

EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO DEL HONGO *Verticillium lecanii*, SOBRE *Hemileia vastatrix*, EN CONDICIONES DE INVERNADERO Y DE CAMPO

Patricia Eugenia Vélez-A.*, Adriana Gisela Rosillo-G.**

RESUMEN

VELEZ A., P.E.; ROSILLO G., A.G. Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix* en condiciones de invernadero y de campo. *Cenicafé (Colombia)* 46(1): 45-55 1995.

En condiciones de invernadero se evaluó el efecto de tres aislamientos del hongo *Verticillium lecanii* sobre los períodos de incubación y latencia, y el grado de infección de *Hemileia vastatrix*, raza XVII (v1v2v5). Se asperjaron diez plántulas de café var. Caturra de tres meses de edad, con una suspensión de cada aislamiento y se mantuvieron en cámara húmeda por un período de 48 h a 25°C. Luego se inocularon con 20×10^5 urediniosporas/ml. El aislamiento de *V. lecanii*, Cen 004 actuó como protector prolongando la ocurrencia del período de incubación en cinco días y redujo el grado de infección por roya. En el campo se evaluó el efecto de *V. lecanii* Cen 004 aplicando una concentración de 30×10^5 propágulos/ml en árboles de *Coffea arabica* var Caturra de un año y medio de edad, 48 horas antes de la inoculación de la roya. La ocurrencia del período de incubación en los árboles tratados tardó 34 días y en el testigo sólo 25. El período de latencia ocurrió 8 días después del de incubación. En los árboles tratados con *V. lecanii*, Cen 004, no hubo efecto marcado a través del tiempo sobre el porcentaje de infección por roya pero se presentó una disminución del número de lesiones de roya por árbol.

Palabras claves: Roya del cafeto, control biológico, hiperparasitismo, *Verticillium lecanii*.

ABSTRACT

The effect of three isolates of the fungus *Verticillium lecanii* on the incubation and latent periods, and the degree of infection of *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. was evaluated in greenhouse conditions. Ten three month old coffee plants var. Caturra were sprayed with a suspension of each isolate of the fungus and taken to the humidity chamber for 48 h at 25°C. Afterwards, coffee plants were sprayed with a suspension of 20×10^5 urediniospores/ml of *H. vastatrix*. The isolates of *V. lecanii* Cen 004 showed some protection of the disease as the incubation and latent periods were delayed for 5 days and the degree of infection of rust was reduced with respect to the control and the other two isolates. The effect of the fungus *V. lecanii* was also evaluated in field conditions: 18 month old coffee trees, var. Caturra were sprayed with 30×10^5 propagules/ml of the fungus, 48 hours before the rust inoculation. The incubation period was 34 days as compared to 25 days for controls. The latent period occurred 8 days after the incubation period. Coffee trees sprayed with the isolate of *V. lecanii* Cen 004 showed no marked effect on the infection percentage of rust during the experiment, but the number of rust lesions per tree was reduced on treated trees.

Keywords: Coffee rust, biological control, hyperparasitism, *Verticillium lecanii*

* Investigador Científico I. Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas.
** Auxiliar IV de Investigación. Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas

La roya del cafeto, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. puede considerarse como una de las enfermedades más importantes de este cultivo en el mundo. En los últimos años este hongo se ha diseminado a casi todas las áreas productoras de café en América, conformadas en su mayor parte por variedades susceptibles de *Coffea arabica* (4).

Aún cuando la roya del cafeto puede ser controlada efectivamente mediante aplicaciones repetidas de fungicidas a base de cobre, existe evidencia que su uso puede aumentar la severidad del ataque del minador de la hoja del café *Perileuoptera coffeella* y de la arañita roja *Oligonychus ilicis* (17,18).

El uso de estos métodos convencionales para el control de enfermedades en plantas, ha originado problemas tales como la resistencia de patógenos a los fungicidas y la presencia de residuos de plaguicidas en las plantas y el ambiente. Lo anterior, sumado a los altos costos del control químico, ha despertado el interés por los métodos alternativos de control, los cuales se muestran promisorios debido a que no alteran el equilibrio biológico (1,2,3).

