

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE
***Akanthomyces lecanii* (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE):**
HIPERPARÁSITO DE *Hemileia vastatrix* (PUCCINIALES: PUCCINIACEAE)¹

***Gladys I. González-Dufau*²; *Julio Santamaría-Guerra*²; *Kathia Castrejon*²;**
***Ulfredo Santo*²; *Marco Sanjur*²; *Isabel Herrera*³; *Arnulfo Monzón*³**

RESUMEN

Se colectaron soros de roya en cafetales con manejo orgánico hiperparasitados por un micoparásito en la Comarca Ngäbe Buglé (CNB) en Panamá, el cual una vez identificado correspondió a *Akanthomyces lecanii*. Trece muestras aisladas obtenidas en las localidades de Hato Ratón (8°31'55,47"; 81°48'45,64"; 1243 msnm) y en Cerro Tula (8°24'18,17"; 81°47'5,51"; 546 msnm) se caracterizaron morfológicamente, mediante mediciones de estructuras fúngicas, ritmo de crecimiento *in vitro* y morfología de las colonias. Se observaron colonias de color blanco por el anverso y amarillo claro por el reverso; conidias elípticas-cilíndricas, las cuales presentaron un micelio flocoso y ralo de bordes regulares y blanquecinos. El número de conidios.mL⁻¹ fue en promedio de 3,58 × 10¹²; el ritmo de crecimiento *in vitro* tuvo un desarrollo promedio de 41,72 ± 0,4 mm de diámetro a los 10 días con una tasa crecimiento diario de 2,11 ± 0,02 mm. Este estudio representa, hasta donde se conoce, el primer reporte en Panamá de aislamientos de *Akanthomyces* hiperparasitando soros de roya del café, obtenidas en dos localidades de la CNB.

Palabras claves: Biodiversidad funcional, cepas nativas, interacciones tróficas, micoparasitismo.

¹Recepción: 15 de septiembre de 2020. Aceptación: 21 de octubre de 2020. Esta investigación se realizó en el marco del Proyecto Investigación e Innovación para el Manejo Agroecológico de Plagas del Café en Sistemas de Producción de la Agricultura Familiar Ngäbe Buglé financiado por el IDIAP.

²Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP).

³Universidad Nacional Agraria de Nicaragua.



**MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF
Akanthomyces lecanii (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE):
HYPERPARASITE OF *Hemileia vastatrix* (PUCCINIALES: PUCCINIACEAE)**

ABSTRACT

Sori of coffee rust hyperparasitized by fungus were collected from organic coffee plantations in the Comarca Ngäbe Bugle Region in Panama, which once identified corresponded to *Akanthomycescf lecanii*. Thirteen isolates samples from the localities of Hato Raton (8° 31'55,47; 81° 48'45,64 "; 1243 masl) and Cerro Tula (8° 24'18,17"; 81° 47'5,51"; 546 masl) were morphologically characterized through the measurements of fungal structures, *in vitro* growth rate and morphology of the colonies. It was observed white color colonies on leaf obverse and yellow on leaf reverse; elliptic-cylindric conidia, which presented a thin and floccous mycelium with regular and whitish edges. The number of conidia.mL⁻¹ averaged $3,58 \times 10^{12}$; the *in vitro* growth rate averaged $41,72 \pm 0,4$ mm in diameter at 10 days with a daily growth rate of $2,11 \pm 0,02$ mm. This study represents, to best of our knowledge, the first report of *Akanthomyces* isolates acting as hyperparasite of sori of coffee rust in two locations of CNB.

Key word: Nativestrains, functionalbiodiversity, micoparasitim, ecologicalinteractions.

INTRODUCCIÓN

En la Comarca Ngäbe Buglé, una parte importante de los productores cafetaleros trabajan los cultivos de forma orgánica, la cual tiene una alta demanda y un precio atractivo en el mercado internacional; sin embargo, el rendimiento es bajo. El 91% de los productores no usa fertilizantes y el 96% no usa plaguicidas. El 74% de los productores consideran que la afectación del cultivo de café por plagas es alta (Palacios et al., 2014).

