

EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A *Ceratocystis colombiana* Y *Ceratocystis papillata* EN GENOTIPOS DE CAFÉ

Bertha Lucía Castro Caicedo*; Hernando A. Cortina Guerrero*.

RESUMEN

CASTRO C., B.; CORTINA G., H. Evaluación de resistencia a *Ceratocystis colombiana* y *Ceratocystis papillata* en genotipos de café. *Cenicafé* 63 (2): 23-30. 2012

La llaga macana atribuida a *Ceratocystis colombiana* y *C. papillata* ocasiona pérdidas importantes en la caficultura colombiana, debido a la muerte de plantas en cualquier estado de su desarrollo. Entre las estrategias para prevenir la enfermedad está la búsqueda y selección de fuentes de resistencia que permitan generar variedades comerciales de café con dicha resistencia. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de genotipos de café a inoculaciones de *Ceratocystis* spp. Se incluyeron seis accesiones de *Coffea canephora* (Can), cinco de *C. liberica* (Lib) y el Híbrido de Timor (HdT/1343). Como testigos susceptibles se utilizaron plantas de *C. arabica* var. Caturra y var. Colombia. Bajo un diseño completamente aleatorio, la unidad experimental consistió de diez plantas y tres repeticiones por cada genotipo. Las plantas se sembraron en bolsas plásticas y se ubicaron a la intemperie. A la edad de 21 meses, se realizó la inoculación de *Ceratocystis colombiana* y *C. papillata*, depositando una suspensión de ascosporas en una herida en el tallo de cada planta. Un año después de la inoculación se evaluó la supervivencia de las plantas, midiendo además el área de la lesión causada por el patógeno en el tallo. En Can y Lib no hubo muerte de plantas, mientras el 88% y 90% de plantas en el HdT sobrevivieron a las inoculaciones de *C. colombiana* y *C. papillata*, respectivamente. Todas las plantas de Caturra y var. Colombia murieron al ser anilladas por la lesión. Los resultados demuestran una clara oportunidad del uso del mejoramiento genético para reducir el daño ocasionado por *Ceratocystis* en café.

Palabras clave: Resistencia genética, llaga macana, *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, Híbrido de Timor.

ABSTRACT

Coffee stem canker disease caused by *Ceratocystis colombiana* and *C. papillata* result in significant losses to the Colombian coffee industry due to the death of plants at all stages of development. Among the available strategies to prevent the disease, selection of resistant genotypes is the most important. The aim of this study was to assess the responses of accessions of *Coffea canephora*, *C. liberica* and Timor Hybrid (TH) to infection by *Ceratocystis* spp. Susceptible *C. arabica* var. Caturra and var. Colombia plants were included as controls. Plants were artificially inoculated with the pathogens using ascospore suspensions applied to stem wounds. One year after inoculation, plants were assessed for mortality and lesion development. There was no mortality of *C. canephora* and *C. liberica* plants and there was an 88 to 90% survival of plants in TH inoculated with *C. colombiana* and *C. papillata* respectively. All var. Colombia and Caturra plants died due to girdling of their stems by the test pathogens. These results show that there is substantial opportunity to reduce the damage caused by *Ceratocystis* stem canker through breeding and deployment of resistant cultivars.

Keywords: Breeding, *Ceratocystis fimbriata*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, fungal disease, genetic resistance, Timor Hybrid.

* Investigador Científico II, Disciplinas de Fitopatología y Mejoramiento Genético, respectivamente. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

Actualmente, el café se cultiva en más de 70 países ubicados en el trópico, con una área de aproximadamente 11 millones de hectáreas en el mundo. En su mayoría, las áreas dedicadas a café corresponde a pequeños productores, quienes cultivan diferentes variedades, incluidas las dos principales especies de *Coffea arabica* L. y *C. canephora* Pierre (21). Estas dos especies de café se consideran importantes, no solo en la producción de la bebida de mayor consumo en el mundo, sino por sus características genotípicas como fuentes de resistencia a plagas y enfermedades y su tolerancia a la sequía y adaptabilidad a diferentes condiciones de clima, suelo y métodos de cultivo, como es el caso de *C. canephora* (20, 33).

