

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



**Diversidad genética de roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* B. & B.) en distintas variantes de café (*Coffea arabica* L.) en Huehuetla, Hidalgo**

**Por:**

**Cristian Alejandro Roblero Morales**

**T E S I S**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Torreón, Coahuila, México

Marzo 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Diversidad genética de roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* B. & B.) en distintas variantes de café (*Coffea arabica* L.) en Huehuetla, Hidalgo

Por:

**Cristian Alejandro Roblero Morales**

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por:

Dr. José Abraham Obrador Sánchez  
Presidente

Dr. Antonio Castillo Martínez  
Vocal

Dr. Silvestre Moreno Avalos  
Vocal

M.E. Javier López Hernández  
Vocal suplente

M.E. Javier López Hernández  
Coordinador Interino de la División de Carreras Agrícolas

Torreón, Coahuila, México

Marzo 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Diversidad genética de roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* B. & B.) en distintas variantes de café (*Coffea arabica* L.) en Huehuetla, Hidalgo

Por:

**Cristian Alejandro Roblero Morales**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el comité de asesoría:



Dr. José Abraham Obrador Sánchez  
Asesor principal



Dr. Antonio Castillo Martínez  
Coasesor



Dr. Silvestre Moreno Avalos  
Coasesor



M.E. Javier López Hernández  
Coasesor



M.E. Javier López Hernández  
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas



Torreón, Coahuila, México

Marzo 2025

# **DEDICATORIA**

## **A mis padres**

Eulalio Roblero Velázquez e Hipólita Morales De León, por la confianza y el apoyo incondicional que me brindaron durante el transcurso de mi carrera. Además, por ser un gran ejemplo a seguir, muchos de mis logros se los debo a mis queridos padres y este es uno de ellos.

## **A mi hermana**

Elbiflor Roblero Morales por su apoyo incondicional, tanto económico como emocional, consejos y motivación a lo largo de mi carrera, siendo unos de los pilares para mi formación profesional ya que sin ella esto no hubiese sido posible y a la cual le estaré eternamente agradecido.

## **A mis amigos.**

Por todos los momentos que pasamos juntos durante nuestra etapa universitaria, por su cariño, consejos, apoyo y confianza, muchas gracias por todo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A **Dios** por permitirme llegar hasta este momento de la vida y gracias por los regalos de la vida.

A mi Alma Mater, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por haberme abierto las puertas y formarme durante mis años de estudio, además de haber podido establecer contacto con grandes profesores y académicos de la institución.

Al **Departamento de Parasitología** por apoyar a las diferentes generaciones de estudiantes que cubren la carrera de ingeniero agrónomo parasitólogo.

A mis asesores de tesis:

Al **Dr. José Abraham Obrador Sánchez**, gracias por permitirme trabajar en este proyecto e impartirme su conocimiento, también por ayudarme con los nuevos aprendizajes que genere gracias a sus enseñanzas; además agradecer por su sincera amistad, confianza y consejos.

Al **Dr. Vicente Hernández Hernández**, gracias por los conocimientos dados y adquiridos durante las clases, gracias a eso comencé un gusto por la fitopatología.

Al **Dr. Antonio Castillo Martínez**, por estar presente durante el proceso de la tesis, así como ser parte del jurado durante el examen profesional. También por su confianza, consejos y su sincera amistad.

Al **Dr. Claudio Ibarra Rubio**, por su apoyo, consejos y orientación durante toda la carrera, y por estar disponible para aclararme dudas, gracias por ser mi tutor.

A la **Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores**, gracias por el tiempo y las enseñanzas compartidas durante las prácticas y clases, además de su sincera amistad y consejos dados.

Al **M.C. Javier López Hernández**, por su confianza, consejos, enseñanzas durante las clases, además de su sincera amistad.

A la **Ing. Gabriela Muñoz Dávila**, por formar parte de la realización de la tesis y además por brindar su servicio durante mi etapa de estudiante, también por su amistad y buen trato.

Al **Ing. Didier Aguilera Ordaz**, por su apoyo, conocimiento y compañerismo en el laboratorio y por ser un buen amigo incondicional.

A todos mis profesores de carrera que me formaron y compartieron sus conocimientos en cada clase.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	iv
RESUMEN.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	2
1.2 HIPOTESIS.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1 Historia del cafeto.....	3
2.1.1 Importancia del café a nivel mundial.....	3
2.1.2 Importancia del café a nivel nacional.....	4
2.2 Estructura y morfología de <i>Coffea arábica</i> . .....	5
2.2.1 Raíz .....	5
2.2.2 Tallo.....	7
2.2.3 Hoja.....	8
2.2.5. Flor.....	10
2.2.6 Fruto .....	11
2.2.7 Semilla.....	13
2.3. Principales plagas del café.....	14
2.3.1 Plagas del suelo .....	14
2.3.1.1 Gallina ciega ( <i>Phyllophaga</i> spp) .....	14
2.3.2. Plagas que atacan el follaje .....	15
2.2.2.1. Broca del café ( <i>Hypothenemus hampei</i> ) .....	15
2.2.2.2 Hormiga arriera ( <i>Atta mexicana</i> ).....	17
2.2.2.3 Minador de la hoja del café ( <i>Leucoptera coffeella</i> ).....	18
2.2.2.4 Cochinilla del café ( <i>Planococcus lilacinus</i> ) .....	19
2.3 Enfermedades del café.....	20
2.3.1 Enfermedades de la raíz en el café .....	20
2.3.2 <i>Cercospora coffeicola</i> Berk & Coke (mancha de hierro).....	21
2.3.3 <i>Mycena citricolor</i> Berk et Curt (ojo de gallo - gotera).....	22

2.3.4	<i>Corticium koleroga</i> (mal de hilachas)	23
2.3.5	<i>Colletotrichum</i> spp (antracnosis)	24
2.3.6	<i>Hemileia vastatrix</i> (Roya del café)	24
2.4.2	Variedades de café resistentes a Roya	26
2.4.2.2	Variedad Geisha	27
2.4.2.3	Variedad Arábica	28
III.	MATERIALES Y METODOS	29
3.1	Área de estudio	29
3.2	Preparación de reactivos	30
IV.	RESULTADOS	39
V.	DISCUSIÓN	48
VI.	CONCLUSIÓN	51
VII:	LITERATURA CITADA	52