La enfermedad fungosa roya del café *Hemileia vastatrix* se encuentra distribuida en las zonas cafetaleras de Centroamérica (Guharay, 2015; PROMECAFE, 2016) y fue en el año 2012, cuando se desató la epidemia de “roya anaranjada” (Avelino y Rivas, 2013; Cressey, 2013). La misma fue reportada afectando los cafetales de la Comarca Ngäbe Buglé en Panamá, desde 2013 (Palacios et al., 2014).



Se reportan hongos hiperparásitos de *H. vastratix* como *Verticillium lecanii*, *V. leptobactrum*, *V. psalliotae*, *Cladosporium hemileiae*, *Paranectria hemileiae*; los cuales se encuentran naturalmente interactuando de manera compleja con otras formas de vida en los cafetales y penetrando las hifas y esporas de la roya, degenerándolas o inhibiendo su crecimiento, por medio de secreciones, reduciendo la infección e inóculo de roya (Vandemeer et al., 2009, Jackson et al., 2012). Monzón (1992) reportó que, al ser evaluado *V. lecanii* en condiciones de invernadero, se observó actividad epifítica, que permitió al hongo en especial a concentraciones altas, parasitar las pústulas de roya que aparecieron 22 días después de la aplicación del hongo. Adicionalmente, Alavo (2015) reafirma que estos hiperparásitos han sido documentados como agente de control biológico de mildius y uredinales.

El hongo *Verticillium lecanii*, es reportado principalmente como un hongo entomopatógeno, muy importante para el control de organismos nocivos, áfidos y escamas, así como para moscas blancas *Trialeurodes vaporariorum* Westwood y *Bemisia tabaco* Gennadius (Bustillo, 1986). *Verticillium lecanii* se le conoce como *Lecanicillium lecanii*, el cual es utilizado como control biológico de plagas insectiles que afectan a diferentes cultivos y el mismo fue reportado para Panamá incidiendo parasíticamente sobre varias especies de insectos, en sistemas agrícolas de la provincia de Chiriquí (González, 2013; Castillo et al., 2013). Castillo et al., (2013) reportan la especie *L. tenuipes* afectando un insecto del orden Homoptera y de uno del orden Hemiptera en áreas libres de broca del distrito de Boquete, provincia de Chiriquí. Recientemente, Nicoletti y Becchimanzi (2020) señalan que cada vez es evidente que muchos hongos endofíticos, como *L. lecanii*, realizan varias funciones benéficas, las cuales están interconectadas a través de la relación simbiótica de sus plantas hospederas. Por otra parte, Saikkonen et al., (1998) destacan los posibles beneficios de los endófitos para sus huéspedes, los cuales incluyen mayor tolerancia a los metales pesados, mayor resistencia a la sequía, una reducida herbivoría, defensa contra patógenos y habilidad competitiva.

El género *Lecanicillium* en una revisión de Kepler et al., (2017) fue reubicado con el nuevo nombre de *Akanthomyces*, por lo que, en lo sucesivo, aquí se referirá como *Akanthomyces lecanii*.



De acuerdo a Vázquez (2005), está demostrado que para lograr éxitos en la prevención y disminución de las afectaciones por las plagas es necesario manejar el cultivo y el sistema de producción modificando el hábitat, mediante cambios tecnológicos que favorezcan la función ecológica de regulación en sistemas biodiversos complejos para la reducción de los organismos nocivos. Es por esto que la presencia de enemigos naturales que actúan como reguladores biológicos de organismos nocivos, es objeto de exploración, especialmente en agroecosistemas poco intervenidos por prácticas de la agricultura convencional productivista.

Siguiendo el enfoque de Manejo Agroecológico de Plagas que consiste en la implementación de prácticas agronómicas (suelo, cultivo y biodiversidad funcional), de conservación de enemigos naturales y lucha biológica por aumento de entomopatógenos y entomófagos (Vázquez, 2005), se realizó un diagnóstico agroecológico dinámico para comprender las funciones e interacciones ecológicas sistémicas y generar de manera participativa una estrategia de manejo agroecológico de las principales plagas que afectan la productividad y persistencia de la caficultura y contribuir a la sostenibilidad de los modos de vida que dependen de la agricultura familiar Ngäbe Buglé (Santamaría-Guerra y González-Dufau, 2017; González-Dufau et al., 2019).