A nivel mundial, las variedades comerciales de café hacen parte de tres especies, a saber: *Coffea arabica*, tetraploide ($2n=4x=44$ cromosomas) y autocompatible, la cual es responsable por el 70% de la producción mundial; *C. canephora*, diploide ($2n=2x=22$ cromosomas), que produce el 30% del café en el mundo; y *C. liberica* Bull: Hiern, también diploide ($2n=22$), autoestéril y de menor área cultivada.

De otra parte está el Híbrido de Timor (HdT), un *C. arabica*, tetraploide ($2n=4x=44$ cromosomas), el cual se considera autofértil y se originó mediante la hibridización natural entre *C. arabica* y *C. canephora* (4). Existen diferentes accesiones o introducciones de HdT, en diferentes países cafeteros, incluyendo Colombia, las cuales se han desarrollado a través del Centro de Investigaciones de la Roya del Cafeto (*Coffee Rust Research Center-CIFC*) en Portugal. Entre estas introducciones de HdT están: CIFC 832/1, CIFC 832/2, CIFC 1343 y CIFC 2570, las cuales se han usado en programas de mejoramiento para producir las más valiosas variedades de café con resistencia principalmente a la enfermedad

más importantes del café, como es la roya anaranjada de la hoja, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk. & Broome (2, 8, 17, 25, 32).

Además de la roya, existen otras enfermedades de importancia en café, entre las cuales están, el cáncer del tronco o llaga macana, ocasionada por especies del hongo habitante del suelo *Ceratocystis* spp. El género *Ceratocystis* fue registrado inicialmente causando pudrición de raíces en batata (*Ipomoea batatas* L.) en 1890 en New Jersey (Estados Unidos), siendo descrito por Halsted en 1980. A pesar de que, *Ceratocystis fimbriata* Halsted & Hunt. fue ampliamente aceptado desde 1950, su clasificación taxonómica ha causado controversia entre varios autores, debido principalmente a su amplio rango de hospedantes a nivel mundial (29, 36).

En café, la enfermedad denominada cáncer se observó por primera vez en Indonesia y fue descrita por Zimmerman en 1980, como *Rostrella coffea*. Posteriormente, Obregón (26) la denominó “mal de tinta” debido a los síntomas observados en plantas de café en Colombia. Pontis (27) describió una enfermedad similar en cafetos en Venezuela y Colombia, atribuyéndole el daño a *Ceratocystis fimbriata*. Castaño (6,7) y Fernández (18), la mencionan como “llaga macana” en cafetales de Colombia. Esta enfermedad está presente en *C. arabica* en otros países como Costa Rica, Cuba, Guatemala, India y Surinam (3). A partir de aislamientos de *Ceratocystis fimbriata* (*sensu lato*) recolectados tanto en plantas como en suelo de la zona cafetera colombiana, Marín *et al.* (24) realizaron estudios moleculares que permitieron determinar dos linajes filogenéticos en la población recolectada, los cuales fueron detalladamente estudiados por Van Wyk *et al.* (34). Mediante análisis morfológicos y moleculares de aislamientos

obtenidos no solo de café si no también de otros hospedantes como cacao, cítricos y árboles forestales, estos autores confirmaron los dos linajes incluidos en el complejo *Ceratocystis fimbriata* (s.l.). Estas especies nuevas son *Ceratocystis colombiana* Van Wyk & Wingf. y *C. papillata* Van Wyk & Wingf.

En Colombia, la llaga macana puede llegar a causar entre un 20% a 50% de mortalidad, reduciendo significativamente la productividad de los cafetales (10). Entre las prácticas de control está el control preventivo, mediante la aplicación de fungicidas, principalmente durante el zoqueo (9, 13). No obstante, existen otros factores que propician el ingreso del patógeno en la planta, como son las heridas ocasionadas en la base del tallo por el apoyo de los trabajadores, especialmente en cafetales localizados en topografía pendiente (9). En este caso el manejo del problema no es fácil, considerando además que *Ceratocystis* es un microorganismo habitante de todos los suelos de la zona cafetera colombiana (24).