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Sistema radical de una planta de café (Adaptado de Suárez Castro, 1953).....	6
Figura 2. Desarrollo de plantas en estado de almácigo (Arcila, 1992).....	7
Figura 3. Crecimiento inicial de una planta de café. En el quinto nudo se observa la aparición de la primera rama lateral (Arcila <i>et al.</i> , 2001).....	8
Figura 4. Formación de la hoja del cafeto (Arcila <i>et al.</i> , 2007).....	9
Figura 5. Ubicación de las inflorescencias del cafeto. <b>a.</b> Nudos con botones florales en ramas plagiotrópicas; <b>b.</b> Nudo floral en brote ortotrópico: flores caulinares; <b>c.</b> Partes que componen una inflorescencia ( <b>Y:</b> yema; <b>Br:</b> bráctea; <b>Bf:</b> botón floral; <b>Gl:</b> glómulo o inflorescencia) (Camayo y Arcila, 1996).....	10
Figura 6. Morfología floral del café. 1. Estambre; 2. Anteras; 3. Pistilo; 4. Estigmas y 5. Ovarios (Alvarado y Rojas, 1994).....	11
Figura 7. Estructura del fruto del café (Alvarado y Rojas, 2007). ....	12
Figura 8. Estructura del fruto del café, (Federacafé, 2008).....	13
Figura 9. Partes de la semilla de café (Velásquez <i>et al.</i> , 2003).....	14
Figura 10. Larva de gallina ciega ( <i>Phyllophaga</i> sp.) Fotografía: Samuel Cruz-Esteban. ....	15
Figura 11. Broca penetrando en cerezo del café (Deysi-Estrada, 2019). ....	16
Figura 12. Broca del café (Deysi-Estrada, 2019). ....	17
Figura 13. Hojas del café afectadas por la hormiga arriera (Deysi-Estrada, 2019). ....	17
Figura 14, Larva completamente desarrollada (Constantino et al, 2011).....	18
Figura 15. <i>P. lilacinus</i> en rama de café. Créditos: Pascal Chaput (SENASICA, 2014) .....	19
Figura 16. Cochinilla del café en hoja. Créditos: Pascal Chaput (SENASICA, 2014) .....	19
Figura 17. Sintomatología de <i>Ceratocystis fimbriata</i> (Castro, 1999). ....	21
Figura 18. Síntoma de <i>Cercopora coffeicola</i> (Moreira M, 2023). ....	22
Figura 19. Síntomas de <i>Mycenia citricolor</i> en hoja de café (Sotomayor H, 1995).....	23
Figura 20. Micelio de <i>Corticium koleroga</i> en el envés de una hoja de café (Muthappa, 1979). ....	24
Figura 21. Eventos de trascendencia mundial por efecto de la roya. Fuente: Elaboración PMC (Escamilla <i>et al.</i> , 2021). ....	26
Figura 22. Variedad Colombia (Escamilla <i>et al.</i> , 2021).....	27
Figura 23. Variedad Geisha (Velazquez O, 2019).....	27
Figura 24. Ubicación satelital del Municipio de Huehuetla, Hidalgo (Google maps, 2024).....	29
Figura 25. Preparación del reactivo Buffer AW2 Wash buffer 2. ....	30
Figura 26. Solución 1 a 1 de agua y fenol.....	31
Figura 27. Cortes en hojas que presentan roya.....	32
Figura 28. Pedazos de hoja con roya en cajas Petri. ....	32
Figura 29. Trituración de hojas con roya en mortero. ....	33
Figura 30. Microtubo con sobrenadante .....	34
Figura 31. Microtubo en vortex.....	35
Figura 32. Colocación de los microtubos en centrifuga.....	36
Figura 33. Secado en cabina de luz UV.....	37
Figura 34. Depósito de agua ultra pura a microtubos con el ADN. ....	37
Figura 35. Depósito de ADN en Nanodrop.....	38
Figura 36. Observación de esporas bajo microscopio .....	39

Figura 37. Roya presente en hojas de las variedades A: Marago, B: Colombia, C: Catimor, D: Arábiga, E: Geisha. ....	40
Figura 38. Esporas del hongo ( <i>Hemileia vastatrix</i> ) presente en hojas de las variedades <b>A:</b> Marago, <b>B:</b> Colombia, <b>C:</b> Catimor, <b>D:</b> Arábiga, <b>E:</b> Geisha. ....	41
Figura 39. Observación de esporas de <i>Hemileia vastatrix</i> . ....	42
Figura 40. Microtubos en cabina de luz UV. ....	42
Figura 41. Cantidad de ADN obtenido al ser analizado en NanoDrop. ....	43
Figura 42. Electroferograma con curvas de señal estables. ....	45
Figura 43. Electroferograma con curvas de señal inestables. ....	45
Figura 44. Árbol filogenético generado a partir de las secuencias depositadas en Genbank y de las cepas de <i>H. vastatrix</i> obtenidas de cafetos de la zona de Huehuetla, Hidalgo. ....	47

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Producción mensual agrícola de café (SIAP, 2022) .....	5
Cuadro 2. Numeración de micro tubos y sus respectivas variedades .....	34
Cuadro 3. Cantidad obtenida de ADN en microtubos numerados del 1-13 .....	44

## RESUMEN

El café en si es la semilla del fruto del cafeto, es uno de los productos primarios más importantes en el consumo como bebida en México de forma cotidiana. El cultivo se ve perjudicado por plagas y enfermedades que dañan de forma notable a la planta, causando reducción en la producción y baja calidad en los granos. La roya producida por el hongo del género *Hemileia*, genera el mayor número de pérdidas al afectar la actividad fotosintética de las hojas. En México, se tienen pocos estudios a nivel genético de ésta enfermedad; para el presente estudio, se juntaron muestras de hojas infectadas con roya de 5 variedades de café establecidas en Huehuetla, Hidalgo, México; el material vegetal fue procesado en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Se utilizó un kit (QIAGEN®) para la extracción de ADN del hongo *Hemileia vastatrix*; la calidad y el porcentaje de ADN en cada variedad fueron visualizados utilizando Nanodrop (Thermo scientific). La región rDNA-ITS del ADN fue amplificado utilizando los cebadores universales ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Las amplificaciones obtenidas fueron enviadas a MACROGEN para su secuenciación, los resultados de los electroferogramas fueron analizados con el uso de los programas informáticos MEGA11 y UGENE. Las secuencias idóneas resultantes fueron utilizadas para generar los análisis filogenéticos comparándose con las reportadas en GENBank. Los resultados del análisis filogenético mostraron que las cepas de *Hemileia vastatrix* presentes en el municipio de Huehuetla, Hidalgo; pertenecen a un mismo clado filogenético con similitud genética emparentadas a las razas reportadas en Chiapas y Brasil; lo que indica una ruta de migración del patógeno, al transportarse las cepas de Brasil al estado de Chiapas y dispersarse hacia el estado de Hidalgo.

**Palabras clave:** Cafeto, Roya, Filogenia

## I. INTRODUCCIÓN

El café se encuentra entre uno de los principales productos agrícolas más consumidos a nivel mundial; A nivel internacional, México es el octavo productor de café (OIC, 2014), por su geografía, se pueden establecer variedades clasificadas en 14 estados de la república como las mejores del mundo, abarcando una superficie de 700,993.52 ha (SIAP, 2022). El café es un cultivo importante socialmente y económicamente para México. La producción de café tiene un gran impacto positivo para el país, existen 349,701 Unidades de producción (UP), 509,817 productores, 680 mil hectáreas sembradas donde trabajan 486,339 jefes familiares, una producción media de 4.7 millones de costales (60k/ costales). El cultivo de café origina 4.5 millones de puestos y se produce en 960 municipios, aunque es trascendental sólo en 236, de 15 entidades de México (INEGI, 2007). Se estima que existen 35 mil productores en el estado de Hidalgo, divididos en 24,000 ha de cultivo de la zona Otomí/Tepehua y las sierras Alta y Gorda, las cuales son sierras de marginación elevada. A nivel nacional el estado de Hidalgo se posiciona en 6to lugar en producción, destacando la sierra Otomí/Tepehua y la Huasteca Hidalguense como las principales zonas productoras de café de calidad en el estado (Fernández, 2021).

La roya es la más devastadora enfermedad del café y la de mayor impacto económico en el rango global, el hongo causa defoliación severa propiciando la disminución de la fotosíntesis, debilitando las plantas afectadas y en infestaciones significativas provocar defoliación severa e incluso la muerte de cafetos (APS, 2011). El impacto económico de *Hemileia vastatrix* (Berk. & Broome, 1869) en el cultivo del café disminuye el rendimiento y alto nivel de producción, siendo necesario llevar a cabo estrategias costosas de control en los cultivares susceptibles (CABI, 2016). En el presente trabajo se analizó el ADN del hongo que provoca la roya en hojas de la planta del café colectadas en el Estado de Hidalgo, para identificar las cepas presentes en el sitio de estudio.

