

**Evaluación del efecto hiperparásito de tres
concentraciones de *Lecanicillium lecanii* sobre
la roya del café (*Hemileia vastatrix*)**

**Erik Leonel Roldán Salazar
Luis Eduardo Yánguez Quintero**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación del efecto hiperparásito de tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii* sobre la roya del café (*Hemileia vastatrix*)

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingenieros Agrónomos en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Erik Leonel Roldán Salazar
Luis Eduardo Yánguez Quintero

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2016

Evaluación del efecto hiperparásito de tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii* sobre la roya del café (*Hemileia vastatrix*)

Erik Leonel Roldán Salazar
Luis Eduardo Yangüez Quintero

Resumen. La defoliación severa y caída de fruto en el cultivo de café antes de la cosecha es comúnmente ocasionada por la roya del café *Hemileia vastatrix*. La pérdida por esta enfermedad puede llegar hasta un 100% de la producción. Durante la cosecha 2012-2013 la epidemia de la roya del café afectó el 80% de los caficultores en la región Centro Americana. El costo del control fitosanitario químico de la enfermedad es elevado y trae muchos factores adversos, por lo cual se busca una alternativa a su uso. Los objetivos de la evaluación fueron determinar el efecto de tres concentraciones del hongo micoparasítico *Lecanicillium lecanii* sobre la incidencia, severidad y control de *Hemileia vastatrix* en condiciones de campo, comparado con el fungicida químico Opera SC (Pyraclostrobin y Epoxiconazole). Se evaluaron cinco tratamientos: *Lecanicillium lecanii* a concentraciones de 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9 esporas por mililitro; el fungicida Opera SC y el testigo. Los factores climáticos fueron propicios para el desarrollo de la enfermedad como para el hongo micoparasítico. Se usó un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones. Se analizaron 70 hojas del tercio medio para abajo de la planta por unidad experimental. Se realizó un análisis de varianza y las medias se separaron utilizando la prueba Duncan al 5%. Las tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida Opera SC tuvieron el mismo efecto sobre la incidencia de *Hemileia vastatrix*. Las tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii* tuvieron el mismo efecto sobre el control y en la reducción del área del progreso de *Hemileia vastatrix*. Solo el fungicida Opera SC logró mayor reducción del área en comparación a los demás tratamientos.

Palabras clave: Control biológico, defoliación, micoparasitismo.

Abstract. Severe defoliation and fruit drop in coffee crops before harvest, normally is associated with coffee rust, a disease caused by *Hemileia vastatrix*. The yield losses caused by this disease can reach up to 100%. During the 2012-2013 harvest, coffee rust epidemic affected 80% of coffee producers in Central America. The chemical phytosanitary cost to mitigate the disease is high and brings many secondary effects, because of that we are looking forward for new alternatives to control it. The objectives of the study were to determine the effect of three concentrations of *Lecanicillium lecanii* on the incidence, severity and control of *Hemileia vastatrix* in field conditions; in contrast with a chemical fungicide named Opera SC (Pyraclostrobin and Epoxiconazole). Five treatments were evaluated: *Lecanicillium lecanii* at concentrations of 1×10^7 , 1×10^8 and 1×10^9 spores per milliliter; Opera SC fungicide and a witness treatment. The climate factors during the investigation were favorable for the disease and mycoparasite fungi development. It was used a design of randomized complete block with three repetitions. Seventy leaves were analyzed per experimental unit below the middle third of the plant. An analysis of variance was performed and means were separated using Duncan test at 5%. The three concentrations of *Lecanicillium lecanii* and the Opera SC fungicide had the same effect on the incidence of *Hemileia vastatrix*. The three concentrations of *Lecanicillium lecanii* had the same effect on the control and reduction of the area under the disease progress curve caused by *Hemileia vastatrix*. Only the Opera SC fungicide reached the highest reduction on the area in contrast with other treatments.

Key words: Biological control, defoliation, mycoparasite.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	v
Índice de cuadros y figuras.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES	13
5. RECOMENDACIONES	14
6. LITERATURA CITADA.....	15

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros		Página
1.	Tratamientos utilizados durante la evaluación.....	3
2.	Escala de severidad para determinar grado de infección de <i>Hemileia vastatrix</i>	5
3.	Incidencia de <i>Hemileia vastatrix</i> en hojas de café de la variedad Caturra.	7
4.	Porcentaje de Severidad en hojas de café de la variedad caturra en diferentes días después de ser aplicados los tratamientos de <i>Lecanicillium lecanii</i> y el fungicida Opera. Además se muestra el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (abcpe) de cada tratamiento.	8
5.	Porcentaje de control obtenido por los tratamientos en diferentes días evaluados después de haber sido aplicados.....	10
6.	Porcentaje de pústulas activas en los tratamientos, evaluadas en tres diferentes días después de ser aplicados.	11
7.	Porcentaje de micoparasitismo desarrollado por <i>L. lecanii</i> del total de pústulas secas evaluadas de <i>H. vastatrix</i> en diferentes días después de la aplicación ...	12
Figuras		Página
1.	Dimensiones de la parcela experimental y el área muestreada en la evaluación	4
2.	Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (abcpe) causada por <i>H.</i> <i>vastatrix</i>	9

