



IHCAFE
INSTITUTO HONDUREÑO DEL CAFÉ

No. 5 JULIO 2019

BOLETÍN CIENTÍFICO
TECNIHCAFE

Gerencia Técnica
Departamento de Investigación y Desarrollo

CARACTERIZACIÓN DE LA RESISTENCIA HORIZONTAL A LA ROYA DEL CAFÉ (*Hemileia vastatrix* berk. & br.) DE LA VARIEDAD LEMPIRA (HÍBRIDO DE TIMOR 832/1 X CATURRA) Y DEL HÍBRIDO F1 CENTROAMERICANO (T5296 X RUME SUDAN)





**Cristian Yizard Lizardo
Chavez**¹

**Alejandro David Paz
Sabillón**²

**Diana Alejandra Herrera
Zelaya**³

**Hildebrando Tróchez
Fernández**⁴

Edición
VICTOR M. ZELAYA
Fotografía
ARCHIVO IHCAFE
Diagramación
CESAR MARADIAGA

www.ihcafe.hn

1: M.Sc. en entomología, coordinador de unidad de vigilancia epidemiológica, Instituto Hondureño del Café IHCAFE; 2: Ing. Agrónomo in fieri Universidad de San Pedro Sula, USAP; 3: Lic. En biología, técnico laboratorista laboratorio fitoprotección IHCAFE; 4: Bach. técnico asistente unidad de vigilancia epidemiológica IHCAFE. Email contacto: clizardo@ihcafe.hn

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la resistencia horizontal a la roya del café de la variedad Lempira y el híbrido F1 Centroamericano, genotipos con resistencia vertical suplantada recientemente en Honduras. El experimento tuvo 3 tratamientos (genotipos de café) T1; Pacas, como testigo tradicionalmente susceptible, T2; variedad Lempira y T3; híbrido F1 Centroamericano, 6 bloques por tratamiento y 10 repeticiones (discos foliares) por cada bloque. Cada disco foliar fue inoculado con 0.1 mg de esporas de *H. vastatrix* (V1,V2,V4,V5,V6,V7,V8,V10,?), con una viabilidad de 8% y una equivalencia de 14,000 uredosporas, después de su inoculación se mantuvieron en condiciones controladas de laboratorio (22 ± 2 C°, HR 90%, fotoperiodo 12 horas). Los componentes de resistencia horizontal o variables medidas fueron ocho, periodo de incubación (PI), periodo de latencia (PL), número de lesiones (NL), número de lesiones esporuladas (NLE), producción de uredosporas (PU), grado de esporulación (según escala Tamayo *et al.*, 1995), razón de infección (RI) y razón de esporulación (RE), la evaluación de estos componentes fue realizada 30 días después de las inoculaciones con excepción de PI e PL que fueron evaluados diariamente, a partir del décimo día después de la inoculación hasta la constatación de los primeros síntomas y señales en las hojas. Se aplicó la prueba de Duncan al 5% de significancia para la comparación de las medias de los tratamientos. En el periodo de incubación hubo diferencias significativas en los tres tratamientos, pues en función de tiempo (días) la variedad Pacas presentó un PI de 14.83, la variedad Lempira una media de 17.70 y el híbrido F1 Centroamericano una media de 23.22 días. Mientras en el periodo de latencia la variedad Pacas fue estadísticamente diferente a los otros dos genotipos de café, la variedad Lempira y el Híbrido F1 Centroamericano no presentaron diferencias significativas entre sí, los PL fueron 20.29, 26.42 y 28.11 días respectivamente. En cuanto a la producción de uredosporas la variedad Pacas presentó un mayor valor y fue estadísticamente diferente a la variedad Lempira y el híbrido F1 Centroamericano, estas últimas dos nuevamente no presentaron diferencias significativas entre sí. En cuanto al grado de esporulación de lesión según escala de Tamayo *et al.*, 1995 las notas obtenidas fueron superiores en la variedad Pacas y similares entre la variedad Lempira y el híbrido Centroamericano. Para la RI la variedad Lempira y Pacas no tuvieron diferencia entre si y la del Híbrido Centroamericano fue mucho menor, mientras para la RE se presentaron diferencias entre los tres materiales siendo la variedad Pacas la que presentó mayor valor, la variedad Lempira segunda en mayor valor y el híbrido Centro Americano el menor valor para este componente de RH. Los resultados indican que el híbrido Centroamericano presenta mayor resistencia horizontal, la variedad Lempira fue la segunda mayor en presentar este tipo de resistencia y la variedad Pacas utilizada como testigo fue la que menos presentó. Considerando los componentes de RH medidos, en el Híbrido Centro Americano y la variedad Lempira hay una menor capacidad de penetración y colonización del patógeno en los tejidos foliares y por lo tanto un menor progreso de esta enfermedad en función de tiempo, por lo tanto se pueden considerar como dos buenas opciones a pesar de la superación de la resistencia vertical de estos genotipos a la roya del café.