## **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Analizar la diversidad genética del gen ITS de roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* B. & B.) presente en distintas variedades de cafeto (*Coffea arabica* L.) de Huehuetla, Hidalgo.

## **1.2 HIPOTESIS**

Las cepas de *Hemileia vastatrix* aisladas de distintas variedades de cafeto están relacionadas filogenéticamente.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Historia del cafeto

Clasificado como un arbusto el café, que tiene su origen hacia las áreas altas de África central, específicamente del Sureste de Etiopía y el Norte de Kenia; siendo Etiopía el lugar reconocido del origen del café (Gebeyehu *et al.*, 2020). La historia del café tanto como en su forma vegetal y en su uso bebible es demasiado ligada a la historia de los importantes mercaderes e imperios grandes y; primero, representados por los árabes, seguido de los turcos en el siglo XV, y finalizando con los colonizadores europeos a partir del siglo XVIII (Herrera y cortina, 2013).

El café llegó a la Nueva España alrededor de 1790 y su cultura se expande en la primera mitad del siglo XIX, principalmente en Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Tabasco y Michoacán. Durante el Porfiriato creció la cafecultura inducida por empresas transnacionales en grandes fincas especializadas. A partir de la reforma agrarista de Cárdenas (1934-1940), paso a ser una actividad de grandes plantaciones a pequeñas parcelas de campesinos y población indígena. Los grandes productores de café lograron conservar los terrenos más fértiles y mantener así una posición ventajosa hasta la fecha (Figueroa *et al.*, 2015).

#### 2.1.1 Importancia del café a nivel mundial

El café (*Coffea arabica* L.) es una de las plantaciones más significativos de rango global, ejerciendo un gran impacto de capital en países en vías de crecimiento (Villalta y Gatica, 2019). El café ha sido comercializado como producto de consumo por Occidente mayor a cuatro siglos. En la actualidad dicho producto es el segundo que más se comercializa mundialmente, solo detrás de la industria petrolera; la Organización Internacional del Café (OIC) menciona que anualmente en el mundo se consumen 501 billones de tazas de café, siendo los suizos los consumidores primarios de café a nivel mundial, ya que adquieren 7 kilogramos por persona al año (Mercadeo, 2012).

Es fundamental situar su importancia productiva y comercial para la comunidad; alrededor de 60 países en regiones tropicas y subtropicales producen café extendidamente, para varios de estos países, el café es el producto agrícola principal de

exportación (Geleta *et al.*, 2012). La producción de café representa uno de los sectores significativos internos del ámbito agroindustrial, debido al impacto socio-ambiental que generando el lado económico que conlleva ello en casi todo el mundo (Diario Contra Poder en Chiapas, 2015).

### **2.1.2 Importancia del café a nivel nacional**

La caficultura en México es vista como una acción táctica relevante, eso se debe a que facilita la incorporación de cadenas productivas, generando divisas y cargos, siendo forma de sustento de productores pequeños, involucrando cerca de 30 grupos indígenas y de mucha importancia ecológica, contribuyendo a conservar la biodiversidad y funge como provisor de funciones ambientales esenciales para la comunidad (Palomares *et al.*, 2012).

Existen 14 estados que producen café que, en el país son: Veracruz, Puebla, Morelos, Colima, Hidalgo, Nayarit, Oaxaca, Jalisco, Guerrero, México, San Luis Potosí, Querétaro, Tabasco (Cuadro 1); de los cuales tres estados son los de mayor producción de café, Chiapas ocupa el primer lugar, seguido por Veracruz y por último Oaxaca. (SIAP, 2022). El café es el primordial producto agrícola de exportación, manteniendo el primer lugar a pesar de la disminución del precio internacional y a las plagas que existen como la roya del cafeto y los desastres naturales; este producto simboliza una de las fuentes primarias en producción de divisas para el país en el ámbito agropecuario (Diario Contra Poder en Chiapas, 2015).

	Entidad	Superficie (ha)			Producción	Rendimiento (udm/ha)
		Sembrada	Cosechada	Siniestrada		
1	Chiapas	243,753.87	239,737.77	0	385,703.64	1.61
2	Veracruz	144,670.71	127,804.21	0	243,135.09	1.9
3	Puebla	71,629.12	66,199.02	0	171,699.74	2.59
4	Oaxaca	132,923.10	113,765.46	0	87,560.40	0.77
5	Guerrero	45,431.23	40,123.50	0	38,315.39	0.95
6	Hidalgo	23,006.50	22,953.50	0	28,604.45	1.25
7	San Luis Potosí	16,150.50	16,147.50	0	11,796.65	0.73
8	Nayarit	16,053.43	12,707.68	0	11,010.07	0.87
9	Jalisco	3,511.50	3,511.50	0	4,877.34	1.39
10	Colima	2,749.00	2,740.00	0	3,337.36	1.22
11	México	531.46	531.46	0	490.51	0.92
12	Tabasco	357.5	357.5	0	424.53	1.19
13	Querétaro	199	199	0	109.45	0.55
14	Morelos	26.6	25.5	0	37.3	1.46
<b>Total</b>		<b>700,993.52</b>	<b>646,803.60</b>	<b>0</b>	<b>987,101.92</b>	<b>1.53</b>

Cuadro 1. Producción mensual agrícola de café (SIAP, 2022)

## 2.2 Estructura y morfología de *Coffea arábica*.

El café se considera una planta semipermanente, requieren de 2 - 5 años desde que se plantan hasta obtener la primera cosecha y depende de la variedad pueden seguir produciendo entre 20 y 40 años. En México la producción de café se implementa bajo diferentes condiciones climáticas, dando origen a una amplia gama de variedades y calidades, así como diferentes períodos de floración y fructificación lo cual hace que la recolección manual de la cereza sea necesaria, la cosecha se lleva a cabo de septiembre a abril aplicando de 2 a 3 cortes por ciclo (Nájera, 2002).

### 2.2.1 Raíz

El sistema radicular es fundamental e importante para asimilar las plantas. Su tarea se relaciona con la fijación, captar agua, nutrientes para sustento propio, producción de controladores de desarrollo de la planta y otras mezclas orgánicas. En plantas la raíz se origina comenzando desde la simiente, específicamente situado en el embrión en la

parte inferior. Al empezar a germinar, la radícula progresa antes, lo que da inicio a la raíz primordial, la cual de ella despliega el sistema radicular totalmente, y agrupados es conocido como raíz central (Flórez *et al.*, 2013).

Con la existencia de una raíz vital las plántulas de café tiernos establecen mecanismo ramificado extensamente, predominando ante toda raíz incidental (axiales y laterales) denominada como una raíz céntrica en plántulas adultas, capaz de llegar un promedio de 50 a 60 centímetros de profundo. Las raíces profundas funcionan como anclaje para la planta y las que crecen lateralmente generan raicillas que captan todos los nutrientes de la tierra. El 80% de dichas raicillas se concentran primeramente en los 30 cm de profundo (Nutman, 1993; Arcila *et al.*, 2007) (Figura 1).