En relación con los agentes biológicos de control, existe suficiente interés por el estudio de micoparásitos, tales como el hongo *Verticillium* sp., hiperparásito de la roya del cafeto (4). Este hongo tiene amplia distribución en áreas tropicales y subtropicales, en las cuales se encuentra parasitando insectos, arañas, hongos uredinales, mildes pulverulentos y Basidiomycetos. Además, se ha registrado como saprófito en el suelo, alimentos y material vegetal (5,7,8). Las conidias del hongo requieren de agua libre para su germinación y alta humedad relativa para el crecimiento y esporulación (11). Ha mostrado eficiencia en el control de la roya del frijol, en ensayos de invernadero realizados en Alemania (9). Sin embargo, no se conocen registros acerca de la

eficiencia de las aplicaciones de hongo, como agente de control de *H. vastatrix* en condiciones de campo. Algunos estudios relacionados con el mecanismo de hiperparasitismo del hongo *V. lecanii* en laboratorio e invernadero han sido publicados (4,13,20), incluyendo el registro en el microscopio electrónico de la interacción hiperparásito - patógeno (16).

Experimentos en laboratorio e invernadero llevados a cabo en el Centro Nacional de Investigaciones de Café, demostraron la presencia de metabolitos en el extracto filtrado del hongo *V. lecanii*, de tal forma que el extracto aplicado a plantas en invernadero con posterior infección por roya, prolongó los períodos de incubación y latencia de *H. vastatrix*, y disminuyó los índices de infección. Así mismo, se confirmaron alteraciones en el proceso de germinación de urediniosporas de roya por efecto del extracto metabólico de *V. lecanii*. Dichos trabajos permitieron evidenciar el efecto protector del extracto de *V. lecanii* contra la infección por roya (15).

Trabajos posteriores en laboratorio realizados en Cenicafé, mostraron una inhibición total de la germinación y cambios morfológicos en las urediniosporas de roya, por efecto del extracto metabólico del hongo *V. lecanii*. El seguimiento macro y microscópico del efecto de *V. lecanii* sobre el desarrollo de lesiones de la roya del cafeto, evidenció la acción erradicativa de *V. lecanii* y su inocuidad en plantas sanas, factores fundamentales en un microorganismo usado en programas de control biológico (22).

El presente estudio tuvo como objetivos fundamentales, determinar en condiciones de invernadero el efecto de diferentes aislamientos de *V. lecanii* sobre los períodos de incubación y latencia y el grado de infección de *H. vastatrix* Berk. y Br. raza XVII y evaluar en el campo, el efecto protector de *V. lecanii* licuado, sobre la roya del cafeto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevó a cabo en el Centro Nacional de Investigaciones de Café Cenicafé, localizado a 1310 msnm, 5° 00' latitud Norte y 75° 36' longitud Oeste, en el Municipio de Chinchina, Caldas, Colombia (6).

ETAPA DE INVERNADERO. Para este experimento se utilizaron 40 plántulas de café variedad caturra de tres meses de edad y tres aislamientos del hongo *V. lecanii*. Se seleccionaron diez plántulas por tratamiento y dos hojas por planta. Los tratamientos fueron los siguientes: suspensión de urediniosporas de *H. vastatrix* de concentración equivalente a 20×10^5 urediniosporas por ml (testigo) (tratamiento 1); Suspensión de 150 ml de la formulación en polvo de *V. lecanii* Microgermin F, activa contra la mosca blanca, de concentración 22×10^6 conidias por ml (tratamiento 2); Suspensión de 150 ml de la formulación en polvo de *V. lecanii* Microgermin A, activa contra áfidos, de concentración 30×10^6 conidias por ml (tratamiento 3); Cultivo licuado de *V. lecanii*, Cenicafé (Cen) 004 de concentración 35×10^4 UFC (Unidades formadoras de colonia) por ml (tratamiento 4).

Preparación de la suspensión de urediniosporas de *H. vastatrix*. La suspensión se preparó en agua destilada mediante la adición de urediniosporas obtenidas de lesiones de roya presentes en hojas de plántulas inoculadas en el laboratorio de Patología de Cenicafé y trasladadas posteriormente a condiciones de invernadero. La preparación del inóculo de roya y el control de la concentración de urediniosporas se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Leguizamón (14).

Obtención del inóculo de *V. lecanii*. El aislamiento de *V. lecanii*, Cen 004, aislado de lesiones de roya del café, se cultivó en caldo Sabouraud dextrosa y al cabo de 15 días de crecimiento del hongo, con alternancia de 12

horas de luz y 12 de oscuridad, a una temperatura promedio de 24°C, se obtuvo un micelio blanco algodonoso en toda la superficie del medio. El cultivo licuado del hongo (micelio y conidias) fue obtenido asépticamente y se determinó la concentración de UFC por ml, mediante el método de siembra en la superficie del agar- Sabouraud dextrosa, de alícuotas tomadas de diluciones sucesivas de la suspensión inicial del hongo en el caldo Sabouraud-dextrosa (12).