1. INTRODUCCIÓN

Para Honduras, la producción de café es de mucha importancia debido a que representa un 38.7% del producto interno bruto agrícola y 5% del producto interno bruto nacional (FAO 2015). La roya del café es una enfermedad foliar que provocó que los productores de café de Centro América estén alerta debido a que sus fuentes de ingreso son afectadas directamente (McCook 2009).

Esta enfermedad puede representar una pérdida del 100% de la producción total y por ende es la más importante en la producción de café. La propagación masiva de *Hemileia vastatrix* en la cosecha 2012-2013 en zonas como Guatemala, Costa Rica, Nicaragua, Honduras y el sur de México provocó una caída de la economía de dichos países y un duro golpe a las exportaciones cafetaleras. *H. vastatrix*, una vez en la hoja, provoca que la planta se desprenda de sus hojas y frutos antes de su maduración, generando millones de pérdidas en producción (Anacafé 2013).

Esta enfermedad representó una pérdida de 19% de la producción, que se estima representa unos USD 499 millones para la economía de Centro América. Otro factor de mucha relevancia es que 80% de los caficultores afectados son pequeños productores cuyo café era su único sustento económico (de Melo et al. 2015). Un factor que diferencia a *H. vastatrix* de otras royas es que este no penetra la epidermis de la hoja, sino que esporula a través de los estomas. Genera grandes masas de uredosporas que ponen en peligro el resto de la plantación cada 30 días al cumplir su ciclo de vida, su época de mayor incidencia es durante el inicio de las primeras lluvias (de Melo et al. 2015).

Existen controladores químicos eficaces para esta enfermedad, pero ninguno que sea específico para el hongo, lo que ocasiona que sigamos perdiendo biodiversidad en nuestras fincas al aplicar productos de amplio espectro. Por ende *Lecanicillium lecanii* viene a ser la alternativa biológica para el control de la enfermedad (Alavo 2015). Además el alto costo que representan estos fungicidas efectivos dentro de un manejo fitosanitario, puede ser de muy alto para los pequeños productores.

.

La cura biológica para la enfermedad de la roya en café tiene sus orígenes en. Según Vélez y Rosillo en 1995, el principal hiperparásito de *H. vastatrix* es el hongo entomopatógeno y micoparásito *L. lecanii*. Este hiperparásito pertenece a la familia de los Deuteromicetes y se reproduce por medio de esporas asexuales llamadas conidios. *L. lecanii* tiene la capacidad de crecer en organismos vivos y muertos por lo cual hace fácil su reproducción en cualquier medio de cultivo (Alavo 2015). *L. lecanii* introduce su tubo germinativo dentro

de las membranas celulares de *H. vastatrix*, para posteriormente producir un extracto metabólico que inhibe la germinación y produce cambios en la morfología de las uredosporas de *H. vastatrix* provocando su muerte (Vélez y Rosillo 1995).

La enfermedad de la roya al ser policíclica, hace más difícil el control por los ciclos de infección completos y repetidos sobre el cafeto (de Melo et al. 2015). Dos factores fundamentales para explotar las características de *L. lecanii* son la temperatura y la humedad. Varios estudios dictaminan que el hongo suele desarrollarse bien en rangos de temperatura de 15-25°C y humedad relativa de 80%. Aun así, *L. lecanii* también puede soportar temperaturas arriba de 30°C esto significara un desarrollo más lento del hongo al controlar *H. vastatrix* (Martins et al. 2015). Jackson en el 2012, indico que para que exista un buen control sobre *H. vastatrix* se debe asegurar una población alta del hiperparásito en el suelo y que existan organismos, sobre todo insectos como hormigas, que faciliten el transporte de los conidios a las uredosporas de *H. vastatrix* del suelo a las hojas del cafeto. Los rayos ultravioleta son un factor determinante en la sobrevivencia de *L. lecanii* por lo cual el control sobre la roya será más efectivo en cafetales con sombras densas (Galvão y Bettiol 2014).