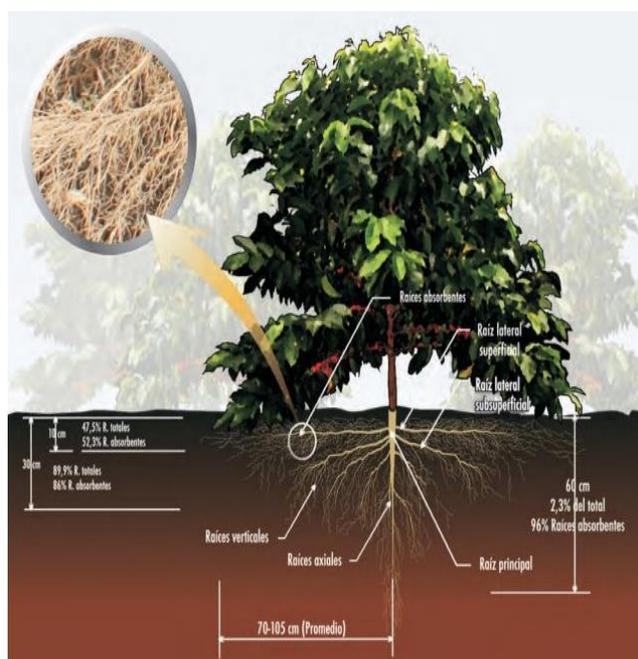


Figura 1 Sistema radicular de una planta de café (Adaptado de Suárez Castro, 1953).

El crecimiento del cafeto revela que hay una regulación de proporciones de la parte aérea y las raíces; dicha proporción es mayor en las etapas iniciales de crecimiento en las raíces, pero al paso que la planta se desarrolla tiende a invertirse (Figura 2), ya que incrementa en relación con la raíz (Arcila, 1992).

Desde la germinación se manifiestan las circunstancias que limita el crecimiento del sistema radical por complicaciones en la mejora de la simiente, sustrato húmedo excesivo, siembra inapropiada, excesivo uso de productos químicos, tamaño inapropiado de bolsas, exceso de poda o doblado de raíz durante la plantación. En el suelo, puede verse restringido por diferentes tipos de suelo o por la textura y su sistema, pedregosidades altas, drenaje deficiente, retención de agua, el cual afecta el desarrollo adecuado (Arcila *et al.*, 2007).



Figura 2. Desarrollo de plantas en estado de almácigo (Arcila, 1992).

### 2.2.2 Tallo

El cafeto generalmente se compone de un eje céntrico o un único tallo, así como nudos y entrenudos. En 3 o 4 de los nudos de una plántula joven se desarrollan solo hojas, a partir de ese punto, se desarrollan ramas laterales derivadas de yemas formadas en dichas axilas superiores en cada hoja (Figura 3). Se generan dos yemas o más en cada axila, la yema baja da lugar a retoños nuevos los cuales no se desarrolla excepto si se realiza una poda del tallo esencial (Arcila *et al.*, 2001).

Se generan dos axilas foliares en cada nudo de manera inversa y en ambas se crean de cuatro a cinco series de yemas denominadas axilares o laterales. El primero origina brotes que se extienden de forma horizontal (Ramas primarias), formando un par por cada nudo. La yema próxima de la secuencia produce retoños verticales, y las yemas siguientes permanecen inactivos, aunque, pueden producir flores o frutos que crecen encima del tallo (Arcila *et al.*, 2007).



Figura 3. Crecimiento inicial de una planta de café. En el quinto nudo se observa la aparición de la primera rama lateral (Arcila *et al.*, 2001)

### 2.2.3 Hoja

Principalmente las hojas son la estructura más relevante del cafeto, en las cuales tiene lugar a procesos que son esenciales para el crecimiento y sostén de la planta, la fotosíntesis, la respiración y transpiración. Un buen crecimiento vigoroso y hojas sanas se transmite como buena funcionalidad de la plántula (Flórez *et al.*, 2013). La superficie de la hoja llega a medir de 12 a 24 cm de largo con un ancho de 5 a 12, variando su forma desde ovalado a oblonga. Sus tamaños de hoja no varían solamente entre especies y sembradíos, ya que depende también de la influencia de sombra o bajo directa exposición al sol (Alvarado y Rojas, 2007)

El proceso de formación de hojas en la planta de café empieza con múltiples secciones que ocurren en una de las tres externas capas celulares, cerca del brote apical, transformándose un abultamiento lateral o primordio foliar (Figura 4), que posteriormente a través de divisiones constantes y desarrollo de estas finalmente dará lugar a una hoja (Arcila *et al.*, 2007).



Figura 4. Formación de la hoja del cafeto (Arcila *et al.*, 2007).

#### 2.2.4 Inflorescencia

A partir de la floración de la planta de café representa una señal crucial que determina la distribución y la producción de la cosecha durante el año en la región cafetera. Este proceso de desarrollo floral es influenciado por la condición ambiental específica del área, siendo un proceso complejo que comienza entre cuatro a cinco meses antes de la antesis (Camayo *et al.*, 2003). Su florescencia principalmente es formada desde brotes dispuestas en serie, situadas en las axilas de las hojas, presentes en nudos de brotes plagiotrópicos y ocasionalmente en nudos de ramas ortotrópicas (Figura 5 a-b-c) (Camayo y Arcila, 1996).

Hay dos axilas de hojas opuestas en cada nudo donde se crean de 3 - 4 yemas en cada axila. Todas las yemas tienen un tallo conciso nombrado pedúnculo, esta luce

diversos nudos donde incluyen dos hojas contrarias minimas, conocidas como brácteas, en las axilas se generan de cuatro botones de flor aproximadamente (Figura 5c). Dicho grupo conforma la inflorescencia o el glomérulo, siendo capaz cada nudo para originar de 24 a 32 flores, aunque esta no es una regla absoluta (Arcila, 2004).



Figura 5. Ubicación de las inflorescencias del cafeto. **a.** Nudos con botones florales en ramas plagiotrópicas; **b.** Nudo floral en brote ortotrópico: flores caulinares; **c.** Partes que componen una inflorescencia (Y: yema; Br: bráctea; Bf: botón floral; Gl: glomérulo o inflorescencia) (Camayo y Arcila, 1996).

### 2.2.5. Flor

Los brotes florales se localizan en las axilas de las hojas de 1 a 3 ejes, las cuales se ramifican en 2 a 6 divisiones cortas miden entre 2 a 4 mm, cada una terminando en una flor, además está compuesta por el cáliz, estambres, corola y pistilos (Figura 6). El cáliz esta menormente desarrollado y se sitúa en la parte inferior de la flor (Alvarado y Rojas, 1994). La corola es una estructura tubular con una base cilíndrica se divide en la parte superior cinco pétalos midiendo de 6 a 12 mm; cuando el color del brote floral está cerrado es verde; a medida que se va abriendo cambia a color blanco (Alvarado y Rojas, 1994).

Contiene cinco estambres y se ubican dentro del tubo de la corola, alternando con los pétalos, constan de filamentos finos y mantiene anteras largas, las cuales se abren

longitudinalmente al alcanzar la madurez para dispersar el polen (Alvarado y Rojas, 1994). La flor tiene un ovario supero con doble óvulo que forma el gineceo (Alvarado y Rojas, 1994).

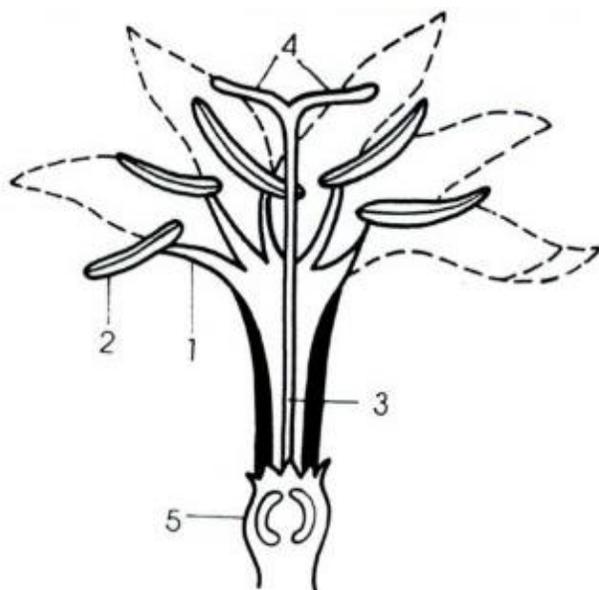


Figura 6. Morfología floral del café. 1. Estambre; 2. Anteras; 3. Pistilo; 4. Estigmas y 5. Ovarios (Alvarado y Rojas, 1994).