Evaluación del efecto protector. Se inocularon inicialmente dos hojas por planta de los tratamientos dos, tres y cuatro con 3,4 ml de la suspensión de conidias del hongo y se dejaron en cámara húmeda durante 48 h a 25°C con humedad a saturación. Posteriormente, se inocularon todas las plántulas con la suspensión de urediniosporas de *H. vastatrix* y nuevamente se colocaron en cámara húmeda bajo las condiciones citadas. Todas las inoculaciones se realizaron con un aspersor manual devilbiss. Luego, las plántulas se llevaron al invernadero, y se inició el registro del tiempo de aparición de los primeros síntomas de la roya en cada uno de los tratamientos.

Análisis estadístico. Los tratamientos se evaluaron bajo un diseño de clasificación simple, teniendo en cuenta las siguientes variables:

-Grado de infección por roya, la cual fue evaluada mediante la escala de Eskes (3) que correlaciona el número de lesiones con el porcentaje de área enferma en hojas individuales e incluye grados de 0 a 9.

-Grado de esporulación, la cual fue evaluada mediante la siguiente escala :

- (0) si no hay lesiones esporuladas en la hoja.
- (-) si el porcentaje de lesiones esporuladas es menor del 50%.
- (+) si el porcentaje de lesiones esporuladas es mayor del 50%.

En cada período de lectura se aplicó la estadística descriptiva (media, desviación estándar y coeficiente de variación) del grado medio de infección y el grado de esporulación para cada uno de los tratamientos. Así mismo, se realizó el análisis de varianza y se comparó la diferencia entre tratamientos mediante la prueba de Duncan con un $\alpha = 0,05$, para la variable grado medio de infección.

ETAPA DE CAMPO. Las pruebas en el campo se realizaron en un cafetal de la variedad caturra, a libre exposición solar, de un año y tres meses de edad, localizado en la Estación Central Naranjal (4° 59' latitud Norte, 75° 39' longitud Oeste y 1400 m.s.n.m.)(6), y sembrado a 2x1 metros. Se seleccionaron al azar 32 árboles para el testigo y 22 para el tratamiento con el cultivo licuado de *V. lecanii* y en cada uno tres ramas de la parte alta y tres de la parte media que aparentemente no estuvieran afectadas por la roya. Se determinó la infección inicial por roya en el lote considerando el número de hojas con roya del total de hojas de los árboles seleccionados, de modo que se registró un nivel de infección por roya del 30%, al momento de la aplicación del cultivo licuado de *V. lecanii* (Tabla 1).

Por cada árbol, se asperjaron 23,4 ml del cultivo licuado del hongo con una concentración de 30×10^5 propágulos por ml con el equipo de presión neumática, marca Solo 455 y la boquilla TX3. A las 48 horas de la aplicación del hongo *V. lecanii* al tratamiento con el

TABLA 1. Evaluación inicial del porcentaje de infección por roya en var. Caturra, en campo. Cenicafé, Naranjal, Chinchiná.

Variable	Valor promedio	C. V. (%)
Total árboles	54,00	-
Total ramas/árbol	33,11	12,66
Ramas con roya/árbol	10,26	41,23
% infección/árbol	30,30	35,81

cultivo licuado de *V. lecanii*, se asperjó a todos los árboles (Testigo y Tratamiento), una suspensión de *H. vastatrix* con una concentración de 20×10^5 urediniosporas por ml y se colocó una bolsa plástica con papel humedecido sobre cada rama durante 36 horas, con el propósito de suministrar condiciones de humedad adecuadas para la germinación de *H. vastatrix*. La aspersión de las suspensiones de los dos hongos se realizó a las 5 pm, con el fin de obviar los efectos nocivos de la radiación solar global sobre estos agentes biológicos.

Evaluación. Se realizó una evaluación semanal, durante un período de dos meses. En la última evaluación se calificó además el total de lesiones de roya por hoja en todos los árboles, seleccionando 5 hojas al azar por rama tratada.