Palabras clave: *Hemileia vastatrix*, resistencia horizontal, periodo de incubación, periodo de latencia, componentes de resistencia.

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes problemas enfrentados por los caficultores es el daño causado por las enfermedades, entre las que destaca la roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br), que puede ocasionar pérdidas en la producción en el orden del 35% (Zambolim et al. 1997). Casi todas las variedades de café cultivadas son susceptibles a esta enfermedad y el control ha sido realizado casi exclusivamente por el uso de fungicidas. Esta práctica, además de aumentar los costos de producción, pone en riesgo el medio ambiente y la salud del hombre. Entre las alternativas de control eficientes se destaca el cultivo de variedades resistentes, la adopción de esta estrategia por los agricultores es simple, económica y reduce el uso de plaguicidas en la caficultura y ambiente. Sin embargo, la limitada base genética en las principales variedades de la región parece ser un problema, pues las razas de *Hemileia vastatrix* presentes parecen evolucionar y especializarse sobre estos materiales que tienen origen como fuente de resistencia los híbridos de Timor 832/1 y 832/2. Por lo que la superación de la resistencia de algunos cultivares con resistencia vertical en la región parece ser una tendencia pues ha ocurrido suplantación en genotipos como las variedades Lempira, H27, Oro Azteca y el híbrido F1 Centroamericano en Honduras (IHCAFE 2019) y Costa Rica 95 (ICAFE 2019) en Costa Rica. Una característica poco considerada es la resistencia horizontal, que en contrapartida a pesar de poder ser superada, cuando ocurre es pequeña y raramente constituye una pérdida completa. Mientras que una única alteración genética en el patógeno es suficiente para vencer la resistencia vertical, condicionada por un solo o pocos genes, son necesarias diversas alteraciones genéticas para que el patógeno venza la resistencia horizontal (Vanderplank, 1963). Una de las estrategias en el manejo integrado de la roya del café sería, por lo tanto, combinar la resistencia horizontal de las variedades mejoradas y un buen manejo agronómico. Sin embargo, para ello es necesario conocer el comportamiento de las variedades de café que han perdido resistencia vertical ante de razas de *H. vastatrix* más complejas, considerando que entre más resistencia horizontal posee una variedad mejor responderá ante las prácticas de manejo.

METODOLOGÍA

El experimento se realizó en el laboratorio de roya, en el centro de investigación y capacitación Jesús Aguilar Paz (CIC-JAP) del Instituto Hondureño del café, ubicado en la aldea de La Fe, Ilama, Santa Bárbara. Las plantas utilizadas se encontraban en etapa de vivero en invernadero bajo condiciones controladas, con una edad de 6 meses y una altura de 30 cm. Los genotipos de café utilizados para la experimentación fueron; variedad Pacas, variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano. La variedad Pacas fue utilizada como testigo por su escasa resistencia horizontal según datos preliminares obtenidos en el laboratorio de roya de IHCAFE. Para las inoculaciones se utilizó el aislamiento de *H. vastatrix* (V1,V2,V4,V5,V6,V7,V8,V10,?), el cual fue aislado y caracterizado en el laboratorio de roya. El experimento





consto de 3 tratamientos (genotipos de café), 6 bloques por tratamiento (gerbox acrílico) y 10 repeticiones (discos foliares) por cada bloque. Resumido de la siguiente forma: T1: Variedad Pacas como testigo susceptible inoculada con *H. vastatrix*; T2: Variedad Lempira inoculada con *H. vastatrix* y T3: Híbrido F1 Centroamericano inoculado con *H. vastatrix*.