Para desarrollar un programa efectivo de manejo agroecológico es necesario el conocimiento del potencial biótico y las necesidades ecológicas de los patógenos y de sus enemigos naturales. De ahí, que este estudio tuvo como objetivo la identificación y caracterización morfológica de hiperparásitos de *H. vastatrix* aislados de muestras de hojas de café infectadas, procedentes de dos localidades de la Comarca Ngäbe Buglé.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el laboratorio de Entomología del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) en David, Chiriquí, República de Panamá se analizaron muestras que consistieron en hojas de café con soros de roya cubiertas por un micelio blanco, colectados en las localidades bajo estudio. Siete aislados fueron colectados en la localidad de Hato Ratón (8°31'55,47"; 81°48'45,64"), seis en Cerro Tula (8° 24' 18,17"; 81°47'5,51") y fueron comparadas con un aislado de *A. lecanii* (= *L. lecanii*) colectado parasitando una larva de *Spodoptera* sp. en el cultivo de arroz, en la localidad de Barú (8° 23' 35,6"; 82° 46' 27,6").



Se realizaron diluciones seriadas a partir de colonias puras de los aislados en medio de cultivos Papa Dextrosa Agar (PDA), para la obtención de cultivo monospóricos. Posteriormente, se sembraron en sustrato PDA y se incubaron a 26°C en oscuridad. Se realizaron lecturas de los siguientes parámetros para su caracterización: medición del crecimiento micelial de las conidias, textura y coloración de la colonia por el anverso y reverso. Adicionalmente, mediante observación microscópica, se estudió el tipo de conidio, su forma y color, tamaño. Se evaluaron 50 conidios por aislado y el tamaño se midió en micras.

La identificación de las cepas aisladas se realizó de acuerdo a las características morfológicas y mediante el empleo de la clave taxonómica propuesta por Seifert et al., (2011). También, se emplearon las claves taxonómicas propuestas por Barnett y Hunter (1998) y Humber (2005).

Para la caracterización fisiológica se tomó una alícuota de la suspensión homogénea de conidias (10^6 conidios.mL⁻¹), se colocó en la ranura lateral de la cámara Neubaüer (Neubaüer improved, Marienfeld, Alemania) y se realizaron los conteos de conidios por cada aislado en estudio (French y Hebert, 1979; Leucona, 1998). El crecimiento micelial radial se determinó en placas Petri con medio PDA incubadas a 26°C en oscuridad, de los 14 aislados dese realizaron cinco repeticiones. Al segundo día de haber realizado la siembra se efectuaron mediciones en diámetros perpendiculares por placa durante 10 días, con lo cual se determinó la tasa de crecimiento por aislado.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics© y se efectuó un análisis de conglomerado jerárquico de las variables usando el método de Ward y determinar la distancia Euclidea de las variables morfométricas. Se compararon las diferencias entre los valores de diámetro de las colonias, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis a un nivel de significación de $P < 0,0001$. Los valores de la concentración de conidias se compararon mediante ANOVA de una vía a un nivel de significación de $P < 0,0001$, seguido de una prueba con el método de Student-Newman-Keul.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 14 aislados cultivados en el medio de PDA, presentaron colonias blancas con fina estructura algodonosa y de un color amarillo claro por el reverso a los 10 días. las colonias de los aislados de las tres localidades, mantuvieron la apariencia algodonosa de color blanco, y aproximadamente al tercer día se observó una elevación umbonada en el centro de la colonia, se observó más sumergida y con ligeras estrías o radiaciones, las cuales son más visibles por el reverso, el cual se torna de color crema. Estos resultados coinciden con lo planteado por Brady (1979) quien encontró que *Akanthomyces*(=*Lecanicillium*) *lecanii*, forma colonias en PDA con coloración blanca y crema en su reverso, además de poseer textura algodonosa. Las conidias presentaron formas elípticas-cilíndricas. Presentó hifas hialinas (Figura 1), con fiálides en grupos de tres (Zare y Gams, 2001). Las conidias fueron de elipsoidales a cilíndricas, emergiendo en el extremo superior de la fiálide. La dimensión de las conidias así como la identificación de cada aislado se presenta en el Cuadro 1.