Análisis estadístico. Los tratamientos se evaluaron bajo el esquema de clasificación simple teniendo en cuenta las variables porcentaje de infección aparente e índice de defoliación. En cada período de lectura se aplicó la estadística descriptiva (media, desviación estándar, coeficiente de variación) del porcentaje de infección aparente e índice de defoliación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ETAPA DE INVERNADERO. Con relación al tiempo de ocurrencia de los períodos de incubación, en el testigo ocurrió a los 18 días después de la inoculación de *H. vastatrix*, mientras que en las plantas tratadas con *V. lecanii* (formulaciones comerciales y cultivo licuado) ocurrió a los 23 días. La ocurrencia del período de latencia no se vio muy afectada por el tratamiento con *V. lecanii* (Tabla 2, Figura 1).

El grado medio de infección por roya fue menor en las plántulas tratadas con la suspensión de *V. lecanii*, Cen 004 y hubo diferencias significativas según la prueba de Duncan con un $\alpha = 0,05$ entre el testigo y todos los tratamientos con *V. lecanii*, pero no entre las

TABLA 2. Efecto del cultivo licuado de diferentes cepas de *Verticillium lecanii* sobre la aparición del Período de incubación (PI) y el Período de latencia (PL) de *H. vastatrix*. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

Evaluación (Días después de la inoculación)	Tratamiento	% de hojas con lesiones no esporuladas	% de hojas con lesiones esporuladas
27	1	70,0	30,0
	2	65,0	35,0
	3	80,0	20,0
	4	72,2	27,8
29	1	15,0	85,0
	2	20,0	80,0
	3	10,0	90,0
	4	44,4	55,6
32	1	10,0	90,0
	2	0,0	100,0
	3	0,0	100,0
	4	5,5	94,5
34	1	10,0	90,0
	2	0,0	100,0
	3	0,0	100,0
	4	5,5	95,5
36	1	10,0	90,0
	2	0,0	100,0
	3	0,0	100,0
	4	0,0	100,0
39	1	10,0	90,0
	2	0,0	100,0
	3	0,0	100,0
	4	0,0	100,0
41	1	0,0	100,0
	2	0,0	100,0
	3	0,0	100,0
	4	0,0	100,0

formulaciones comerciales del hongo (Tabla 3, Figura 2).

El aislamiento *V. lecanii*, Cen 004 actuó como protector prolongando la ocurrencia del período de incubación de la roya por un período de cinco días. Aún cuando no se observó un efecto marcado sobre el período de latencia, su ocurrencia se prolongó por corto tiempo cuan-

do las plantas fueron tratadas previamente con este aislamiento de *V. lecanii* (Figura 1).

Los resultados obtenidos en la etapa de invernadero coinciden con los registrados por Grabski y Mendgen (9), en los cuales el hongo *V. lecanii* utilizado como agente de control de *Uromyces appendiculatus* var *appendiculatus*, agente causante de la roya del fríjol, mostró

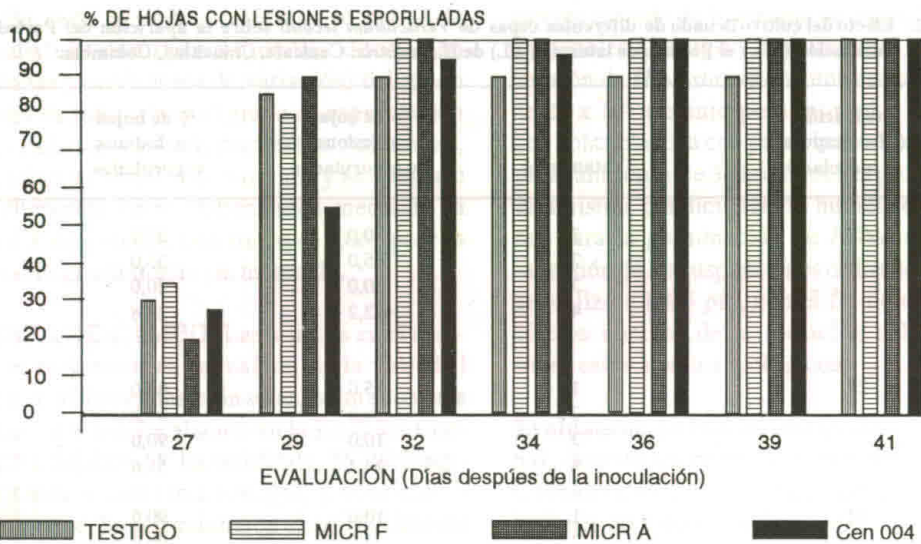


Figura 1. Efecto de *V. lecanii* sobre el período de latencia de *H. vastatrix*

eficiencia en el control de este patógeno en condiciones controladas. Además, Spencer y Atkey (21), registraron una reducción en el grado de infección hasta del 50% de *Uromyces dianthi*, roya del clavel y de *Puccinia recondita*, roya del trigo, en presencia del hiperparásito *V. lecanii* en condiciones de invernadero.