La resistencia genética es la mejor alternativa para contrarrestar el daño ocasionado por la llaga macana del cafeto. Entre las fuentes de resistencia a este patógeno en café está la mencionada por Fernández (18) en una línea de la variedad *C. arabica* var. Borbón. Dicha resistencia está relacionada con la formación de tejidos de cicatrización que se forman alrededor de la lesión del patógeno, impidiendo su avance (11, 18). Una posible "inmunidad" es mencionada por Echandi y Fernández (16), Schieber y Echandi (31) e Izquierdo (22) en *Coffea canephora* y *C. liberica*. En este caso, los autores sugieren que dicha reacción de resistencia puede estar relacionada con altos niveles de compuestos fenólicos presentes en estas especies, en comparación con las plantas susceptibles de *C. arabica*.

Con base en la resistencia a *Ceratocystis* sp. aparentemente presente en algunas accesiones de *C. canephora*, Castro *et al.* (12) confirmaron dicha resistencia en plantas de *C. arabica* var. Colombia las cuales se injertaron sobre un patrón de *C. canephora*. Recientemente Castro *et al.* (14) evaluaron la resistencia a *Ceratocystis colombiana* y *C. papillata* en híbridos interespecíficos (F4), producto del cruzamiento entre accesiones de *C. canephora* con Caturra. En este caso se obtuvieron progenies avanzadas con doble resistencia tanto a roya como a llaga macana.

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la respuesta de resistencia a especies de *Ceratocystis* en algunas accesiones de *C. canephora*, *C. liberica* y en el Híbrido de Timor (CIFC/1343).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en La Granja de Cenicafé (Manizales, Caldas), localizada a 5° de latitud N y 75°36' longitud Oeste, a 1.310 m de altura, temperatura media de 21,0°C, precipitación anual de 2.560 mm, humedad relativa promedio de 77,1% y brillo solar anual de 1.751 horas (15).

En el estudio se incluyeron seis accesiones de *Coffea canephora*, cinco de *C. liberica*, y el Híbrido de Timor CIFC/1343. Como testigos se incluyeron plantas de var. Caturra y var. Colombia. La semilla de los genotipos en estudio se obtuvo de la Colección Colombiana de Café de Cenicafé, ubicada en la Estación Central Naranjal, en Chinchiná (Caldas). Las plantas se sembraron en bolsas plásticas de 22 cm de ancho por 35 cm de largo, con capacidad de 5 kg de suelo y se ubicaron en un lote a plena exposición, proporcionándoles los cuidados requeridos de fertilización y limpieza de arvenses.

Cuando las plantas alcanzaron 21 meses de edad se realizó la inoculación de los hongos *Ceratocystis* colombiana (aislamiento CMW5768) y *C. papillata* (aislamiento CMW10844), correspondientes al estudio de Van Wyk *et al.* (34). Para la reactivación de los aislamientos, se siguió la metodología de Castro y Cortina (11), utilizando trozos de tallos tiernos de café descortezados, dispuestos en cámaras húmedas en cajas de Petri esterilizadas, inoculando dichos tallos, hasta la obtención de abundantes peritecios con masas de ascosporas. La preparación del inóculo consistió en transferir masas de ascosporas en viales con agua destilada estéril, suplementada con 0,06 mL.L⁻¹ del surfactante Triton® X100 (Sigma Saint Louis Missouri, USA). Esta suspensión se sometió a ultrasonido (Branson Ultrasonic cleaner/2510), a una frecuencia de 40 kHz durante 30 segundos. La concentración de esporas se determinó con el hemacitómetro, a $7,0 \times 10^4$ por mL.

La inoculación se realizó haciendo una herida en forma de U invertida (de 1,5 cm) sobre el tallo de la planta, a una altura aproximada de 10 cm del suelo, utilizando la punta de una navaja. Con una micropipeta, se depositó una gota de 50 µL de la suspensión del patógeno, levantando levemente la corteza, para que quedara en contacto con el floema de la planta. Durante 15 días, la herida se cubrió con algodón humedecido y cinta de papel Parafilm® (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, IL), según método de Castro y Cortina (11). Al retirar dicha cámara húmeda se verificó visualmente la colonización del patógeno, observando la coloración negra y de consistencia carbonosa, correspondiente a macroconidias del patógeno, según descripción de Castaño (6) y Fernández (18).