Figura 1. *Akanthomyces*. Aislado D-AI1460 a 400x.

Las dimensiones de las conidias (μm) (L \times A) fluctuaron en los rango de (1,74-3,69) \times (0,9-1,76) (Cuadro 1). Estos resultados concuerdan con los reportados por Zarey Gams (2001) quienes indican valores fluctuantes entre 2,5 – 3,5 \times 1,0 – 1,5 y con los obtenidos por Romero (2020) quien reporta valores de las dimensiones de conidias de los aislados de *Lecanicillium* sp. oscilando entre (2,5-3,5) \times (1,5-2,0) μm .



Cuadro 1. Dimensión de las conidias e identificación de los aislados/cepas.

Aislado	Lugar de procedencia y hospedero	Dimensión de conidias (μm) (L x A, \bar{X} , n = 50)	Identificación
DAI1444	Hato Ratón; Soros de Roya	1,6-3,5x 0,7-1,8, 2,61-1,16	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1445	Hato Ratón; Soros de Roya	1,5-3,5x0,8-1,5, 2,65-1,12	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1446	Hato Ratón; Soros de Roya	1,7-3,5x0,8-1,5, 2,65-1,22	<i>Akanthomyceslecanii</i>
DAI1447	Hato Ratón; Soros de Roya	1,7-3,5x0,8-1,9, 2,65-1.20	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1448	Hato Ratón; Soros de Roya	1,9-3,2x0,8-1,5, 2,55-1,19	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1449	Hato Ratón; Soros de Roya	2,0-4,0x0,7-1,8, 2,65-1,15	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1450	Hato Ratón; Soros de Roya	0,7-1,7x 1,8-3,6,2,59-1,18	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1455	Cerro Tula; Soros de Roya	2,0-4,4x0,7-1,7, 2,93-1,25	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1456	Cerro Tula; Soros de Roya	1,5-4,0x0,7-1,7, 2,77-1,23	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1457	Cerro Tula; Soros de Roya	2,0-4,1x0,8-1,8, 2,73-1,22	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1458	Cerro Tula; Soros de Roya	1,9-4,0x0,8-1,8, 2,8-1,17	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1459	Cerro Tula; Soros de Roya	1,9-4,2x0,8-1,7, 2,89-1,25	<i>Akanthomyces lecanii</i>
DAI1460	Cerro Tula; Soros de Roya	1,5-4,0x0,8-2,0, 2,88-1,32	<i>Akanthomyces lecanii</i>
RSLm205	Barú; larva de <i>Spodoptera</i> sp.	2,50-4,10x1,20-2,10, 3,39x1,61	<i>Akanthomyces muscarium</i>

Al comparar los promedios del crecimiento micelial en PDA a los 10 días (Cuadro 2), estos fueron diferentes entre sí (Kruskal Wallis $P=0,0011$). La diferencia entre las cepas en cuanto a su crecimiento se expresó por el lugar de procedencia del aislado. *Akanthomyces lecanii* procedente de Hato Ratón obtuvo mayor crecimiento en promedio (42,37mm) que el promedio de los aislados de Cerro Tula (40,28 mm) y de Barú (41,43mm). Este crecimiento del hongo bajo condiciones *in vitro* es similar con lo descrito para *L. lecanii* por Domsch et al., (1980), quienes señalan que a los 33 días de incubación en medio agar malta a 20° C, las colonias de este hongo alcanzan un crecimiento promedio entre 66 mm y 72 mm de diámetro.

El análisis de conglomerado jerárquico con el método de Ward y la distancia Euclídea tuvo una correlación cofenética de 0,896 de las variables microscópicas; que reveló dos grupos: uno compuesto por el aislado RSLm205 procedente de Barú, mientras que un segundo grupo estuvo conformado por los aislados procedentes de la CNB (Figura 2), con subgrupos diferenciados (distancia 2,04) según localidades de origen, lo cual sugiere una diversidad por su origen geográfico, entre los aislados nativos estudiados.