Los objetivos del estudio fueron evaluar el efecto, de tres concentraciones, de *Lecanicillium lecanii* sobre la incidencia y severidad de la enfermedad de roya en café (*Hemileia vastatrix*) en comparación con un fungicida comercial Opera SC® (pyraclostrobin + epoxiconazole) y determinar la concentración de *Lecanicillium lecanii* con mayor efectividad para control de roya (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de campo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. El ensayo se realizó en la finca Los volcanes, localizada en el departamento de El Paraíso, Honduras; ubicada a 1100 msnm, con temperatura promedios anuales de 18-26°C, precipitación de 1500 mm anuales y distribuidas mayormente desde julio hasta octubre. La precipitación obtenida durante la investigación fue de 274 mm y una humedad relativa de 82% (AccuWeather 2016). La variedad de café utilizada para el ensayo fue Caturra, que es altamente susceptible a la enfermedad. El ensayo se realizó entre los meses de julio a septiembre de 2016.

Diseño experimental. Se utilizó el diseño de Bloques Completos al Azar (BCA). Los tres bloques están compuestos por cinco unidades experimentales para un total de 15 unidades experimentales. Cada una constara de cinco surcos con 10 plantas cada surco para hacer un total de 50 plantas por unidad experimental. Cada parcela era de 10 × 10 m.

Tratamientos. Se utilizó una cepa proveniente de los laboratorios de control biológico del Dr. Obregón, CR (Obregón 2007). Esta cepa fue reproducida en los laboratorios de control biológico de Zamorano. Los tratamientos constan de tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii*, un fungicida a base de Pyraclostrobin + Epoxiconazole y un tratamiento testigo al cual no se le aplicó nada (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos utilizados durante la evaluación. Cada uno con su concentración y dosis utilizada.

Tratamiento	Concentración	Dosis
<i>Lecanicillium lecanii</i>	1×10^7 esporas/mL	6.25×10^{12} esporas/ha
<i>Lecanicillium lecanii</i>	1×10^8 esporas/mL	6.25×10^{13} esporas/ha
<i>Lecanicillium lecanii</i>	1×10^9 esporas/mL	6.25×10^{14} esporas/ha
Pyraclostrobin Epoxiconazole Testigo	⁺ 133 g/L + 50 g/L	500 mL/ha

Aplicación de los tratamientos. Se realizaron tres aplicaciones en intervalos de 15 días. Para las aplicaciones se utilizó una bomba de mochila de motor modelo Aritmitsu sd-253 de 25 L., con un caudal de 6.8 L/min a 1900 rpm. Además se utilizaron boquillas dobles especiales para aspersión uniforme tipo Yamao D6 (Rogaval S.A. 2014). Los tratamientos se mezclaron en un balde con agua y se agregó un adherente surfactante conocido comercialmente como Breakthru a dosis de 1 ml/litro de producto. Las aplicaciones fueron focalizadas en el envés y distribuidas por el resto de la planta.

Muestreo. antes de cada aplicaciónDe cada parcela se seleccionaron cinco plantas completamente al azar ubicadas en los tres surcos del centro, esto para evitar el efecto de borde en los tratamientos (Figura 1). De cada planta se obtuvo una bandola ubicada entre el tercio medio y bajo de la planta. Se procuró que la bandola tuviera un mínimo de 15 hojas para la evaluación. Por cada unidad experimental se muestreó un mínimo de 70 hojas donde en cada una se determinó la incidencia y severidad de *H. vastatrix* sobre la hoja del cafeto. Además se contaron el número de pústulas secas, activas y micoparasitadas por *L. lecanii*.

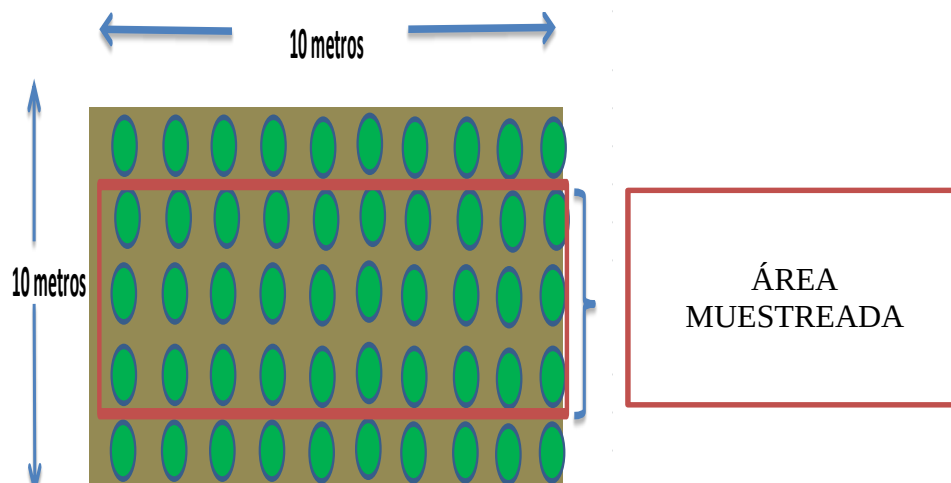


Figura 1. Dimensiones de la parcela experimental y el área muestreada en la evaluación.