Se establecieron dos experimentos simultáneamente para cada especie de *Ceratocystis*. En cada uno se utilizó un

diseño experimental completamente aleatorio, siendo la unidad experimental de diez plantas y tres repeticiones por cada genotipo.

La evaluación de resistencia o susceptibilidad a *Ceratocystis* spp. se realizó durante los meses de abril de 2011 hasta abril de 2012. Las plantas se monitorearon mensualmente para observar síntomas externos de amarillamiento, marchitamiento o muerte de las plantas. Después de 4 meses la inoculación se realizó una observación del desarrollo de la lesión en el punto de inoculación de los patógenos, y después de un año de la inoculación se realizó la evaluación final, midiendo en cada planta el área de la lesión característica del patógeno, así como las plantas muertas. De acuerdo con el método de Castro y Cortina (11) se midió la circunferencia del tallo (CT), ancho (AL) y longitud de la lesión necrótica (LL) en el floema de cada planta. El avance transversal de la lesión causada por el patógeno se expresó como el grado de anillamiento (GA), dado por la relación AL/CT x 100. Los datos se analizaron mediante un ANOVA y prueba de F ($p < 0,01$), utilizando el *Statistical Software 9.2.* (30). Como complemento se observó la presencia o ausencia de tejidos de cicatrización o callo cubriendo la lesión del patógeno en cada planta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas de amarillamiento y marchitamiento de las plantas inicialmente se observaron en plantas de var. Caturra y var. Colombia, de 3 a 4 meses después de la inoculación. A los 6 meses, todas las plantas de estas variedades murieron por efecto de los dos patógenos. En estas plantas las lesiones necróticas avanzaron longitudinal y transversalmente, anillando completamente el tallo (GA= 100%), (Figura 1a y Tabla 1).