V. lecanii es capaz de penetrar las urediniosporas de la roya del frijol. La hifa entra a través de los poros germinales de las urediniosporas o forma estructuras similares a apresorios que le permiten penetrar la pared celular (10). Además, se han detectado niveles de actividad enzimática de lipasas, proteasas, β -1,3 glucanasas y quitinasas en cultivos de *V. lecanii* filtrados. Dichas enzimas facilitan la degradación de la pared celular de las urediniosporas, la cual está compuesta principalmente por β -glucanos y quitina. Es este el mecanismo de acción para lograr la reducción de la infección por roya en condiciones de invernadero y campo (19).

Leguizamón *et al.* (15) estudiaron en condiciones de invernadero el efecto del extracto de

V. lecanii sobre los períodos de incubación y latencia de *H. vastatrix* en plántulas de café. Dichos resultados indican que el filtrado de *V. lecanii* prolonga los períodos de incubación y de latencia de *H. vastatrix*. En las plantas asperjadas previamente con el extracto de *V. lecanii*, el período de incubación se prolongó en promedio cinco días, lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, y el de latencia siete días en relación con el testigo. Así mismo, se estudió el efecto del extracto de *V. lecanii* sobre el grado de infección de *H. vastatrix* en plántulas de café y se encontró que el filtrado de *V. lecanii* afectó a través del tiempo el desarrollo de *H. vastatrix*.

La reducción del grado de infección de *H. vastatrix* por efecto de los extractos metabólicos de *V. lecanii* ha sido registrada previamente por algunos autores, con otros géneros de hongos hiperparásitos de *H. vastatrix* (7).

Eskes *et al.* (4) encontraron en aislamientos del hongo *V. lecanii* provenientes de insectos, una acción hiperparasítica y efectos antibióticos similares a aquellos encontrados en los aisla-

TABLA 3. Grado medio de infección (GMI) por roya en plántulas de café var. Caturra tratadas previamente con diferentes aislamientos de *Verticillium lecanii*. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

Tratamiento		Evaluación							
		1	2	3	4	5	6	7	
Testigo	GMI	5,0	5,4	6,5	6,7	7,1	7,2	7,4	a*
	CV	19,76	17,89	15,46	13,64	9,92	9,33	10,47	
Microgermin F	GMI	3,3	3,9	4,7	4,8	5,6	5,7	5,8	b
	CV	14,17	15,15	16,78	17,79	13,18	12,54	10,12	
Microgermin A	GMI	3,3	4,0	5,0	5,3	6,0	6,0	6,1	b
	CV	17,30	13,18	12,73	13,49	11,98	11,98	12,70	
<i>V. lecanii</i> Cenicafé 004	GMI	2,5	3,2	3,7	4,2	4,1	4,6	4,7	c
	CV	42,01	20,69	23,96	19,74	18,61	17,77	18,95	

* Tratamientos seguidos por letras diferentes difieren estadísticamente. Duncan $\alpha = 0,05$
CV = Coeficiente de Variación (%)

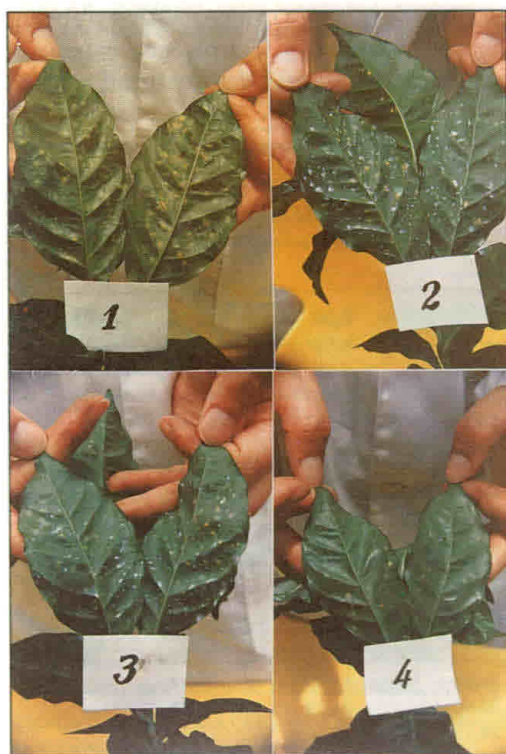


Figura 2. Efecto de *V. lecanii* sobre el grado medio de infección por roya. 1. Testigo, 2. *V. lecanii* Microgermin F más roya, 3. *V. lecanii* Microgermin A más roya, 4. *V. lecanii* CEN 004 más roya.