### 2.2.6 Fruto

El fruto presenta un área lisa, brillante y de pulpa fina; compuesto de tres piezas distintas: el epicarpio, el mesocarpio y la simiente. Al madurar su color varía de colores rojizo o amarillento, depende del tipo de cultivo (Alvarado y Rojas, 2007). La cereza del café posee un pedicelo que lo une al tallo y presenta una estructura similar al tallo.

La pulpa de la cereza del café, está compuesta por el pericarpio, el cual a su vez se divide en exocarpio y el mesocarpio (Figura 7). Cuando el fruto madura, el pericarpio padece diversas alteraciones tanto químicas (incremento de agua, azúcares y taninos) como estructurales (cambios tanto en forma, el tamaño, incremento y lignificación en pared celular). Con el incremento de lignificación en estas paredes, se produce la rebaja del contenido de sacarosa y agua (Federacafé, 2008).

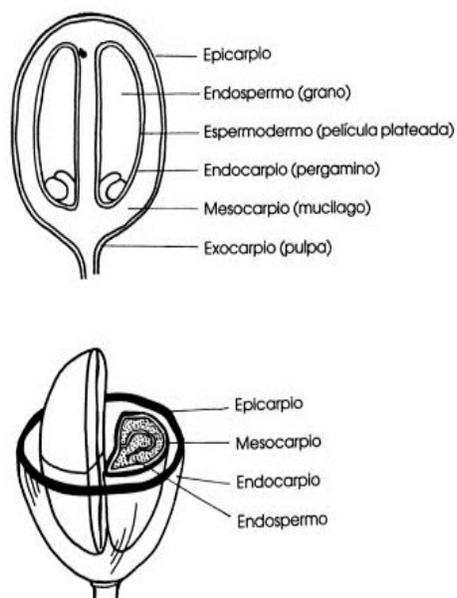


Figura 7. Estructura del fruto del café (Alvarado y Rojas, 2007).

En un fruto perfectamente maduro, el endocarpio finalmente desarrollara el pergamino de la simiente, es blanco y con un espesor de 0,1 mm, dúctil de considerable resistencia (León y Fournier, 1962). Este pergamino se forma a través de fibras con paredes resistentes, reducido lumen, fusiformes, juntas de forma compacta, de manera que le proporciona una potencia notable al endocarpio (Figura 8) (Federacafé, 2008).

El contenido total de clorofila disminuye a la vez que madura el fruto gradualmente hasta poder llegar a esfumarse en frutos de 30 semanas posterior a su floración (Ocampo *et al.*, 2010). En contraste, aumenta significativamente el nivel de antocianinas, particularmente cianidina (coloración roja del fruto) durante la cuarta etapa del desarrollo (Salazar, 1993).

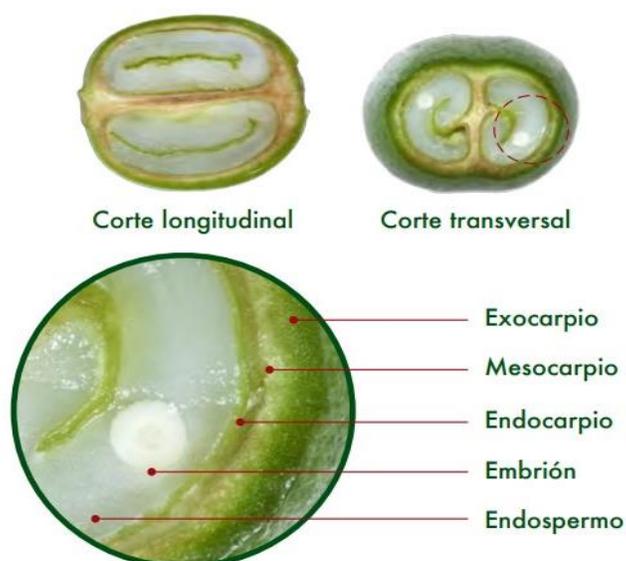


Figura 8. Estructura del fruto del café, (Federacafé, 2008).

### 2.2.7 Semilla

El objetivo de semilla en esta planta es asegurar la continuidad de la variedad, siendo el órgano el que se mercantiliza en este caso. Dicha simiente es el factor esencial de los productores de café, y la fortuna del cultivo se basa de su buena calidad de semilla (Flórez *et al.*, 2013). El endospermo es su principal componente, debido a que el embrión, que se encuentra en la parte basal es diminuto. El endospermo es coriáceo, verde o amarillo y forma un repliegue que se inicia en una ranura de la cara plana. Está cubierto en una película plateada muy fina, rodeado por el pergamino. El fruto tiene una capa exterior oscura llamada endospermo duro igual una más clara, el suave endospermo (Alvarado y Rojas, 2007).

A la hora de la fecundación comienza la formación de la semilla del café, inicia una cadena de eventos que resultan en la producción de un fruto que usualmente tiene dos simientes (Arcila *et al.*, 1992). Dicha simiente es una nuez, alargada, plano convexo y que varía en volumen (Arcila *et al.*, 2007). Está compuesta por una película y se forma gracias a células esclerenquimáticas fusiformes con un tamaño diminuto que cubre al endospermo (Figura 9) (Velásquez *et al.*, 2003). El embrión se ubica encima de la cara curva de la simiente, formado por un hipocótilo que origina la radícula y un epicótilo a base de la cual da origen los dos cotiledones (Velásquez, 2003).

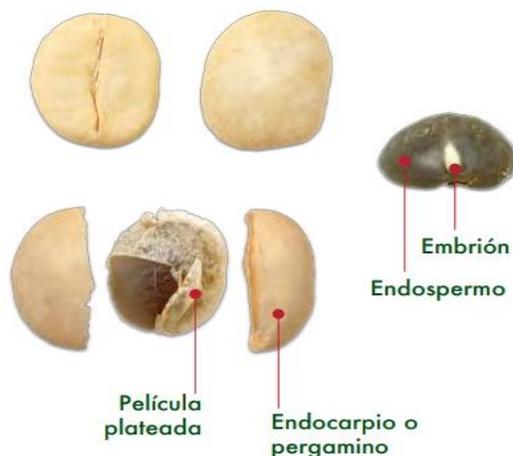


Figura 9. Partes de la semilla de café (Velásquez *et al.*, 2003).

## 2.3. Principales plagas del café

Plaga, conocida como la aparición repentina y masiva de insectos, animales u otros organismos de especies iguales que ocasiona distintos daños. Las plagas generalmente surgen por inestabilidad ecológica que ha causado el ser humano, por lo tanto, no se debe aplicar plaguicidas sin saber su existencia y de qué tipo es; para esto es importante aplicar un manejo integrado adecuado de plagas con un monitoreo continuo para ver la alternativa de usar enemigos naturales, agentes de control biológico y como última opción usar un agroquímico propio para la determinada plaga (Ureña-Zumbado, 2009).