Variables medidas:

Incidencia. Determina la presencia o ausencia de la enfermedad causada por *Hemileia vastatrix*. Para determinar la presencia de la enfermedad dentro del ensayo, se dividió el número de hojas con presencia de roya sobre el total de hojas muestreadas, este valor se determina en porcentaje mediante la ecuación 1 (SENASA 2003).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{X}{N} \times 100 = \% [1]$$

Dónde:

X= Hojas con presencia de roya

N= Hojas totales muestreadas

Severidad. La severidad es un valor determinado por apreciación visual, el cual nos indica el grado de infección que tiene un patógeno sobre determinada planta. Este grado nos hace referencia al porcentaje del área foliar enferma ocasionado por el patógeno en las hojas del cafeto (SENASA 2003).

Cuadro 2. Escala de severidad para determinar el grado de infección de *Hemileia vastatrix*.

Grado	Descripción
0	Hoja sana, no presenta síntomas visibles.
1	Presenta síntomas de 1 a 5% del área foliar
2	Presenta manchas que cubren del 6 al 20% del área foliar.
3	Presenta síntomas de necrosis, afectando del 21 al 50% del área foliar
4	Presenta daños mayor al 50% del área foliar.

Para determinar el porcentaje de severidad de la roya se aplicó la ecuación 2 que nos explica un promedio ponderado de los muestreos realizados.

$$\% \text{ Severidad} = \frac{\sum(G) \times (N^{\circ})}{(GM) \times (N^{\circ}T)} [2]$$

Dónde:

G = Grado obtenido por hoja según escala de severidad

N°= Numero de hojas con cada grado encontrado en las unidades experimentales

GM= Grado mayor de severidad obtenido en la unidad experimental

N°T= Hojas totales muestreadas

Con la severidad de la roya se trabajó con un modelo estadístico de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (abcpe). Este análisis es una técnica recomendada cuando se tienen enfermedades foliares en los cultivos, esto debido a que nos permite encontrar la

relación existente entre el progreso de la enfermedad y el área foliar dañada, logrando una estabilidad en la varianza de los valores porcentuales obtenidos durante los muestreos (Sandoval y Samaniego 2009). Para este análisis se aplicó la siguiente fórmula (ecuación 3).

$$abcpe = \sum \frac{Yi1 + Yi2}{2} \times (Ti2 - Ti1) \quad [3]$$

Dónde:

Yi1= Porcentaje de severidad en el primer muestreo

Yi2= Porcentaje de severidad en el segundo muestreo

Ti1= Días de evaluación en el primer muestreo realizado

Ti2= Días de evaluación en el segundo muestreo realizado

Control de *Hemileia vastatrix*. Del grado obtenido de la severidad se contaron el número total de pústulas de *H. vastatrix* que existían en cada hoja y se clasificaron en tres grupos: número de pústulas secas, número de pústulas activas y número de pústulas micoparasitadas del total de secas. Estas observaciones se hicieron al día 15, 30 y 45 después de la aplicación.

Se determinó el porcentaje de control utilizando la ecuación 4. Tomando el número de pústulas secas entre el número de pústulas totales con la siguiente fórmula:

$$\%Control = \frac{N^{\circ} \text{ pústulas secas}}{N^{\circ} \text{ pústulas totales}} \times 100 \quad [4]$$

Se determinó el porcentaje de pústulas activas utilizando la ecuación 5. Tomando el número de pústulas activas entre el número de pústulas totales observadas con la siguiente fórmula:

$$\%Activas = \frac{N^{\circ} \text{ pústulas activas}}{N^{\circ} \text{ pústulas totales}} \times 100 \quad [5]$$

Se determinó el porcentaje de micoparasitismo (MP) obtenido de cada tratamiento utilizando la ecuación 6. Para esto se dividió el número de pústulas micoparasitadas entre el número de pústulas secas obtenidas utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Micoparasitismo = \frac{N^{\circ} \text{ pústulas con MP}}{N^{\circ} \text{ pústulas secas}} \times 100 \quad [6]$$