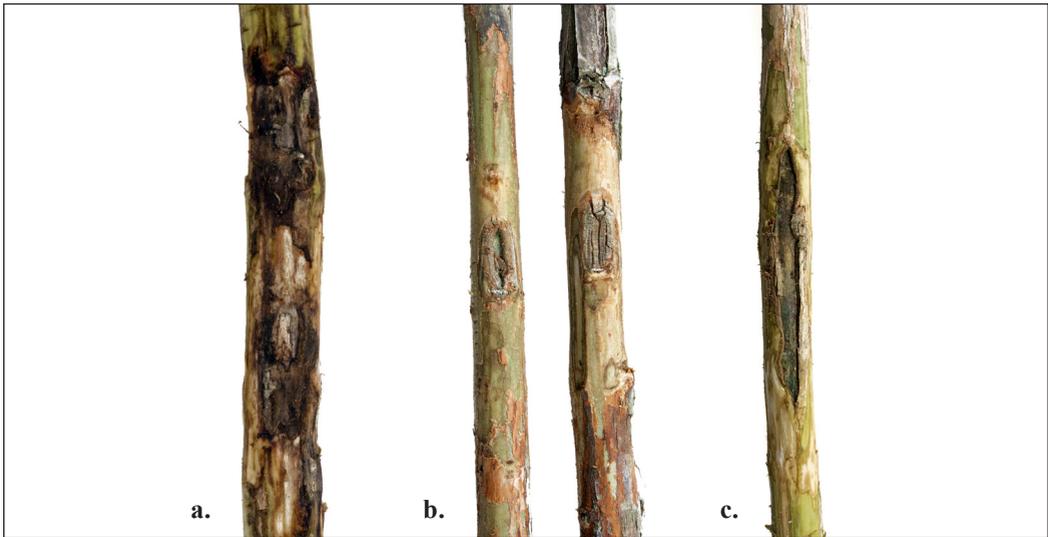


Figura 1. Diferentes reacciones de susceptibilidad/resistencia a llaga macana en genotipos de café, un año después de la inoculación de *Ceratocystis colombiana* y *C. papillata*. **a.** Reacción de susceptibilidad en tallos de plantas de *C. arabica* var. Caturra y var. Colombia, en los cuales la lesión avanzó longitudinal y transversalmente. **b.** Reacción de resistencia observada en las accesiones de *C. liberica*, en la mayoría de accesiones de *C. canephora* y en algunas plantas del Híbrido de Timor. En estos casos no hubo desarrollo de la lesión. **c.** Reacción de resistencia observada en algunas accesiones de *C. canephora*, en donde hubo avance longitudinal de la lesión pero no hubo anillamiento del tallo, evitando la muerte de las plantas.

Después de un año después de la inoculación ninguna de las plantas de las accesiones de *C. liberica* había muerto, notándose tejidos de cicatrización en el sitio de inoculación, sin avance de la lesión del patógeno (Figura 1b y Tabla 1). En algunas plantas de *C. canephora* las lesiones avanzaron durante los primeros 4 meses después de la inoculación; sin embargo, ninguna planta murió al final de la evaluación (Figura 1b y Tabla 1). En algunas plantas de *C. canephora* var. Ugandae CCC 712, *C. canephora* CCC 962 y *C. canephora* CCC 1015 se observaron lesiones alargadas y angostas, pero la formación de callo impidió el anillamiento de las plantas (Figura 1c y Tabla 1). En estos casos el promedio de GA y LL fue de 3,5% y 0,85 cm, respectivamente, debido a la infección causada por *C. colombiana*. Mientras que plantas de *C. canephora* CCC1015 y CCC962

tuvieron un promedio de GA de 3,8% y LL de 0,85 cm, causada por *C. papillata*.

En el caso del HdT, el 12% y 10% de las plantas fueron anilladas y murieron por efecto de *C. colombiana* y *C. papillata*, respectivamente. El resto de las plantas de este híbrido mostraron reacciones de resistencia caracterizada por lesiones similares a las observadas en *C. canephora* (Figura 1b). Un año después de la inoculación las plantas del HdT resistentes presentaron un promedio de GA de 7,2% y 0,5 cm de LL causado por *C. colombiana*, y 8,8% (GA) y 1,4 cm de LL causado por *C. papillata*. Tanto el GA como la LL observado en algunas plantas de *C. canephora* y en el HdT/1343 fueron estadísticamente diferentes a los testigos susceptibles Caturra y var. Colombia. Según la Prueba de Duncan

Tabla 1. Reacción de resistencia/susceptibilidad en genotipos de café, después de 1 año de la inoculación de *Ceratocystis colombiana* y *C. papillata*. Promedio de grado de anillamiento (GA) y largo de la lesión necrótica (LL) causada por los patógenos en el tallo.

Genotipo	<i>Ceratocystis colombiana</i>		<i>Ceratocystis papillata</i>	
	GA (%) ($\bar{X} \pm DS$)	LL (cm) ($\bar{X} \pm DS$)	AL (%) ($\bar{X} \pm DS$)	LL (cm) ($\bar{X} \pm DS$)
<i>C. liberica</i> CCC 1025	0	0	0	0
<i>C. liberica</i> CCC 1029	0	0	0	0
<i>C. liberica</i> CCC1033	0	0	0	0
<i>C. liberica</i> CCC1035	0	0	0	0
<i>C. liberica</i> CCC 1022	0	0	0	0
<i>C. canephora</i> CCC 1006	0	0	0	0
<i>C. canephora</i> CCC 978	0	0	0	0
<i>C. canephora</i> CCC 980	0	0	0	0
<i>C. canephora</i> (var. Uganda CCC712)	4,1 ± 11,4 b	2,1 ± 5,4 b	0	0
<i>C. canephora</i> CCC 962	1,7 ± 6,4 b	0,3 ± 1,3b	2,0 ± 6,3 c	0,3 ± 1,2 b
<i>C. canephora</i> CCC 1015	4,8 ± 10,5 b	0,9 ± 2,1b	5,6 ± 11,0 bc	1,4 ± 2,6 b
Híbrido de Timor 1343	7,2 ± 14,6 b	0,5 ± 0,9 b	8,8 ± 20,9 b	1,4 ± 2,7 b
<i>C. arabica</i> var. Colombia	100,0a	17,5 ± 4,8 a	100,0 a	13,6 ± 5,0 a
<i>C. arabica</i> var Caturra	100,0 a	16,2 ± 5,9 a	100,0a	12,3 ± 3,9 a

\bar{X} : Promedios, DS: desviación estándar.