Cuadro 2. Crecimiento micelial (mm) y concentración de conidias ($\text{ml} \times 10^{12}$) en el medio PDA.

Aislado	Concentración* de $\text{ml} \times 10^{12}$	Crecimiento micelial (mm)			CV (%)
		diámetro total**	min	max	
DAI1444	3,17±0,19 a	42,27±0,66 d e f	37,90	44,70	4,91
DAI1445	3,19 ±0,19 a	44,46±0,77 f g	39,40	47,30	5,45
DAI1446	3,28 ±0,19 a	41,02±0,58 a b c d	36,50	43,40	4,44
DAI1447	3,15 ±0,19 a	42,03±0,96 c d e f	35,40	45,10	7,25
DAI1448	3,57 ±0,19 b c d	42,04±0,71 b c d e	37,50	45,40	5,81
DAI1449	3,43 ±0,19 a b c	43,59±0,82 e f g	39,40	46,60	5,96
DAI1450	4.21 ±0,19 e	41,21±0,61 a b c d	38,20	44,50	4,70
DAI1455	3,34 ±0,19 a b c	40,37±0,65 a b	37,90	44,80	5,11
DAI1456	3,46 ±0,19 a b c	39,94±1,80 a b c d e	25,90	44,10	14,24
DAI1457	3,89 ±0,19 d e	39,12±1,60 a b c	25,20	42,30	12,90
DAI1458	4,15 ±0,19 e	38,82±1,49 a	25,70	41,70	12,10
DAI1459	4,10 ±0,19 e	41,51 ±0,18 a b c d e	40,60	42,20	1,36
DAI1460	3,66 ±0,19 c d	41,93±0,24 b c d e f	40,10	42,70	1,81
RSAm205	3,65 ±0,19 c d	41,43±0,70 a b c d e	37,30	45,20	5,35

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). ANOVA, seguida de una comparación múltiple (SNK); $P < 0,05$.

**Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Prueba de Kruskal-Wallis, $P < 0,05$.

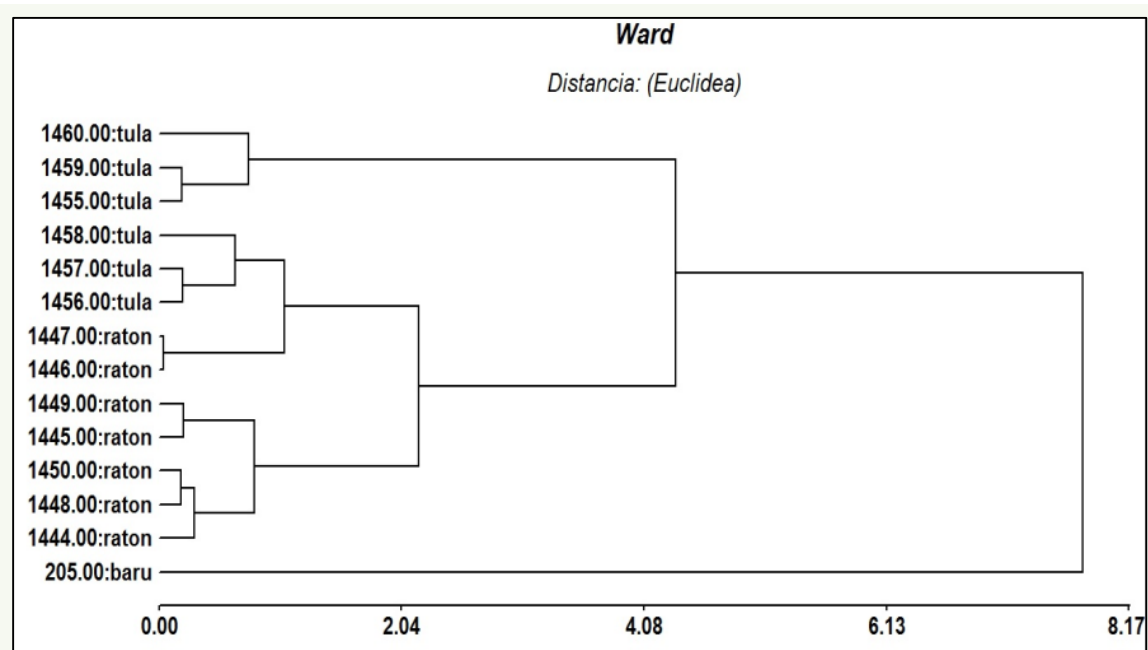


Figura 2. Aislados de *Akanthomyces lecanii* procedentes de la CNB evaluados de acuerdo a las variables microscópicas. Correlación cofenética= 0,896.



©2020 Ciencia Agropecuaria es desarrollada en el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional. Para más información escribir a cienciaagropecuaria@idiap.gob.pa

CONCLUSIONES

- Se confirma la identidad de los aislados encontrados como pertenecientes al género *Akanthomyces*, el cual es reportado por primera vez en Panamá como hiperparásito de *H. vastatrix*, encontrado naturalmente presente en plantaciones de café orgánico de la Comarca Ngäbe Buglé.
- Los resultados obtenidos en esta investigación, deben complementarse con la caracterización molecular para analizar la variabilidad genética, poblacional y geográfica de las cepas nativas. Adicional, se recomienda realizar estudios más detallados para identificar los mecanismos de acción de *Akanthomyces* y determinar si su acción es endofítica y/u otros comportamientos, son parte de interacciones tróficas complejas con otros organismos del agroecosistema del cultivo de café. También se deben realizar pruebas experimentales en invernadero y campo para evaluar la actividad hiperparasítica de las cepas nativas de *Akanthomyces lecanii* sobre *H. vastatrix* y seleccionar las más patogénicas e incluirlas en la estrategia de Manejo Agroecológico de Plagas del café en la Comarca Ngäbe Buglé.

BIBLIOGRAFÍA

- Alavo, B.C. 2015. The insect pathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas and its use for pests control: A review. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences 3:337-345. [http://dx.doi.org/10.18006/2015.3\(4\).337.345](http://dx.doi.org/10.18006/2015.3(4).337.345).
- Avelino, J., y G. Rivas. 2013. La roya anaranjada del cafeto. Proyecto: Control de la roya del café en Mesoamérica. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01071036/document> (consultado 26 mar.2018).
- Barnett, H.L., y B.B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS Press. St. Paul Minnesota. 218 p.
- Brady, B.L., 1979. *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. Description of pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Mycological Institute set-61 N°610.



- Bustillo, A.E. 1986. Evaluación del hongo *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* en el control de la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* en frijol. *Revista Colombiana de Entomología* 12(2): 26-31.
- Castillo, S., J. Bernal, J. Lezcano, M. Piepenbring, y O. Cáceres. 2013. Hongos entomopatógenos asociados a insectos recolectados en plantaciones de café en el oeste de Panamá. *Tecnociencia* 15(2): 29-39.
- Cressey, D. 2013. Coffee rust regains foothold. Researchers marshal technology in bid to thwart fungal outbreak in Central America. *Nature*. 493: 587. <https://doi.org/10.1038/493587a>
- Domsch, K.L., W. Gams, y T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soils fungi*. Acad. Press, Londres y Nueva York.
- French, E.R., y T.T. Hebert. 1979. *Métodos de investigación fitopatológica*. IICA, San José, Costa Rica.
- Guharay, F.; J. Monterrey; D. Monterroso; y C. Staver. 2015. *Manejo Integrado de Plagas en el cultivo de Café*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Managua, Nicaragua. 2000, Serie Técnica, Manual Técnico, n. 44.
- González-Dufau, G.I. 2013. Caracterización morfológica y molecular de cepas con potencial biocontrolador. In: *Memorias del XXVI Congreso Científico de la Universidad Nacional*, 21 al 25 octubre 2013.
- González-Dufau, G.I., J. Santamaría Guerra, y J. Rojas-Meza., J. 2019. Soberanía y seguridad alimentaria y nutricional: Escalamiento de la agricultura agroecológica para aumentar la producción de alimentos. Panamá. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). 80 pp. ISBN 978-962-677-47-5. <http://www.idiap.gob.pa/?wpdmdl=3944> (consultado 25 ago. 2020).