### 2.3.1 Plagas del suelo

#### 2.3.1.1 Gallina ciega (*Phyllophaga* spp)

Pertenecientes a la familia Scarabaeidae, son larvas de escarabajos que son fitófagos dentro de la subfamilia Melolonthinae, del género *Phyllophaga*. En este género las especies presentan tres estadios larvales, estas larvas habitan en la tierra alimentándose de la materia puro y orgánico, raíz de las plantulas, por lo que es el estadio de larva la etapa dañina (Olmedo, 2016).

Diversas especies del género *Phyllophaga* (Coleópteros: Melolonthidae) (Figura 10), son plagas que ocasiona significativas pérdidas económicas en el sector agrícola (Ramírez y Castro, 2000). Los adultos miden entre 1 a 2 centímetros a lo largo, depositan

los huevecillos en suelos con abundante material orgánico. Las larvas pueden ser encontradas en el suelo a una profundidad de 5 - 20 centímetros, con un cuerpo blanco presentando una forma curvada en “C”. Los síntomas que indican su presencia incluye árboles jóvenes menores de un año que muestran clorosis y defoliación, al ser arrancados se revela que sus raíces han sido consumidas casi totalmente por las larvas (Estrada, 2019).

Las larvas dañan directamente causando la mutilación de las raíces que a su vez permita que los hongos presentes en suelo los invadan. Las plántulas toman un color amarillo, las hojas se marchitan y al poco tiempo en muchos casos muere. Si estas larvas no son controladas rápidamente, ocasionara daños al cultivo alcanzando proporciones significativas, ya que su apetito incrementa anualmente y su población se extiende a causa de nuevas puestas (Olmedo, 2016).



Figura 10. Larva de gallina ciega (*Phyllophaga* sp.) Fotografía: Samuel Cruz-Esteban.

## 2.2.2. Plagas que atacan el follaje

### 2.2.2.1. Broca del café (*Hypothenemus hampei*)

La broca del café, *H. hampei* (Ferrari) representa la plaga más significativa de sembrados mercantiles (Figura 11) en estados generadores de cafeto de México (Deysi-Estrada, 2019). Es originario de África central y se ha expandido hacia casi todas las áreas productoras de café. La broca daña solo los frutos del café causado por las larvas y adultos (Le-Pelley, 1968) que ingresan perforándolos de preferencia a través de la

herida en la corola en frutos maduros. Dentro la hembra deposita huevos y estas surgen y crecen hasta la fase adulta; dejan el fruto infestado al ser fecundadas. Junto con la cosecha la ovoposición cesa, la broca se refugia en el interior de los frutos caídos o en aquellos que no fueron cosechados (Colonia, 2012).



Figura 11. Broca penetrando en cerezo del café (Deysi-Estrada, 2019).

Tras emerger después del estadio pupal, la hembra demora al menos 4 días para quedar lista y reproducirse, tarda 20 días depositando huevecillos de 2 a 3 huevos al día, mientras tanto el macho adulto, solo asiste en la cúpula, nunca abandona los frutos por su incapacidad de volar y es de menor tamaño que la hembra. Su ciclo vital tarda  $\pm 28$  días, al colonizar la baya la hembra empieza a ovopositar, y se mantiene dentro de la baya, atravesando con más rapidez en bayas maduras (Figura 12), atacando frutos cuando tienen  $\pm 150$  días de formarse. Debido a esta razón los productos biológicos y químicos muestran eficiencia de entre 120 a 150 días posterior a florecer. Las brocas en la temporada de lluvias emergen de las bayas para volver a invadir frutos nuevos en el cafeto (Deysi-Estrada, 2019).



Figura 12. Broca del café (Deysi-Estrada, 2019).

#### **2.2.2.2 Hormiga arriera (*Atta mexicana*)**

Siendo una hembra fecundada se introduce al suelo, buscando un área terrosa ligeramente inclinado, deja caer sus alas para después excavar por muchas horas hasta hacer galerías para depositar una gran cantidad de huevos; cuatro meses después surge la primera pila de tierra lo cual revela que las obreras primeras comenzaron ya sus labores y comienzan a construir una cámara para cultivar el hongo. Seis meses después surgen de dos a tres montículos y casi al año surgen las hormigas forrajeras que comienzan a perforar hojas a las plántulas que estén cerca de su colonia y lo transportan dentro (Figura 13) (Deysi-Estrada, 2019).



Figura 13. Hojas del café afectadas por la hormiga arriera (Deysi-Estrada, 2019).

### 2.2.2.3 Minador de la hoja del café (*Leucoptera coffeella*)

La afectación es provocada por la polilla *L. coffeella*, perteneciente del orden Lepidóptera. En la mayor parte del día los adultos están en reposo en el envés de las hojas. La puesta de huevos se realiza por la noche en la parte superior de la hoja. Las larvas que emergen entran al interior para devorar las hojas (Colonia, 2012). El mini lepidóptero, induce un daño considerable, sus larvas dañan las hojas, creando lesiones y en muchas ocasiones pueden provocar defoliaciones severas que tiene una intensidad mayor en la época seca en cafetales sombreados y aquellos con contacto directo a la luz del sol (Julio, 2009).

Las larvas causan el daño cuando se alimentan de las hojas (Figura 14), llegando a consumir durante su desarrollo una única larva con longitud corporal de 1,0 o 2,0 cm en el área de las hojas causa necrosis cuando múltiples minas se agrupan de más del 80% del area foliar. Una incidencia alta puede causar caída en las hojas dañadas. Dichas incidencias llegan a la defoliación afectando botones florales reduciendo así el desarrollo de frutos (Constantino *et al.*, 2011).



Figura 14, Larva completamente desarrollada (Constantino *et al.*, 2011).

#### 2.2.2.4 Cochinilla del café (*Planococcus lilacinus*)

El organismo plaga *P. lilacinus* afecta diversos cultivos de importancia en el ámbito económico incluye cacao y café, el cual provoca perjuicios significativos a los árboles jóvenes al matar los brotes de desarrollo en ramificaciones (Cox, 1989). Este insecto se nutre succionando la savia de áreas más tiernas de las plántulas. Dirigiéndose hacia las flores que son las que afecta principalmente, frutos, tallos y hojas. En una alta infestación los órganos foliares se vuelven en clorosis produciendo aborto floral o decaimiento de la plántula. Al mismo tiempo que ataca los frutos y flores se observa una disminución notoria en la calidad (Figuras 15 y 16). Cuando la cochinilla se alimenta excreta desechos azucarados, permitiendo desarrollar la fumagina. Al momento de infestación severa atacan hasta la raíz, causando que la planta se debilite y muera (CABI, 2014).



Figura 15. Cochinilla del café en hoja. Créditos: Pascal Chaput (SENASICA, 2014)



Figura 16. *P. lilacinus* en rama de café. Créditos: Pascal Chaput (SENASICA, 2014)

## 2.3 Enfermedades del café

Las enfermedades presentes en la planta de cafeto, en su mayoría son provocadas por hongos, siendo la roya la más importante causada por *Hemileia vastatrix* (Berk y Br), registrada entre las 10 enfermedades altamente destructivas a nivel mundial (Leyva, 2018). Su control es de suma importancia necesitando mucho empeño y conocimiento humano, físico y económico centrados para combatirla; no obstante, hay otras de carácter nativo y relevantes a nivel región presentándose en alguna fase y época del cultivo lo cual limitan el crecimiento y producción de la plantula (Castillo, 1991). Otros hongos de importancia económica son la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*), mal de hilachas *Corticium koleroga* y ojo de gallo (*Mycena citricolor*) (Leyva, 2018).