(5,0%), no se observaron diferencias entre los genotipos que mostraron resistencia a los dos patógenos. En las plantas de las variedades testigo no se observó desarrollo de tejidos de cicatrización.

La formación de tejidos de cicatrización o callo al igual que la ausencia de lesiones en el punto de inoculación de *Ceratocystis* sp., en las plantas de *C. canephora* y *C. liberica* y en algunas plantas de H de T, fue la mejor evidencia de resistencia a los patógenos. Otro resultado importante fue la resistencia observada en la mayoría de las plantas del HdT, lo cual indica que este híbrido puede portar genes de resistencia posiblemente conferidos por *C. canephora*, que es uno de sus progenitores. Durante el desarrollo del experimento, desde la inoculación hasta la evaluación final, se presentaron las siguientes condiciones climáticas: 3.118 mm de precipitación, brillo solar total de 1.192 horas y humedad relativa promedio de 80%.

Los resultados de este estudio son de gran utilidad, no solo en lo que respecta a la búsqueda de fuentes de resistencia a llaga macana, sino también porque estos genotipos tienen gran posibilidad de ser también resistentes a roya, como ha sido demostrado por varios investigadores en accesiones de *C. liberica* y *C. canephora* (5, 35). Es de anotar que esta resistencia a roya en las especies diploides ha permitido ampliar los métodos de mejoramiento del café, en el desarrollo de variedades con genes de resistencia diferentes a los conferidos por el HdT. Estos métodos se basan en la incorporación de dichos genes a *C. arabica* lo cual confiere a las plantas mayor diversidad en la respuesta de resistencia a *H. vastatrix*, obteniéndose materiales mejorados y de mayor durabilidad en dicha resistencia (19, 23, 28, 33). Alvarado y Cortina (1) presentan resultados en generaciones avanzadas de híbridos interespecíficos (F4), derivadas del cruzamiento *C. canephora* y *C. arabica* var. Caturra retrocruzada con Caturra.

Estos híbridos, además de ser resistentes a roya, presentan atributos agronómicos y de calidad de grano promisorios para obtener variedades comerciales. De otra parte, la característica de resistencia a *Ceratocystis* fue obtenida por Castro *et al.* (12), en injertos de *C. arabica* var. Colombia sobre *C. canephora*, expuesto a condiciones de infección natural. Recientemente Castro *et al.* (14) estudiaron la respuesta de resistencia a *Ceratocystis* sp. y *H. vastatrix*, en interespecíficos entre *C. arabica* con *C. canephora*, encontrando progenies (F4) que combinan dicha resistencia. Por consiguiente los resultados encontrados en el presente trabajo corroboran la resistencia a *Ceratocystis* en las especies diploides.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los doctores Michael J. Wingfield y Jolanda Roux, Profesores del Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), de la Universidad de Pretoria, Sur África. También a los auxiliares y personal de campo de las Disciplinas de Fitopatología y Mejoramiento Genético de Cenicafé.