mientos de *V. lecanii* obtenidos a partir de *H. vastatrix*. Dicho comportamiento podría sugerir un bajo nivel de especialización en relación con las especies hospedantes de las cuales fueron obtenidos los aislamientos. Sin embargo, es posible encontrar aislamientos del hongo *V. lecanii* más adaptados específicamente a la roya del cafeto, que podrían mostrar una mayor supervivencia bajo condiciones de campo.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren cierto grado de especialización del aislamiento de *V. lecanii*, Cen 004 a *H. vastatrix*, debido a un mayor control de la enfermedad, en relación con el obtenido por los aislamientos de las formulaciones comerciales MICROGERMIN A y MICROGERMIN F.

ETAPA DE CAMPO. En relación con el tiempo de aparición de los períodos de incubación y de latencia de roya, en cada uno de los tratamientos se observó que el período de incubación en los árboles testigo ocurrió 25 días después de la inoculación de la suspensión de roya, mientras que en los árboles tratados con el cultivo licuado ocurrió a los 34 días. El período de latencia para los dos tratamientos ocurrió nueve

días después de presentarse el período de incubación. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la etapa de invernadero, en los cuales se observó que el cultivo licuado de *V. lecanii*, Cen 004 aplicado como protector, prolonga la ocurrencia del período de incubación pero no la del período de latencia.

En los árboles tratados con *V. lecanii*, Cen 004 se observaron lesiones con un menor grado de esporulación y algunas no continuaron su desarrollo lo que evidencia el efecto erradicativo del hongo *V. lecanii* sobre *H. vastatrix* Berk. y Br, y está de acuerdo con estudios previos realizados en laboratorio (22). El cultivo licuado del hongo no mostró un efecto marcado a través del tiempo, en cuanto a la reducción del porcentaje de infección por roya, lo cual se verifica con la tasa media de infección por día (aumento de infección) (Tablas 4 y 5). No obstante, en la evaluación final se presentó una disminución marcada del número de lesiones de roya por

árbol (Figura 3) y los tratamientos mostraron diferencia estadística al 5%, a favor del tratamiento con el cultivo licuado de *V. lecanii* Cen 004 (Tabla 6). Lo anterior explica la disminución de la presencia de roya, por efecto del hongo *V. lecanii* Cen 004. La defoliación fue menor del 50% para los dos tratamientos (Tabla 4). Dicho comportamiento es opuesto al registrado por Silveira y Rodriguez (20), quienes observaron que los filtrados del hongo *V. hemileiae* Bour (*V. lecanii*) aplicados en hojas de café con y sin roya, causaban desecación de los tejidos de la hoja y aceleraban su caída.

Trabajos previos en este sentido, llevados a cabo en Cenicafé (22), demostraron la inocuidad del hongo *V. lecanii* al café y su potencial para el uso como control biológico de la roya.

Experimentos de campo realizados con los hongos *V. lecanii* y *V. leptobactrum* para el control de la roya del café en Brasil, muestra-

TABLA 4. Porcentajes de infección aparente e índice de defoliación causados por *Hemileia vastatrix* en condiciones de campo. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

Tratamiento	Evaluación (días después de la inoculación)	Infección %	CV	Índice de defoliación	CV
Testigo	Evaluación inicial	0,00	-	0,00	-
	11	0,00	-	0,00	-
	27	4,77	138,57	4,58	137,72
	34	20,93	79,32	20,07	78,51
	41	27,24	54,49	25,61	53,47
	48	32,07	44,60	29,59	43,29
	55	35,01	43,86	32,07	42,33
	62	36,55	40,14	33,00	38,39
	69	36,78	36,52	32,47	34,80
<i>V. lecanii</i> +roya	Evaluación inicial	0,00	-	0,00	-
	11	0,00	-	0,00	-
	27	2,73	81,28	2,61	81,25
	34	12,13	48,26	11,66	48,30
	41	18,47	36,96	17,49	38,04
	48	22,97	33,66	21,79	33,57
	55	29,78	29,15	28,10	28,76
	62	34,09	26,94	32,02	26,25
	69	35,25	24,16	32,89	23,52

CV = Coeficiente de Variación (%).

