1,06b	1,06b	1,06b
Cc9902	1,83a	1,83a	1,83a
Cc9903	1,32b	1,32b	1,32b
Cc9904	1,35b	1,35b	1,35b
Cc9905	1,09b	1,09b	1,09b
Cc9906	1,14b	1,14b	1,14b
Cc9907	1,06b	1,06b	1,06b

Promedios con letras iguales no presentan diferencia estadística, Tukey ($p=0,05$).
 $R^2 = 0,39; 0,37$ y $0,39$.

desinfestante, es necesario tener precauciones para garantizar que no existan ácaros que puedan interferir con la esporulación y posterior desarrollo del hongo *in vitro*.

En cuanto a la variada manifestación fenotípica de *C. coffeicola* en medios de cultivo, esta también había sido descrita por Buitrago (3), quien afirmó que existían diferencias morfológicas y de coloración entre colonias del hongo en los medios de Cultivo AHC (Cocción hojas de café agar) y AC (Extracto de café agar). En la presente investigación, la variabilidad fenotípica se presentó en aislamientos provenientes de diferentes lugares y en el mismo medio, variabilidad relacionada con su actividad patogénica.

Según Fernández (6) en *C. coffeicola* al igual que en la mayoría de las especies del género *Cercospora* es difícil obtener su esporulación *in vitro*. Trabajos como el de Buitrago (3) han registrado excelentes resultados al momento de colocar el hongo a esporular *in vitro*, pero con posterioridad no ha sido posible repetir los resultados con éxito. En el presente trabajo el medio CAA (Extracto de hojas de café - harina de avena - agar) mostró sus bondades para inducir el crecimiento y la

esporulación del hongo. Este medio es muy económico y de fácil preparación, y ajustes posteriores en el pH podrían garantizar una mayor esporulación. En otros trabajos (4), se utilizaron los medios PDA-A (papa, dextrosa, agar acidificado), ELD (Caldo Extracto de levadura dextrosa) y PD (Caldo Extracto de papa dextrosa) sin tener éxito en la esporulación. Otra alternativa que podría ser utilizada, es la de conidiación microcíclica que ha dado buenos resultados en otras especies de hongos, pero tiene un alto costo.

Los resultados de las pruebas de patogenicidad son similares a las encontradas por Leguizamón (8) sobre hojas de café var. Caturra. Sin embargo, Leguizamón obtuvo como aislamiento más patogénico uno proveniente de Supía (Caldas) y en el presente trabajo el aislamiento procedente del mismo lugar presentó valores más bajos. La variabilidad fenotípica y patogénica de *C. coffeicola* fue confirmada por Leguizamón (8) quien mediante técnicas de biología molecular encontró polimorfismo entre aislamientos. Los resultados del presente trabajo muestran también la existencia de variabilidad patogénica de los aislamientos y podría asociarse con áreas de cultivo intensivo que utilizan altas dosis de

fungicidas para su control, observación que debe ser confirmada experimentalmente con posterioridad.

LITERATURA CITADA

1. AGRIOS, G. N. Fitopatología. México, Noriega Editores, 1996. 838 p.
2. BAQUERO DE P., M. C. Estudio fisiológico de *Cercospora coffeicola* (Berk. y Cooke.). Bogotá, Universidad de los Andes. Facultad de Artes y Ciencias, 1980. 57 p. (Tesis: Magister en Microbiología).
3. BUITRAGO J., H. L. Estudio de esporulación *in vitro* de *Cercospora coffeicola* Berk. y Cooke. Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Agronomía, 1981. 78 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).
4. CADENA G., G. Medios de cultivo para esporulación de *Cercospora coffeicola*. In: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. Informe anual de labores de la Sección de Fitopatología Julio 1978 – Junio 1979. Chinchiná, Cenicafé, 1980. (Mecanografiado).
5. CASTAÑO, J. J. Mancha de hierro del cafeto. Cenicafé 7 (82): 313 – 327. 1956.
6. FERNÁNDEZ B., O.; CADENA G., G.; LÓPEZ D., S.; BUITRAGO J., H. L.; ARANGO B., L. G. La mancha de hierro del cafeto *Cercospora coffeicola* Berk y Cooke, biología, epidemiología y control. In: Colloque Scientifique International Sur le Café, 10. Salvador, Octubre 11– 14, 1985. Documents. París, ASIC. 1982. p. 11- 14.
7. KRANZ, J.; SCHMUTTERER, H.; KOCH, W. Diseases, pest and weeds in tropical crops. Berlín, Verlag Paul Parey, 1977. p. 190 – 191.
8. LEGUIZAMÓN C., J. Variabilidad de aislamientos de *Cercospora coffeicola* Berk. y Br. agente causal de la mancha de hierro del café. In: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, 13. Villavicencio, Agosto 12 – 14 de 1992. Resúmenes. Santafé de Bogotá, ASCOLFI, 1992. p. 64.
9. LEGUIZAMÓN C., J. La mancha de hierro. In: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. Informe Anual de la Disciplina de Fitopatología Octubre 1996 – Septiembre 1997. Chinchiná, CENICAFÉ, 1997.
10. LEGUIZAMÓN C., J. La mancha de hierro del cafeto. Avances Técnicos Cenicafé No. 246: 1-8. 1997.
11. PARDO C., V. M. Hongos fitopatógenos de Colombia. Medellín, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 1995. 166 p.
12. PELOSO, M. C. DEL; FERNANDES, C. D.; FILGUEIRAS, A.T.; CHAVES, G.M. Esporulacao de *Cercospora coffeicola* em diferentes meios de cultura. Fitopatología. Brasileira 14 (1):41 – 44. 1989.
13. SMITH, D. H. A simple method for producing *Cercospora arachidicola* conidial inoculums. Phytopathology 61: 1441. 1971.