### 2.3.1 Enfermedades de la raíz en el café

Esta enfermedad se conoce como cáncer del tronco y se ocasiona por los hongos de la tierra *Ceratocystis fimbriata*, *Ceratocystis papillata* y *C. colombiana* (Wan Wyk et al., 2010). Las plantulas de café que se infectan por *Ceratocystis* suelen distribuirse aleatoriamente en las parcelas. Los signos iniciales se observan en las hojas, como clorosis, marchitamiento y eventual eliminacion de la planta (Figura 17). Los síntomas podrían fácilmente confundir por daños de llagas de raíces (*Rosellinia* spp.), mal rosado (*Erythricium salmonicolor*), por daño de palomilla en raíces o por exceso de agua. Pero, para aclarar el ataque del mismo, con una navaja, se remueve la corteza, se observa si hay lesiones negras y duras presentes en el cuello o en una fraccion cualquiera del tallo (Fernández, 1964; Castro, 1999).



Figura 17. Sintomatología de *Ceratocystis fimbriata* (Castro, 1999).

### 2.3.2 *Cercospora coffeicola* Berk & Coke (mancha de hierro)

Mancha de hierro del cafeto, causada por el hongo *C. coffeicola* representa esa enfermedad importante bajo condiciones de alta exposición solar y un estado de nutrición deficiente. Ataca las plántulas ya sea jóvenes o maduras, a partir de las hojas las que produce lesiones chicas de forma circular color pardo claro o marrón rojizo con un diámetro de 1 a 3 mm (Figura 18), lo que resulta en pérdidas de peso, deterioro de calidad y conversión deficiente (Guzmán, 2004). La enfermedad se favorece por la baja humedad relativa y alta luminosidad, la dispersión de la enfermedad se desarrolla rápidamente en cafetales expuestos al sol, en presencia de sombra, lo cual normalmente no representa ningún conflicto (Calderón y Monterrey, 2004). En el contorno de las lesiones se va formando un halo clorótico con borde indefinible, permitiendo así ver la diferencia y reconocer los daños de manera visual; en caso de daño severo causa defoliación o caída de frutos (ICAFE, 1998).



Figura 18. Síntoma de *Cercopora coffeicola* (Moreira M, 2023).

### **2.3.3 *Mycena citricolor* Berk et Curt (ojo de gallo - gotera)**

Las condiciones de sombra excesiva y alta humedad favorecen esta enfermedad, provocando la caída de hojas de forma excesiva, esto causa que las plantas estén debiles resultando en grandes pérdidas de cosecha (ICAFE, 1998). La defoliación es el principal daño, a pesar de que la planta no muere, esta disminuye notoriamente el área fotosintética causando debilitamiento que favorece el desarrollo de otras enfermedades (Vargas *et al.*, 1990). La enfermedad se caracteriza y se nota por formar manchas pequeñas circulares u ovaladas, hundidas ligeramente, con un diámetro de 6-10 mm sobre las hojas (Figura 19). Las lesiones inician como puntos café oscuros de borde indefinido, y al alcanzar su tamaño final revelan un borde testigo y no muestran lesiones con gemas (López, 1994).



Figura 19. Síntomas de *Mycenia citricolor* en hoja de café (Sotomayor H, 1995).

#### **2.3.4 *Corticium koleroga* (mal de hilachas)**

Esta enfermedad de la planta de café presente en diferentes países denominada "mal de hilachas", "arañera" entre otros, se originó en la India. En la actualidad toma presencia en productores de América central, Brasil, Venezuela y otras áreas cafetaleras de Colombia (Batistella *et al.*, 1998). La enfermedad mencionada se concentra en sembrados en partes bajas, donde hay alta temperatura, sombra densa y zonas donde lo humedo permanece (Herrera, 2007). Inicia atacando hojas, ramas y frutos juvenes, presente en zonas con lluvia abundante y en exceso de humedad (Figueroa *et al.*, 1998).

La principal característica del mal de hilachas se constituye por presentar hojas secas en su totalidad que cuelgan como delgados hilos por las ramas que se asimilan a telarañas siendo la estructura de tal hongo. No causa muerte de la planta, pero si defoliación significativa. La cobertura que generalmente protege el envés de las hojas (Figura 20) inicialmente impide la fotosíntesis, agota ocasionando la muerte de órganos afectados; se desprenden sus hojas secas de la rama quedando sujetas a la plántula por el filamento del micelio. Los frutos atacados al final agarran un color negro y luego se comienzan a secar (Muthappa, 1979).



Figura 20. Micelio de *Corticium koleroga* en el envés de una hoja de café (Muthappa, 1979).

### 2.3.5 *Colletotrichum* spp (antracnosis)

La antracnosis se manifiesta sobre tejidos que, ya han sido perjudicados por diferentes enfermedades, lesiones ocasionados por insectos o bien al maltratar por descuido en las labores, beneficiando el estado débil de la plántula (Figuroa *et al.*, 1998). La relevancia de la antracnosis del café es debido a que el hongo tiene la capacidad de actuar y dañar diversos órganos de la plántula tales como: hojas, ramas, flores y frutos; ocasionando mayormente pérdida de hojas y muerte de ramas, minorando así el potencial productivo de los cafetos hasta un 70% (Mendoza *et al.*, 2003)

Los signos del hongo se intensifican en periodos largos de escasez de agua, causando manchas café en hojas, que son similares a llagas con bordes desiguales llegando a cubrir el 50% de las hojas. El hongo se expande alrededor del punto formando capas donde se inicio la inoculación, el cual se satura de puntos fructuosos, correspondientes a estructuras reproductivas de este patógeno (Monzón Ruiz, 2003).

### 2.3.6 *Hemileia vastatrix* (Roya del café)

El hongo *H. vastatrix* provoca la roya del cafeto es porque probablemente el hongo coevolucionó con plantulas del género *Coffea* en el África oriental. Este hongo se desarrolla en el tejido foliar del café, llegando a su superficie, ahí crea llagas naranjas.

Cada llaga genera esporas muy finas, con textura que se asemeja a la harina. Estas esporas se dispersan por los cafetales a través de factores climáticos como viento y lluvia o son trasladadas por animales, insectos, hasta por humanos. De estas, algunas esporas entran en contacto con otras hojas, donde brotan en contacto con el agua reiniciando así el lapso (McCook, 2009).

La roya del café tiene su origen de Etiopía, África; la misma región donde proviene el café y hace miles de años que se tiene contacto, esparcido por América hace decenios, al principio no tenía relevancia devastadora a productores de café como se temía; no obstante, durante los últimos tiempos se vive una crisis epidémica regional, con afectaciones mayores por roya en áreas cafetaleras (Escamilla *et al.*, 2021). Nombrada la más amenazante enfermedad del sector cafetalero y la de alta importancia económica a nivel global, ya que causa la caída excesiva de hojas, propenso a reducir el potencial fotosintético, debilitando las plantas que están enfermas y en afectaciones graves causar secado de ramificaciones inclusive mortandad de la planta (APS, 2011).

El primordial desafío patológico del cultivo cafetalero sigue siendo la roya del café. Está relacionada íntimamente con el crecimiento físico del cultivo, así como el rango rentable de la planta, distribución y cantidad de lluvia. Además los caficultores han sido descubiertos controlando la enfermedad de forma no adecuada a pesar de la información técnica. Dado que el control solo se lleva a cabo a presencia de nivel de infestación altos, se restringe el uso protector de los fungicidas, a base de ello, las acciones tomadas no dan efectividad (Rivillas-Osorio *et al.*, 2013). Una infestación por roya es severa cuando induce al desprendimiento de las hojas del café y al siguiente año como resultado hay reducción en la productividad de los cultivos. Basado en el estado ecológico como temperatura y la humedad puede provocar daño total del cultivo, normalmente la roya no aniquila la planta sino más bien los hace débil (McCook, 2009).