Fue evaluada una hoja procedente de cada una de las 60 plantas de los tres genotipos de café. Hojas sanas, jóvenes y completamente expandidas fueron colectadas y humedecidas en papel toalla para que preservaran su integridad fisiológica e bioquímica. Las hojas cortadas de cada tratamiento se desinfectaron según metodología de Gilchrist-Saavedra *et al.*, 1995, se sumergieron durante 45 segundos en hipoclorito de sodio al 5% y luego se lavaron con agua destilada tres veces para eliminar exceso de cloro, una vez desinfectadas y secas las hojas, se cortaron los discos evitando las nervaduras debido a que estas no contienen estomas (punto de ingreso de la roya) (Eskes 1982). Los discos de hojas de café de 2 cm. de diámetro, con el envés hacia arriba fueron colocados en gerbox (recipiente acrílico de 11.3 cm de diámetro x 3.5 cm de altura), que contenía una esponja de 0.75 cm de espesor, empapada de agua destilada a capacidad de absorción y encima una malla plástica (Imagen n.º 1).

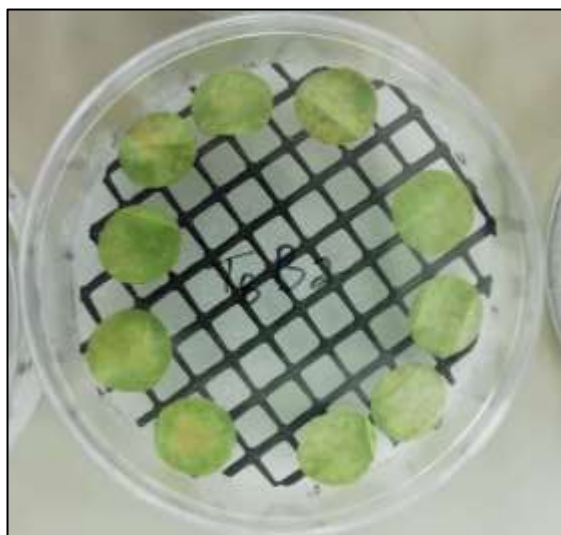


Imagen n.º 1. Gerbox acrílico con distribución de discos foliares.



Imagen n.º 2. Escala de notas para evaluación de resistencia del café a *H. vastatrix* (Tamayo *et al.*, 1995) 1,2 y 3 para resistencia vertical, 4,5 y 6 para resistencia horizontal.

Los 60 discos por tratamiento se marcaron y dividieron en 6 gerbox de diez discos cada uno, cada cámara o gerbox de cada tratamiento se identificara con un el número de tratamiento y el número de bloque o gerbox (del 1 al 6) colocándose una letra desde la A a la J por el lado de afuera del gerbox para identificar el disco foliar en la parte interior de este.

En la inoculación 0.1 mg de uredosporas con una viabilidad de 8% y una equivalencia de 14,000 unidades fueron colocados en cada uno de los discos y diseminados con una espátula de acero inoxidable, seguidamente atomizados con agua destilada, evitando el escurrimiento en los mismos, el agua colocada en el fondo del gerbox tuvo el objetivo mantener la humedad relativa superior a un 90%. Los gerbox fueron colocados en un cuarto de incubación a una temperatura de 22 ± 2 °C y en oscuridad por 48 horas. Transcurrido ese periodo, los gerbox fueron transferidos a una cámara de crecimiento con condiciones