LITERATURA CITADA

- ALVARADO A., G.; CORTINAG., H.A. Comportamiento agronómico de progenies de híbridos triploides de *C. arabica* var Caturra X (Caturra x *C. canephora*). Cenicafé 48(2):73-91. 1997.
- ALVARADO A., G.; POSADA S., H.E.; CORTINA G., H.A. La variedad Castillo®: Una variedad de café *Coffea arabica* L. con elevada productividad y amplia resistencia a enfermedades. Fitotecnia colombiana 8(1):1-21. 2005.
- BAKER, C.J.; HARRINGTON, T.C.; KRAUS, U.; ALFENAS, A.C. Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. Phytopathology 93(10):1274-1284. 2003.
- BETTENCOURT, A.J. Consideracoes gerais sobre o hibrido do Timor. Campinas : Instituto agronomico de Campinas, 1973. 20 p. (Circular No. 23)
- BETTENCOURT, A.J.; CARVALHO, A. Melhoramento visado a resistencia do cafeeiro a ferrugem: Pesquisas em curso no Instituto agronomico de Campinas, Brasil, con a colaboraVão do Centro de investigaVão das ferrugens do cafeeiro, Oeiras. Portugal. Bragantia 27(4):35-68. 1968.
- CASTAÑO, J.J. Interpretación de los síntomas y signos de la enfermedad de la macana en café para el establecimiento de la diagnosis. Cenicafé 2(19):7-32. 1951.
- CASTAÑO, J.J. La llaga macana o cáncer del tronco y de los tallos del café. Chinchiná : Cenicafé, 1953. 26 p. (Boletín Técnico No. 10)
- CASTILLO Z., J.; MORENO R., G. La variedad Colombia: Selección de un cultivar compuesto resistente a la roya del café. Manizales : Cenicafé, 1988. 169 p.
- CASTRO C., B.L.; MONTOYA R., E.C. Evaluación de fungicidas para el control de *Ceratocystis fimbriata* Ell. Halst. Hunt. en café. Cenicafé 45(4):137-153. 1994.
- CASTRO C., B.L.; DUQUE O., H.; MONTOYA R., E.C. Pérdidas económicas ocasionadas por la llaga macana del café. Cenicafé 54(1):63-76. 2003.
- CASTRO C., B.L.; CORTINA G., H.A. Evaluación de resistencia a *Ceratocystis fimbriata* Ell. Halst. Hunt. en progenies F₅ de café Borbón resistente x Caturra. Cenicafé 60(2):115-125. 2009.
- CASTRO C., B.L.; CORTINAG., H.A.; SÁNCHEZA., P.M. Evaluación de injertos de café sobre patrones resistentes a *Ceratocystis fimbriata*. Cenicafé 61(1):46-54. 2011.
- CASTRO C., B.L.; ZULUAGA C.A. Evaluación de coadyuvantes para el control de Llaga macana (*Ceratocystis* sp.) en zocas de café. Fitopatología colombiana 36(1):27-32. 2012.
- CASTRO C., B.L.; CORTINA G., H.A.; ROUX, J.; WINGFIELD, J.M. New coffee (*Coffea arabica* L.) genotypes derived from *Coffea canephora* exhibiting high levels of resistance to leaf rust and *Ceratocystis* canker. Tropical plant pathology 38(6):485-494. 2013.
- CENICAFÉ. Anuario meteorológico. Chinchiná : Cenicafé, 359 p. 2012.