Método estadístico. Para el análisis de variables se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el modelo lineal general (GLM) y una separación de medias por el método DUNCAN con el programa Statistical Analysis System® (SAS® 9.3) con un nivel de significancia de ≤ 0.05 . Por este motivo se utilizó un método de evaluación descriptiva y un modelo de lineal general para analizar la influencia que tiene los tratamientos biológicos y químicos, sobre el control, incidencia y severidad de la roya del café.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia de roya en el café. En el día 15 DDA los tratamientos *L. lecanii* 1×10^9 y el fungicida Opera tuvieron el mismo porcentaje de incidencia; La concentración de *L. lecanii* 1×10^7 y el tratamiento testigo presentaron los porcentajes de incidencia más altos con 88% y 89%, respectivamente (Cuadro 3). A los 45 DDA se observa como las tres concentraciones de *L. lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole no presentaron diferencias significativas en la incidencia de *H. vastatrix*, sin embargo el tratamiento testigo incrementó su incidencia hasta 87%. Un punto muy importante es que la incidencia se aumentó bruscamente del día 0 al 15 después de la aplicación. Esto ocurrió debido a las precipitaciones obtenidas de 40 mm en los días mencionados (AccuWeather 2016). La precipitación obtenida durante el estudio pudo ser un factor de dispersión de *H. vastatrix*, debido a que la lluvia es el factor principal de movimiento de esporas que le permite a *Hemileia vastatrix* cubrir mayor área de zonas cafetaleras (Jackson 2012).

Cuadro 3. Incidencia de *Hemileia vastatrix* en hojas de café de la variedad Caturra en diferentes días después de ser aplicados con los tratamientos de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole.

Tratamientos	Días después de aplicación (DDA)			
	0	15	30	45
<i>L. lecanii</i> 1×10^7	27	88 a Ψ	70	69 b
<i>L. lecanii</i> 1×10^8	26	76 b	76	73 b
<i>L. lecanii</i> 1×10^9	28	56 c	84	76 b
Pyraclostrobin + Epoxiconazole	15	54 c	72	67 b
Testigo	14	89 a	87	87 a
Probabilidad	0.13	0.001	0.071	0.007
R ²	0.64	0.92	0.7	0.84
CV	30	8.6	8.83	6.67

Ψ Tratamientos con una misma letra en la columna no presentan diferencias significativas según prueba de Duncan (≤ 0.05).

Severidad de la roya en el café. En el día 0 DDA se puede observar que las tres concentraciones de *L. lecanii*, el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole y el testigo,

iniciaron con la misma severidad estadísticamente (Cuadro 4). A los 15 DDA el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole redujo el porcentaje de severidad al igual que la concentración de *L. lecanii* 1×10^8 , en el testigo aumentó el porcentaje de severidad evaluado. A los 30 DDA el fungicida Opera presentó el menor porcentaje de severidad y fue diferente únicamente del testigo. A los 45 DDA no se encontró diferencia en la severidad con las tres concentraciones de *L. lecanii* evaluadas y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole presentó el mayor porcentaje de reducción. El fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole presentó la menor área bajo la curva en comparación al resto de los tratamientos. No se encontró diferencias significativas entre las tres concentraciones de *L. lecanii* en la reducción del porcentaje de severidad final y área bajo la curva. El testigo mostró el mayor porcentaje de severidad de la enfermedad al final de la evaluación.

Cuadro 4. Porcentaje de Severidad en hojas de café de la variedad caturra en diferentes días después de ser aplicados los tratamientos de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole. Por último el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (abcpe) de cada tratamiento.

Tratamiento	Días después de la aplicación (DDA)				(abcpe)
	0	15	30	45	
<i>L. lecanii</i> 1×10^7	43 ab Ψ	34 ba	23 cb	19 b	119 b
<i>L. lecanii</i> 1×10^8	54 ab	26 bc	23 cb	19 b	122 b
<i>L. lecanii</i> 1×10^9	48 ab	31 ba	25 b	20 b	123 b
Pyraclostrobin + Epoxiconazole	31 b	22 c	19 cb	15 c	87 a
Testigo	33 b	38 a	38 a	34 a	143 c
Probabilidad	0.026	0.021	0.0003	0.0001	0.0007
R ²	0.774	0.787	0.929	0.982	0.911
CV	15.80	13.47	9.44	5.51	6.47

Ψ Tratamientos con una misma letra en la columna no presentan diferencias significativas en su porcentaje de severidad y abcpe según prueba de Duncan (≤ 0.05).

El fungicida Opera logró una reducción del 39% del área bajo la curva. Las tres concentraciones de *L. lecanii* tuvieron el mismo efecto sobre el progreso de la enfermedad, logrando reducciones del 15-17% del área bajo la curva (Figura 2).