TABLA 5. Tasa media de infección diaria de *Hemileia vastatrix* en plántulas de var. Caturra, en campo. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

Tratamiento	\hat{B}	$S(\hat{B})$	r^2
Testigo	0,6263	0,07979	0,88
Cultivo licuado de <i>V. lecanii</i> 004	0,5708	0,0668	0,89

$t_c^{(2)} = 1,409$

$S(\hat{B})$ = Error de estimación

\hat{B} = Tasa media de infección por día (%)

r^2 = Coeficiente de determinación

Las tasas son iguales estadísticamente, según estadístico de prueba t al 5%.

TABLA 6. Efecto del cultivo licuado de *V. lecanii* sobre el número medio de lesiones de roya. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

Tratamiento	\bar{x}	n	CV(%)
Testigo	106,28125	32	55,4815583
Cultivo licuado de <i>V. lecanii</i> 004	61,1818182	22	30,178832

$t_c^{(3)} = 4,04^*$

CV: Coeficiente de Variación (%)

* : Estadístico de prueba significativo

ron un potencial limitado respecto al uso de estos agentes en condiciones de campo (4).

Los resultados obtenidos permiten concluir que el cultivo licuado de *V. lecanii* Cen 004 causó mayor reducción en el grado de infección por roya que las formulaciones comerciales y actuó como protector de la enfermedad, prolongando la ocurrencia del período de incubación en condiciones de invernadero.

Entre los aislamientos de *V. lecanii* existe un bajo nivel de especialización con respecto al

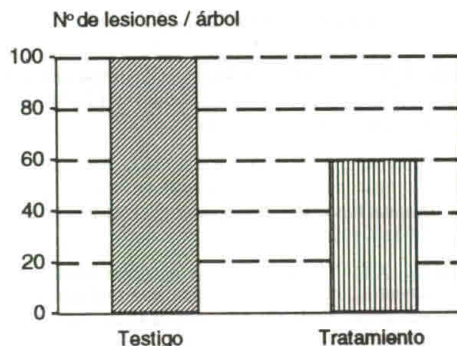


Figura 3. Efecto de *V. lecanii* Cen 004 sobre el número de lesiones de roya por árbol

hospedante, sin embargo, *V. lecanii* Cen 004 está mejor adaptada a *H. vastatrix*.

En cuanto a la respuesta del hongo en condiciones de campo, el cultivo licuado de *V. lecanii* Cen 004 no evitó la aparición de la enfermedad pero redujo el número de lesiones por árbol.

El cultivo licuado de *V. lecanii* aplicado a hojas de café infectadas previamente con la enfermedad, no aceleró la caída de las hojas.