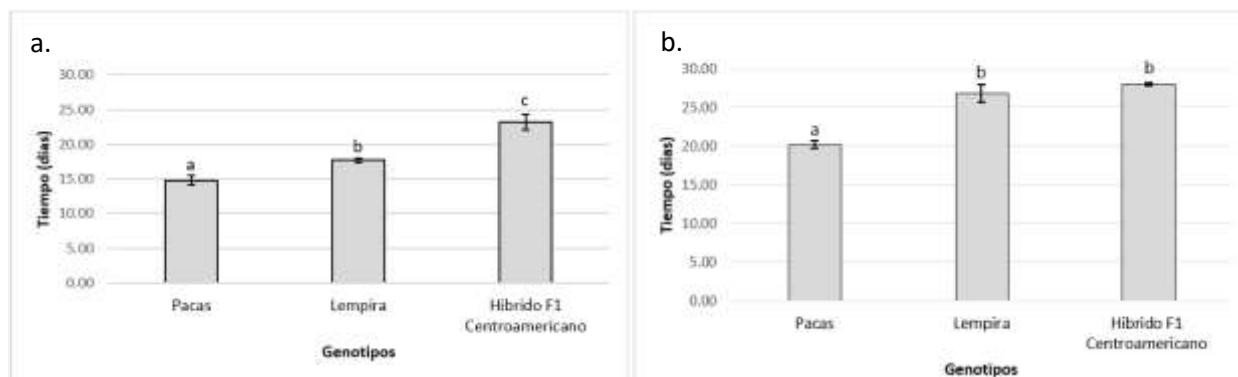
controladas $22 \pm 2^{\circ}$ C y fotoperiodo de 12 horas luz, 12 de oscuridad, donde permanecieron por un periodo de 30 días (Eskes 1982). Cinco días después de inoculados los discos, fueron retiradas las uredosporas que no penetraron el tejido con algodón impregnado de agua destilada, esta actividad es realizada para evitar ser parasitadas por *Lecacinium lecanii*.

Después de 30 días de la inoculación se procedió a la evaluación de ocho componentes de resistencia horizontal. Periodo de incubación (PI), que corresponde al tiempo en días desde la inoculación hasta el apareamiento de los síntomas en cada disco foliar inoculado. Periodo de latencia (PL), el periodo en días desde la inoculación hasta la esporulación del 50% de las pústulas presentes en los discos foliares inoculados. Número de lesiones (NL), corresponde al número de discos con lesiones esporuladas y no esporuladas. Número de lesiones esporuladas (NLE), corresponde al número de discos con lesiones esporuladas por hoja, independientemente del grado de reacción. Razón de Infección (RI), es el grado de infección y se obtuvo dividiendo el número de hojas lesionadas entre el número de hojas inoculadas. Razón de esporulación (RE), se obtuvo dividiendo el número de hojas (discos) inoculados con lesiones esporuladas entre el número total de hojas inoculadas, siendo que cada disco en el gerbox representa una hoja y esta a la vez representa una planta del genotipo a evaluar. Producción de uredosporas (PU), se obtuvo por medio de la estimativa del número medio de uredosporas presentes por lesión por disco foliar. Las esporas de las lesiones fueron recolectadas con ayuda de una capsula de gelatina y posteriormente colocadas en un eppendorf de 1.5 ml conteniendo un ml de agua destilada con twen 20 al 5%, esto evitó la germinación de estas. El método de conteo utilizado fue el de *Barbosa et. al., 2005*, donde la cantidad de esporas obtenidas en 1 ml de la solución mencionada, fueron agitadas durante 5 minutos con ayuda de un vórtex, después de la intensa agitación, 10 μ l de la suspensión de esporas fueron depositados en una lámina con ayuda de una micro pipeta automática, donde se realizó el conteo directo de los uredosporas bajo el microscopio con lente objetivo de 40X extrapolando el número de esporas presentes en 10 μ l a 1000 μ l que corresponde al volumen total que contendrá el total de esporas de la lesión. La evaluación de estos componentes se realizó 30 días después de la inoculación a excepción del PI y PL que se evaluaron a diario, a partir del décimo día de la inoculación hasta la constatación de los primeros síntomas y señales en las hojas. Por último se realizó una evaluación del grado de esporulación en las lesiones de acuerdo a la escala de notas Tamayo *et al., 1995* (imagen n.º 2)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