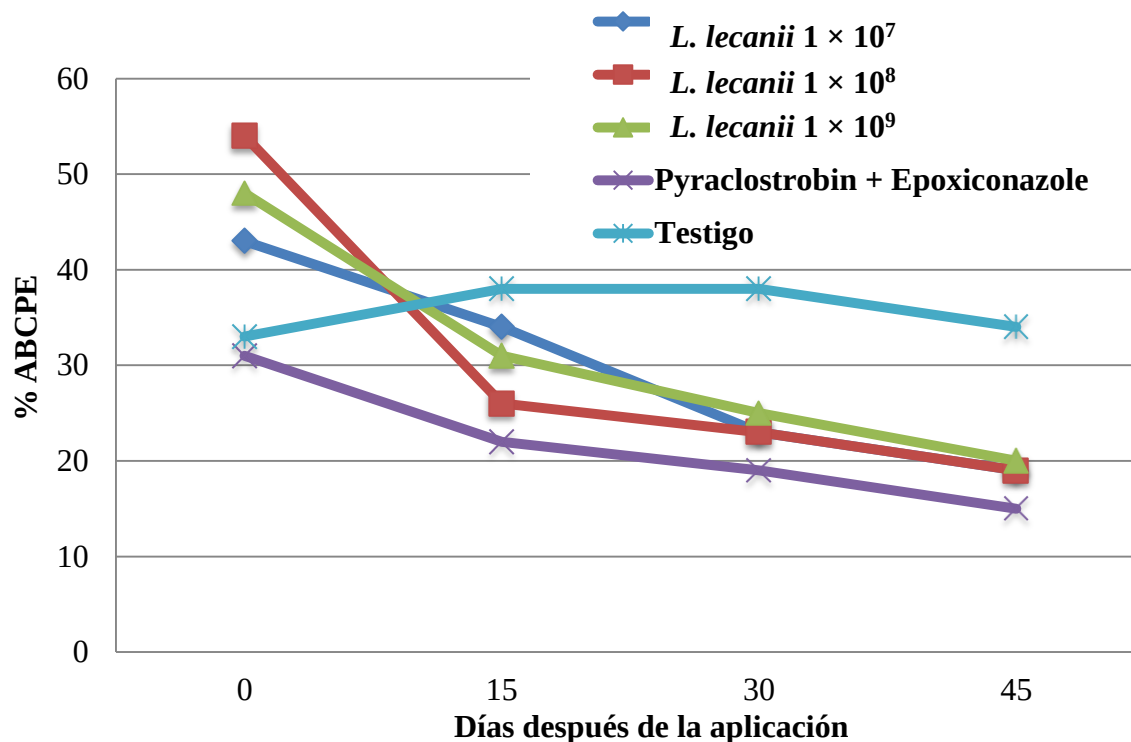


Figura 2. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (abcpe) causada por *Hemileia vastatrix*, después de ser aplicados con los tratamientos biológicos con *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole.

Control de *Hemileia vastatrix*. A los 15 DDA los tratamientos *L. lecanii* 1×10^8 , *L. lecanii* 1×10^9 y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole no presentaron diferencia en el porcentaje de control. El testigo presento el menor porcentaje de control de roya. A los 30 y 45 DDA las tres concentraciones de *L. lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole presentaron el mismo control de roya, este control fue mayor significativamente que el control mostrado por el testigo (2 y 3%), respectivamente para los 30 y 45 DDA.

Cuadro 5. Porcentaje de control de *H. vastatrix* obtenido en diferentes días después de haber sido aplicados los tratamientos de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole.

Tratamiento	Días después de la aplicación (DDA)		
	15	30	45
<i>L. lecanii</i> 1×10^7	31 b Ψ	49 a	58 a
<i>L. lecanii</i> 1×10^8	53 a	56 a	63 a
<i>L. lecanii</i> 1×10^9	41 ba	63 a	62 a
Pyraclostrobin + Epoxiconazole	49 a	66 a	61 a
Testigo	5 c	2 b	3 b
Probabilidad	0.0038	0.0006	0.0001
R²	0.87	0.92	0.96
CV	26.05	21.1	12.81

Ψ Tratamientos con una misma letra en la columna no presentan diferencias significativas en su porcentaje de control según prueba de Duncan (≤ 0.05).

Pústulas de *H. vastatrix* activas por tratamiento. A los 15 DDA las concentraciones de *L. lecanii* 1×10^8 , *L. lecanii* 1×10^9 y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole presentaron la misma cantidad de pústulas activas de *H. vastatrix*; estas fueron menores significativamente al porcentaje de pústulas activas en el tratamiento *L. lecanii* 1×10^7 . El testigo presentó la mayor cantidad de pústulas activas significativamente diferente al resto de los tratamientos. A los 30 y 45 DDA el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole presentó la mayor reducción del porcentaje de pústulas activas en comparación a los demás tratamientos a excepción del día 45 a donde el tratamiento *L. lecanii* 1×10^8 mostro el mismo porcentaje de pústulas activas estadísticamente. Un punto muy importante es que las tres concentraciones *L. lecanii* no tuvieron diferencias en la reducción del porcentaje de pústulas activas a los 30 y 45 DDA. Un factor que pudo afectar en el desempeño del enemigo natural, fue la hora en la que se aplicó. Esto debido a que se realizaron en horas altas de temperatura y la recomendación es aplicar *L. lecanii* en condiciones de temperatura baja para obtener un óptimo desempeño del controlador biológico (Zermeño et al. 2005).