- Humber, R.A. 2005. Entomopathogenic Fungal Identification. USDA-ARS. <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/19070510/APSwkshoprev.pdf>
- Jackson, D., J. Skillman, and J. Vandermeer. 2012. Indirect biological control of the coffee leaf rust, *Hemileia vastatrix*, by the entomogenous fungus *Lecanicillium lecanii* in a complex coffee agroecosystem. *Biological Control*, 61(1): 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.004>
- Kepler, R.M., J.J. Luangsa-ard, N.L. Hywel-Jones, A. Quandt, G.H. Sung, A. Stephen, and B. Shrestha. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA FUNGUS*, 335-353. <https://doi:10.5598/imafungus.2017.0802.08>
- Leucona, R. 1998. Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos. 143-150. In: Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas. Roberto Leucona Ed. Buenos Aires, Argentina. Talleres gráficos Mariano Mas.
- Monzón C., A.J. 1992. Distribución de *Verticillium* sp. en tres zonas cafetaleras de Nicaragua, y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la roya (*H. vastatrix*) del café (*Coffea arabica* L.). Tesis (M.Sc.). CATIE, Turrialba (Costa Rica), 1992.
- Nicoletti, R. and A. Becchimanzi. 2020. Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture*10, 205; doi:10.3390/agriculture10060205
- Palacio, E., J. Santamaría-Guerra, L. Torres, E. Sánchez, y G.I. González D. 2014. Manejo agroecológico de plagas y enfermedades del cultivo de café (*Coffea arabica* y *Coffea canephora*) en la Comarca Ngäbe Buglé. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). Informe Técnico Anual. Memoria 2014. Disco compacto, 8mm.
- PROMECAFE- FWES NET. 2016. El impacto de la roya de café en el sector cafetalero de América Central. Informe Especial.



- Romero, D.S. 2020. Aislados nativos de *Lecanicillium* sp. para el manejo de la roya *Hemileia vastatrix* (Berk & Broome) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). Universidad Nacional Agraria. Facultad de Agronomía Maestría en Sanidad Vegetal. Trabajo de tesis.
- Saikkonen, K., S.H. Faeth, M. Helander, and T.J. Sullivan. 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annu. Rev. Ecol. System.* 29: 319–343.
- Seifert, K; G. Morgan-Jones, W. Gams, and B. Kendrick. 2011. The Genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands. 997 p.
- Santamaría-Guerra, J., and G.I. González-Dufau. 2017. The contribution of agroecology to the persistence of family agriculture in Panama. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 41:3-4, 349-365. <https://doi.org/10.1080/21683565.2017.1286281>
- Vandermeer, J., I. Perfecto, and H. Liere. 2009. Evidence for hyperparasitism of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) by the entomogenous fungus, *Lecanicillium lecanii*, through a complex ecological web. *Plant Pathology.* 58(4): 636-641. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02067.x>
- Vázquez, L. (2005). Experiencia Cubana en el Manejo Agroecológico de Plagas en Cafeto y Avances en la Broca del Café. Simposio sobre Situación Actual y Perspectivas de la Investigación y Manejo de la Broca del Café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México. J.F. Barrera (ed.). Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur Tapachula Chiapas, México, 2005, p. 46-57.
- Zare, R., and W. Gams. 2001. A revision of *Verticillium* sect. Prostata. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen nov. *NovaHedwigia* 73:1-50. <https://doi.org/10.1127/nova.hedwigia/71/2001/1>



AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Laboratorio de Investigaciones Botánicas-Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI) y a la doctora Tina Hoffman por su apoyo en el procesamiento preliminar de los aislados obtenidos. Se agradece a los productores José Gallardo y Lorenzo Morales por compartir sus conocimientos y por la atención brindada en la colecta de muestras en sus cafetales. A los revisores por sus valiosos aportes para mejorar el documento.