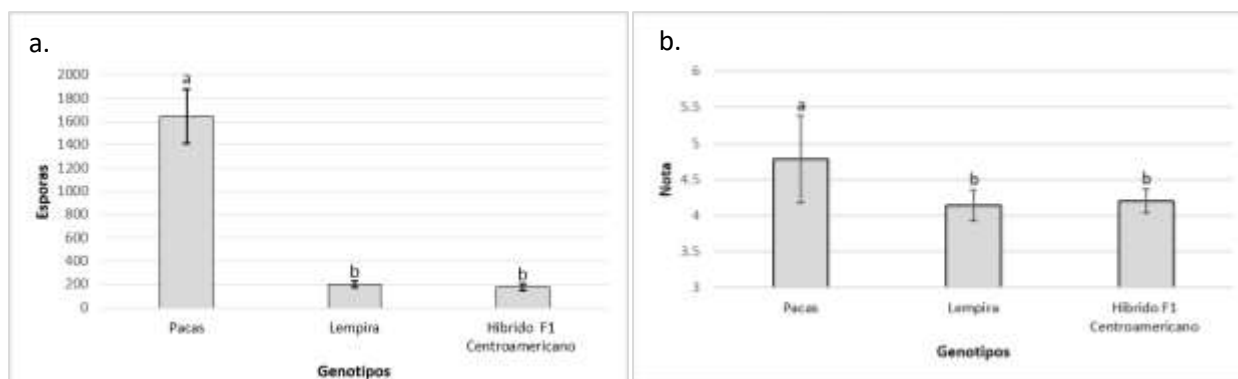
Para el periodo de incubación hubo diferencia significativa en los tres genotipos (grafica n.º 1-a), la variedad Pacas presentó un periodo de incubación de 14.83 días, la variedad Lempira 17.70 días y el Híbrido F1 Centroamericano presentó el mayor periodo de incubación siendo este de 23.22 días.





Gráficas n. °1, (a) Periodo de incubación en variedad Pacas, variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano; (b) Periodo de latencia en variedad Pacas, variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano. Para ambas gráficas, genotipos con mismas letras no difieren estadísticamente entre sí con el test de Duncan al 5% de significancia, las barras de error representan la desviación estándar de las medias.

En cuanto al periodo de latencia en la variedad Pacas fue de 20.22 días y fue estadísticamente diferente a la variedad Lempira y el híbrido F1 Centroamericano quienes presentaron un PL de 26.86 y 28.00 días respectivamente no habiendo diferencias significativas en estos dos últimos (grafica n.° 1-b). La producción de uredosporas presentó el mismo comportamiento estadístico, donde la variedad Pacas con una producción de 1,644.01 en promedio por disco foliar fue estadísticamente diferente a la variedad Lempira y el híbrido F1 Centroamericano quienes no presentaron diferencia entre sí para este componente, siendo la PU de 201.00 y 178.80 esporas promedio por disco foliar (grafica n.° 2-a).



Gráficas n. °2, (a) producción de uredosporas 30 días después de inoculación en variedad Pacas, variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano; (b) Nota presentadas en evaluación de lesión según escala de Tamayo *et. al* 1995 30 días después de inoculación en variedad Pacas, variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano. Para ambas gráficas, genotipos con mismas letras no difieren estadísticamente entre sí con el test de Duncan al 5% de significancia, las barras de error representan la desviación estándar de las medias.

En la variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano además del PI y PL que determinan la penetración y colonización del patógeno en los tejidos foliares, las medias de los demás componentes de resistencia horizontal (NL, NLE, RI, RE e PU) cuando son comparados con el genotipo testigo, sugieren una evolución más lenta de la enfermedad (cuadro n.° 1).