Cuadro 6. Porcentaje de pústulas activas en los tratamientos, evaluadas en tres diferentes días después de ser aplicados los tratamientos de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole.

Tratamiento	Días después de la aplicación (DDA)		
	15	30	45
<i>L. lecanii</i> 1×10^7	57 b Ψ	21 b	11 b
<i>L. lecanii</i> 1×10^8	22 c	20 b	9 bc
<i>L. lecanii</i> 1×10^9	16 c	20 b	12 b
Pyraclostrobin + Epoxiconazole	9 c	6 c	3 c
Testigo	84 a	85 a	83 a
Probabilidad	0.0001	0.0001	0.0001
R²	0.93	0.95	0.99
CV	28.76	28.48	14.66

Ψ Tratamientos con una misma letra en la columna presentan diferencias significativas en su porcentaje de pústulas activas según prueba de Duncan (≤ 0.05).

Porcentaje de micoparasitismo en las pústulas secas, evaluación de la presencia de *Lecanicillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*. Esta variable nos permite confirmar el ataque sobre *H. vastatrix* efectuado por *L. lecanii* y no por factores externos a la investigación. A los 15, 30 y 45 DDA las tres concentraciones de *L. lecanii* presentaron el mayor porcentaje de micoparasitismo, en comparación al fungicida Opera y el testigo. Un punto a considerar es la gran movilidad que tuvo el hongo durante el experimento ya que fue encontrado en el tratamiento químico y en el testigo, este factor pudo haber sido influenciado por las precipitaciones obtenidas durante el estudio, ya que la lluvia es el factor de dispersión más efectivo del enemigo natural (Jackson 2012). Esto se debe a la versatilidad y dispersión que tienen sus esporas asexuales, denominadas conidiosporas. Además, *L. lecanii* tiene la capacidad de crecer en materiales vivos o muertos y esto lo hace eficiente para permanecer dentro de la finca y controlar la enfermedad (Alavo 2015).

Cuadro 7. Porcentaje de micoparasitismo desarrollado por *Lecanicillium lecanii* del total de pústulas secas evaluadas de *Hemileia vastatrix* en diferentes días después de la aplicación.

Tratamiento	Días después de la aplicación (DDA)		
	15	30	45
<i>L. lecanii</i> 1×10^7	39 a Ψ	50 a	48 a
<i>L. lecanii</i> 1×10^8	60 a	59 a	44 a
<i>L. lecanii</i> 1×10^9	42 a	64 a	50 a
Pyraclostrobin +	4 b	5 b	1 b
Epoxiconazole			
Testigo	16 b	7 b	5 b
Probabilidad	0.0048	0.0008	0.0003
R²	0.86	0.91	0.93
CV	34.65	29.88	27.3

Ψ Tratamientos con una misma letra en la columna no presentan diferencias significativas en su porcentaje de pústulas activas según prueba de Duncan (≤ 0.05).

4. CONCLUSIONES

- No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de incidencia de las tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii* y el fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole, a los 45 días después de la aplicación.
- El fungicida pyraclostrobin + epoxiconazole tuvo la menor área bajo la curva del progreso de la enfermedad. No hubo diferencia en el área bajo la curva del progreso de la enfermedad presentado por las tres concentraciones de *Lecanicillium lecanii*.
- Las tres concentraciones *Lecanicillium lecanii* obtuvieron la misma efectividad en el micoparasitismo de roya *Hemileia vastatrix*.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio sobre la factibilidad económica comparando el uso del *Lecanicillium lecanii* y fungicida sistémico basado en los resultados del control.
- Elaborar un estudio sobre el efecto progresivo de *Lecanicillium lecanii* en el control de roya a lo largo del ciclo de producción.
- Evaluar la persistencia de *Lecanicillium lecanii* después de las aplicaciones.
- Elaborar un estudio comparativo del control que pueda tener *Lecanicillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix* en época seca, en comparación con época lluviosa.
- Observar el comportamiento del hiperparásito *Lecanicillium lecanii* en cafetales a diferentes altitudes y proporciones de sombra; y así determinar más factores que pueden incidir en el éxito del controlador biológico.
- Establecer protocolos específicos para la reproducción de *Lecanicillium lecanii* en laboratorio y evaluar el crecimiento en diferentes medios de reproducción en laboratorio tomando en cuenta factores de tiempo de crecimiento del hongo y costos