16. ECHANDI, E.; FERNÁNDEZ, C.E. Relation between chlorogenic acid contents and resistance to coffee canker incited by *Ceratocystis fimbriata*. *Phytopathology* 52:544-546. 1961.
17. ESKES, A.B.; HOOGSTRATEN, J.G.; BRAGHINI, T.M.; CARVALHO, A. Race-specificity and inheritance of incomplete resistance to coffee leaf rust in some Icatu coffee progenies and derivatives of híbrido de Timor. *Euphytica* 47(1):11-19. 1990.
18. FERNÁNDEZ B., O. Patogenicidad de *Ceratocystis fimbriata* y posible resistencia en café var. Borbón. *Cenicafé* 15(1):3-17. 1964.
19. HERRERA P., J.C.; ALVARADO A., G.; CORTINA G., H.A.; COMBES, M.C.; ROMERO G., G.; LASHERMES P. Genetic analysis of partial resistance to coffee leaf (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.) introgressed into the cultivated (*Coffea arabica* L.) from the diploid *C. canephora* species. *Euphytica* 167:57-67. 2009.
20. HERRERA P., J.C.; CORTINA G., H.A.; ANTHONY, F.; PRAKASH, M.S.; LASHERMES, P.; GAITÁN B., A.L.; CRISTANCHO A., M.A.; ACUÑA S., J.R.; LIMA, D.R. Coffee *Coffea* sp. p. 595-646. En: SING, R.J. *Meditinal plants: Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement*. Boca Raton : CCR Press, 2011.
21. ICO. [En línea]. Consultado en febrero de 2013.
22. IZQUIERDO, J.E. Comportamiento de genotipos de cafetos ante *Ceratocystis fimbriata*. *Ciencia y técnica en la agricultura; café y cacao* 10(1):53-59. 1988.
23. LASHERMES, P.; ANDRZEJEWSKIS; BERTRAND, B.; COMBES, M.C.; DUSSERT, S.; GRAZIOSI, G.; TROUSLOT, P.; ANTHONY, F. Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*Coffea arabica* L.). *Theoretical and applied genetic* 100:139-146. 2000.
24. MARÍN M., M.; CASTRO C., B.L.; GAITÁN B., A.L.; PREISIG, O.; WINGFIELD, B.D.; WINGFIELD, M.J. Relationships of *Ceratocystis fimbriata* isolates from colombian coffee-growing regions based on molecular data and pathogenicity. *Journal of phytopathology* 151(7/8):395-405. 2003.
25. MORENOR., L.G. Nueva variedad de café de porte alto resistente a la roya del café. *Cenicafé* 53(2):132-143. 2002.
26. OBREGÓN, B.R. Un amarillamiento del café: relación con el "Mal de tinta" "La macana". *Boletín agrícola* 9(219/220):725-732. 1936.
27. PONTIS, R.E. A canker disease of the coffee tree in Colombia and Venezuela. *Phytopathology* 41(2):179-184. 1951.
28. PRAKASH, N.S.; MARQUES, D.V.; VARZEA, V.M.; SILVA, M.C.; COMBES, M.C.; LASHERMES, P. Introgression molecular analyses of a leaf rust resistance gene from *Coffea liberica* into *C. arabica* L. *Theoretical and applied genetics* 109(6):1311-1317. 2004.
29. ROUX, J.; WINGFIELD, M.J. *Ceratocystis* species on the African continent, with particular reference to *C. albifundus*, an African species in the *C. fimbriata* sensu lato species complex. p. 131-139. En: SEIFERT, K.A.; WINGFIELD, M.J. *Ophiostomatoid fungi: Expanding frontiers*. Utrecht : CBS-KNAW biodiversity centre, 2013. 322 p.
30. SAS Statistical software SAS/STAT Users's Guide, Version 9.2. North Carolina : SAS Institute, 2010.
31. SCHIEBER, E.; ECHANDO, E. El cáncer de los cafetos en Guatemala provocado por *Ceratocystis fimbriata*. *Revista AGA* 3(39):20-21. 1961.
32. VAN DER V., H. State of the art of developing durable resistance to biotrophic pathogens in crop plants, such as coffee leaf rust. p. 1-29. En: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E.M.; PINTO, V.M. *Durable resistance to coffee leaf rust*. Viçosa : UFV, 2005.
33. VAN DER V., H. The cup quality of disease resistant cultivars of Arabica coffee (*Coffea arabica*). *Experimental agriculture* 45:323-332. 2009.
34. VAN W., M.; WINGFIELD, B.D.; MARIN, M.; WINGFIELD, M.J. New *Ceratocystis* species infecting coffee, cacao, citrus and native trees in Colombia. *Fungal diversity* 40:103-117. 2010.
35. WAGNER, M.; BETTENCOURT, A.J. Inheritance of reaction to *Hemileia vastatrix* Berk et Br. p. 1960-1965. En: WAGNER, M.; BETTENCOURT, A.J. *Coffea arabica* L. progress report. Oeiras : Coffee rust research center, {1971}.
36. WINGFIELD, B.D.; VAN W., M.; ROOS, H.; WINGFIELD, M.J. *Ceratocystis*: Emerging evidence for discrete generic boundaries. p. 57-64. En: SEIFERT, K.A.; WINGFIELD, M.J. *Ophiostomatoid fungi: Expanding frontiers*. Utrecht : CBS-KNAW biodiversity centre, 2013. 322 p.