Cuadro n.º 1: Evaluación de componentes de resistencia horizontal a *H. vastatrix*

Componente de Resistencia	Variedad Pacas	Variedad Lempira	Hibrido F1 Centroamericano
PI	14.83	17.70	23.22
PL	20.22	26.86	28.00
NL	60.00	60.00	26.00
NLE	50.00	36.00	16.00
RI	1.00	1.00	0.43
RE	0.83	0.60	0.27
PU	1644.44	177.78	201.00
Nota de lesión	4.78	4.14	4.20

PL: Período de latencia, en días
 PI: Período de incubación, en días
 NL: Número de lesiones.
 NLE: Número de lesiones esporuladas.
 RI: Razón de infección
 RE: Razón de esporulación
 PU: Producción de uredosporas
 Nota de lesión: Según Tamayo *et al.*, 1995

Pues si analizamos la razón de infección (RI) y razón de esporulación (RE) donde el híbrido F1 Centroamericano presentó los mejores resultados, la RI para este fue de 0.43 mientras la variedad Lempira y Pacas fue de 1.00, o sea que en estas dos últimas hubo apareamiento de síntomas independientemente de que haya esporulado o no, en cuanto a la razón de esporulación el híbrido F1 Centroamericano también presentó los mejores resultados siendo este valor de 0.27, la variedad Lempira también presentó un valor aceptable de 0.60, mientras la variedad Pacas presentó una RE alta de 0.83, valor típico de una variedad muy susceptible, siendo evidente que el proceso de patogénesis se ve afectado por mecanismos de defensa de estos dos genotipos, influyendo directamente en el proceso de infección, penetración, colonización y por ende en la evolución de la enfermedad. En cuanto a la escala de notas de acuerdo a Tamayo *et al.*, 1995, la variedad Pacas presentó la nota superior con un promedio de 4.78, la variedad Lempira e híbrido F1 Centroamericano presentaron promedios similares 4.15 y 4.40 respectivamente. O sea un grado de esporulación menor a la presentada por la variedad testigo (grafico n.º 2-b).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados indican que bajo las mismas condiciones de manejo el híbrido F1 Centroamericano y la variedad Lempira presentan mayor resistencia horizontal cuando es comparado con la variedad tradicionalmente susceptible Pacas, siendo el híbrido F1 Centroamericano el que presentó mayor RH y después de este la variedad Lempira, esto es una característica de mucho interés pues sumado a la alta capacidad productiva observado en campo de estos dos genotipos y que a pesar de haber perdido su resistencia vertical siguen siendo dos muy buenas opciones en la caficultura regional, por lo que es recomendable seguir las proponiendo a los productores como una opción de elección de cultivares.





BIBLIOGRAFÍA

- Avelino, J; Hoopen, GMT; DeClerck, FAJ. (2011). Ecological Mechanisms for Pest and Disease Control in Coffee and Cacao Agroecosystems of the Neotropics. In Rapidel, B; Le Coq, J-F; Beer, J. Ecosystem services from agriculture and agroforestry: measurement and payment. Londres, United Kingdom, Eartscan Publications. p 92-117
- Avelino, J; Rivas, G. (2013). La roya anaranjada del cafeto. Disponible en <http://hal.archivesouvertes.fr/hal-01071036>. p. 1-47
- Barbosa, J. C., Caixeta, E. T., Zambolim, E. M., Capucho, A. S., Rufino, R. N., Alvarenga, S. M., ... & Sakiyama, N. S. (2005). Caracterização da resistência vertical e horizontal do cafeeiro à ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br) em acesso de híbrido de Timor. In *Embrapa Café-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 2005, Londrina. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2005..
- Pereira, A. A. (1995). Herança da resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em cafeeiros derivados do Híbrido de Timor.
- Tamayo Molano, P. J. (1988). *Resistencia de progenies de catimor a oito racas de Hemileia vastatrix Berk. & Br* (No. Doc. 16012)* CO-BAC, Santafé de Bogotá).
- Van der Plank, J. E. (1963). *Plant diseases: epidemics and control*. New York: Academic Press.
- Zambolim, L., Vale, F.X.R., Pereira, A.A., Chaves, G.M. (1997), *Café (coffea arabica L.): controle de doenças*. in:vale, f.x.r., Zambolim, l. (eds.). controle de doenças de plantas. grandes culturas, v.1, p. 83140.
- <http://www.icafe.cr/icafe-investiga-posible-nueva-raza-de-roya-que-supera-la-tolerancia-de-la-variedad-costa-rica-95/>