6. LITERATURA CITADA

- AccuWeather. 2016. AccuWeather Forecast. El Paraíso, Honduras; [consultado 2016 Sep 25]. <http://www.accuweather.com/en/hn/paraiso/1171631/september-weather/1171631>.
- Alavo T. 2015. The insect pathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas and its use for pests control: A review. JEBAS; [consultado 2016 Sep 25]. 3(4):337–345. doi:10.18006/2015.3(4).337.345.
- Anacafé. 2013. Recomendaciones de Control del la Roya. Guatemala: Anacafé; [consultado 2016 Sep 25]. https://www.anacafe.org/glifos/index.php/Recomendaciones_Control_Roya.
- de Melo, Filho, Astorga. 2015. Prevención y control de la roya del café, Manual de buenas practicas para técnicos y falicitadores. Australasian Plant Pathol; [consultado 2016 Sep 25]. (131).
- FAO. 2015. Manejo agroecológico de la roya del café. Memorias del seminario científico internacional; [consultado 2016 Oct 12]. 35. <http://www.fao.org/3/a-i5137s.pdf%20%20>.
- Galvão JAH, Bettiol W. 2014. Effects of UV-B radiation on *Lecanicillium* spp., biological control agents of the coffee leaf rust pathogen. Trop. plant pathol; [consultado 2016 Sep 25]. 39(5):392–400. doi:10.1590/S1982-56762014000500006.
- Jackson D. 2012. Effects of habitat fragmentation on the probability of metapopulation extinction. Tropical and Subtropical Agroecosystems; [consultado 2016 Sep 25].
- Martins SJ, Soares AC, Medeiros FHV, Santos DBC, Pozza EA. 2015. Contribution of host and environmental factors to the hyperparasitism of coffee rust under field conditions. Australasian Plant Pathol; [consultado 2016 Sep 25]. 44(6):605–610. doi:10.1007/s13313-015-0375-2.
- McCook S. 2009. LA ROYA DEL CAFÉ EN COSTA RICA: EPIDEMIAS, INNOVACIÓN Y MEDIO AMBIENTE, 1950-1995. Coffee Rust in Costa Rica: Epidemics, Innovation and Environment. 1950-1995. Revista Historia;[consultado 2016 Sep 25]. <http://revistas.una.ac.cr/index.php/historia/article/viewFile/3471/3328>.

- Obregón M. 2007. *Lecanicillium* spp. Costa Rica: Laboratorio fitosanitario del doctor Obregón; [consultado 2016 Aug 25]. <http://www.doctor-obregon.com/Pages/Lecanicillium spp.aspx>.
- Rogaval S.A. 2014. Fumigadora marca Arimitsu. Equipo de limpieza y jardinería; [consultado 2016 Sep 25]. 2. <http://www.rogaval.com/EQUIPO%20JARDINERIA/Fumigadoras/Fumigadoras%20de%20Gasolina/Arimitsu/Arimitsu.pdf>.
- Sandoval A, Samaniego J. 2009. Análisis del área bajo la curva del progreso de las enfermedades (ABCPE) en patosistemas agrícolas. TOPICOS SELECTOS DE ESTADÍSTICA APLICADOS A LA FITOSANIDAD; [consultado 2016 Aug 23]. pp.180-189. https://www.researchgate.net/publication/266259484_Analisis_del_area_bajo_la_curva_del_progreso_de_las_enfermedades_ABCPE_en_patosistemas_agricolas. doi:10.13140/2.1.4475.7767.
- SENASA. 2003. NORMA PARA LA EJECUCIÓN Y REMISIÓN DE INFORMACION DE ACTIVIDADES DEL PROGRAMA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS DEL CAFETO; SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA. SENASA Perú; [consultado 2016 Sep 25]. 17–19. http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/jer/SUB_DIR_CONTEP/1222.pdf.
- Vélez A, Rosillo G. 1995. Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii*, sobre *Hemileia vastatrix*, en condiciones de invernadero y de campo. Cenicafé; [consultado 2016 Sep 25]. [http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/693/1/arc046\(01\)45-55.pdf](http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/693/1/arc046(01)45-55.pdf).
- Zermeño M, Mier T, Sánchez J, Toriello C. 2005. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. Revista Mexicana de Micología; [consultado 2016 Sep 25]. 020. https://www.researchgate.net/publication/242668811_Variabilidad_intraespecifica_del_crecimiento_de_Lecanicillium_lecanii_Verticillium_lecanii_por_efecto_de_la_temperatura.