Si se tiene en cuenta la respuesta obtenida mediante una sola aplicación de *V. lecanii* para el control de la roya en nuestro ecosistema cafetero, se sugiere la integración de este agente de biocontrol con otras medidas utilizadas periódicamente para el control de dicha enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr Jairo E. Leguizamón de la Disciplina de Fitopatología por su colaboración y asesoría en la elaboración del manuscrito. A la Dra. Esther Cecilia Montoya R. por su asesoría en la realización del análisis estadístico. Al auxiliar Carlos Eduardo González de la Disciplina de Fitopatología por su colaboración en las evaluaciones de laboratorio y campo.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, K.F.; COOK, R.J. Biological control of plant pathogens. San Francisco (Estados Unidos). W.H. Freeman and Company. 1974. 433 p.
2. BLAKEMAN, J.P.; FOKKEMA, N.J. Potential for biological control of plant disease on the phylloplane. Annual Review of Phytopathology (Estados Unidos). 20:167-192. 1989.
3. ESKES, A.B. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Netherland Journal of Plant Pathology. 88(4):127-147. 1982.
4. ESKES, A.B.; MENDEZ M.D.L.; ROBBS, C.F. Laboratory and field studies on parasitism of *Hemileia vastatrix* with *Verticillium lecanii* and *V. leptobactrum*. Café Cacaco Thé (Francia) 35(4):275-281. 1991.
5. EVNAS, H.C.; SAMSON, R.A. The genus *Verticillium*: Taxonomic problems in species with invertebrate host. In. Samson, pathology. Wageningen (The Netherlands). Society of Invertebrate Pathology. 1986. p.186-189.
6. FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. Chinchiná (Colombia). Anuario Meteorológico. Chinchiná (Colombia), Cenicafé, 1990. 354p.
7. FORRER, H.R. Possibilities of the utilization of hyperparasites and application of natural compounds for the control of rusts. In: Lucha contra la roya del café; informe sobre un seminario de studios en Paipa (Colombia), Octubre 1979. Eschbron (Alemania), Agency for Technical Cooperation, 1979. p. 63-70.
8. GAMS, W. *Cephalosporium*artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Stuttgart (Alemania) Gustav Fisher Verlag. 1971.
9. GRABSKI, G.C.; MENDGEN, K. The use of *Verticillium lecanii* as a biological control agent against the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* in the field and in the glasshouse. Phytopathologische Zeitschrift (Alemania). 113:243-251. 1985.
10. GRABSKI, G.C.; MENDGEN, K. Die Parasitierung des Bohnenrastes *Uromyces appendiculatus* var *appendiculatus* durch den Hyperparasiten *Verticillium lecanii*: untersuchungen zur Wirt. Erkennung, Penetration und Abbau der Rostpilzsporen. Journal of Phytopathology (Alemania) 115 (2):116-123. 1986.
11. HALL, R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: Burges, H.D. Ed. Microbial control of pests and plant diseases. 1970-1980. London (Inglaterra) Academic Press. 1981. 483 p.
12. HARRISON, R.D.; GRADENR, W.A. Ocurrance of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana*. In: Pecan Orchard Soils in Georgia. 26:3, 361-366. 1991.
13. LEAL, J.A.; VILLANUEVA, J.R. Fungilystic activity of species of *Verticillium*. Science (Estados Unidos) 136(3517):715-716. 1962.
14. LEGUIZAMON C., J.E. Contribution à la connaissance de la resistance incomplete du cafeier à *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Montpellier (Francia). Ecole Nationale Superieure Agronomique de Montpellier. 1983. 183p. (Tesis Docteur Ingenieur en Agronomie).
15. LEGUIZAMON C., J.E.; VELEZA, P.E.; GONZALEZ S., A. Efecto de extractos metabólicos de *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*. Cenicafé (Colombia) 40(2):31-39. 1989.
16. LOCCI, R.; FERRANTE, M.; RODRIGUEZ, C.J. Studies by transmission and scanning electron microscopy on the *Hemileia vastatrix*-*Verticillium hemileiae* association. Revista di Patologia Vegetale (Italia). 7(2): 127-140. 1971.
17. PAULINI, A.E.; MATIELLO, J.B.; PAULINO, A.J. Oxicleto de cobre como fator de aumento da população do bicho mineiro *Perileucoptera coffeella* Guer Men. 1842. In: Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras (Portugal), 17-20 de Outubro 1983. Comunicacoes p. 623-626.
18. PAULINI, A.E.; MIGUEL, A.E.; MANSK, Z. Efeito de fungicidas sobre o aumento da população do acaro vermelho *Oligonychus ilicis* (Mc Gregor, 1919) em cafeeiros. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 3. Curitiba (Brasil), 18-21 nov. 1975. Resumos. Rio de Janeiro (Brasil), IBC-GERCA, 1975. p 38-40
19. SAKSIRIRAT, W.; HOPPE, H. Secretion of extracellular enzymes by *Verticillium psalliotae* Treschow and *Verticillium lecanii* (Zimm) Viégas during growth on uredospores of soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd) in liquid cultures. Journal of Phytopathology (Alemania) 131(2):161-173. 1991.

20. SILVEIRA, H.L.; RODRIGUEZ, C.L. Bursting of rust uredospores caused by *Verticillium hemileiae* Bour. culture filtrates. *Agronomía Lusitana* (Portugal). 33 (1-4):391-396. 1972.
21. SPENCER, D.M.; ATKY, P.T. Parasitic effects of *Verticillium lecanii* on two rust fungi. *Transactions of British Mycological Society* (Inglaterra) 77(3):535-542.1981.
22. VELEZ A., P.E.; Estudio macro y microscópico del efecto de *Verticillium lecanii* sobre el desarrollo de lesiones de la roya. *Cenicafé* (Colombia) 42(1) 13-20. 1991.