A medida que la roya se vuelve más intensa su impacto en la producción son significativas. La enfermedad comenzó en territorio colombiano en 2008-2009, y para el año 2010 causó una devastación en los cultivos de café en América central y el Caribe; para 2012, los efectos negativos de la roya tuvieron mayor impacto evidenciando la

producción deficiente en la Sierra Madre de Chiapas (Figura 21) y sigue sin mostrar signos de disminución desde entonces (Escamilla *et al*, 2021).

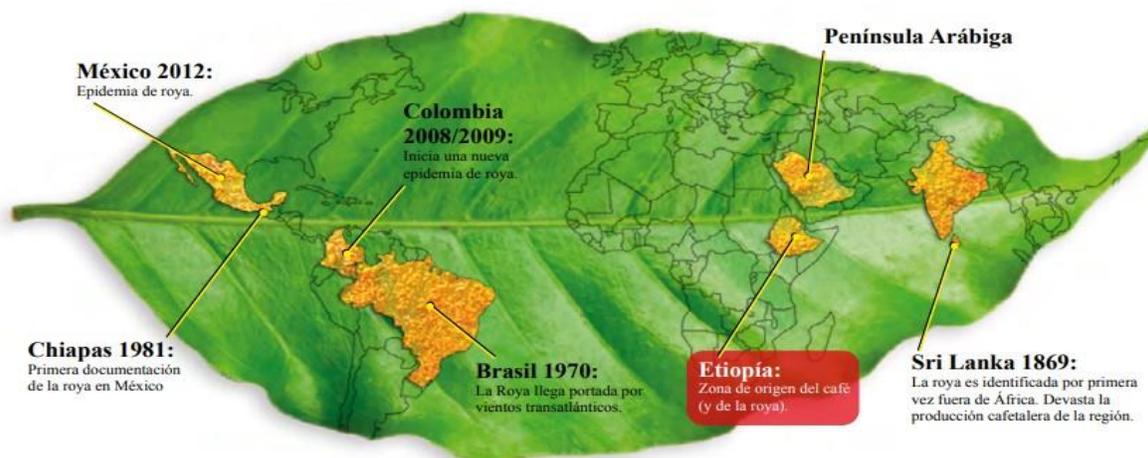


Figura 21. Eventos de trascendencia mundial por efecto de la roya. Fuente: Elaboración PMC (Escamilla *et al.*, 2021).

México ha tenido casos de roya en varios estados productores afectando notoriamente tales como: Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, Hidalgo, Nayarit, San Luis Potosí, Jalisco, Colima, Tabasco, Estado de México, Querétaro, Morelos y Michoacán (SENASICA, 2016). Actualmente, el café se cultiva en 15 estados en todo el país, no obstante, 4 de ellos concentran el 80 % del área cultivada: Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla (SIAP, 2019).

## 2.4.2 Variedades de café resistentes a Roya

### 2.4.2.1 Variedad Colombia

Esta variedad fue la primera compuesta que Cenicafé libero. Desarrollado entre la cruce de Caturra con el Híbrido de Timor y fue entregada a productores en 1980, tres años antes de que la roya fuera evaluada en el país (Figura 22). Las progenies que mostraron ser resistentes a la roya del cafeto fueron determinadas en Kenia las cuales dieron lugar a la variedad Colombia y demostraron ser resistentes a la roya (CBD). En Kenia estas progenies se utilizaron como uno de los progenitores de la variedad Ruiru II, que también es resistente a Roya (Walyaro *et al.*, 1982; Opilé, 1993). La variedad

Colombia experimento cambios para preservar la resistencia, aumentar el tamaño de grano y conseguir mayor rendimiento (Alvarado, 2002).



Figura 22. Variedad Colombia (Escamilla *et al.*, 2021).

#### 2.4.2.2 Variedad Geisha

Esta variedad fue llevada a Kenya en 1936 mediante el consulado británico en Maji, quien recogió simiente de los cafetos silvestres en los montes del distrito de Geisha. Esta posee los genes SH1 y SH5 de resistencia a la roya del cafeto, siendo utilizado en cruces para transmitir esta resistencia a otras variedades (Figura 23) (Jones, 1956).



Figura 23. Variedad Geisha (Velazquez O, 2019)

#### **2.4.2.3 Variedad Arábica**

Los primeros informes sobre la identificación de genes de resistencia en *C. arábica* con respecto a *H. vastatrix* se llevaron a cabo alrededor de 1960, y desde entonces, son numerosas las investigaciones que se han desarrollado para comprender la resistencia vertical y horizontal a la roya del café (Wagner y Bettencourt, 1967). Hay informes de resistencia incompleta en *C. arábica* y *C. canephora*. Distintas pruebas se han realizado en colecciones de *C. arabica* revelando disimilitudes relevantes de resistencia a la roya, principalmente en genotipos de origen etíope (Jefuka *et al.*, 2010; Jibat, 2020).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Área de estudio

En Huehuetla, la época de lluvias es cálida, húmeda y nublada, mientras que la temporada seca es calurosa y parcialmente nublada. A lo largo del año, las temperaturas oscilan entre 14 °C a 37 °C y poco común menos de 11 °C con presencia de 80-95% de humedad relativa.

#### 3.2 Colecta de muestras

Se colectaron muestras de hojas de café de las variedades Marago, Arábica, Geisha, Colombia y Catimor con presencia de síntomas de roya en el municipio de Huehuetla (20° 27' 05" N, 98° 03' 44" W a 990 msnm), Hidalgo. (Figura 24).



Figura 24. Ubicación satelital del Municipio de Huehuetla, Hidalgo (Google maps, 2024)

Las hojas se colocaron en bolsas plásticas con papel secante y se depositaron dentro de una hielera para conservarlo y su posterior trasladarlo al laboratorio de Parasitología de la UAAAN-UL para su análisis.

### 3.2 Preparación de reactivos

Se realizó una limpieza y desinfección de las mesas de trabajo utilizando cloro al 70% para mantener condiciones sépticas, utilizando guantes y cubrebocas durante el procesamiento de las muestras. Para extraer el ADN se usó un kit para la extracción de ADN de la marca QIAGEN®. Se verificaron las condiciones y esterilidad de los materiales, después se utilizó una probeta de 100 ml para verter Buffer AW2 Wash buffer 2 a una concentración de 66 ml (Figura 25) agregando 130 ml de Etanol y 65 ml de alcohol al 96. Se agregaron los 65 ml restantes para completar la cantidad requerida. Al terminar marcar en la etiqueta que dicho etanol ya fue agregado y fue sellado con climpac. Continuando con el segundo frasco del mismo producto, pero esta vez se agregó 160 ml de etanol, siguiendo el mismo procedimiento.



Figura 25. Preparación del reactivo Buffer AW2 Wash buffer 2.

En una báscula analítica se pesaron 100 g de fenol y fueron depositados en un vaso de precipitado, se agregaron los 100 ml de agua destilada (Figura 26) para disolver el fenol, creando así una solución 1:1. Para fraccionar la solución se depositaron en una probeta 20 ml de alcohol isoamílico y 48 ml de cloroformo (alta toxicidad). Posteriormente

utilizando una probeta se midieron 50 ml de solución fenol-cloroformo-alcohol isoamílico y fueron depositados en un frasco de vidrio el cual fue sellado para su uso posterior.

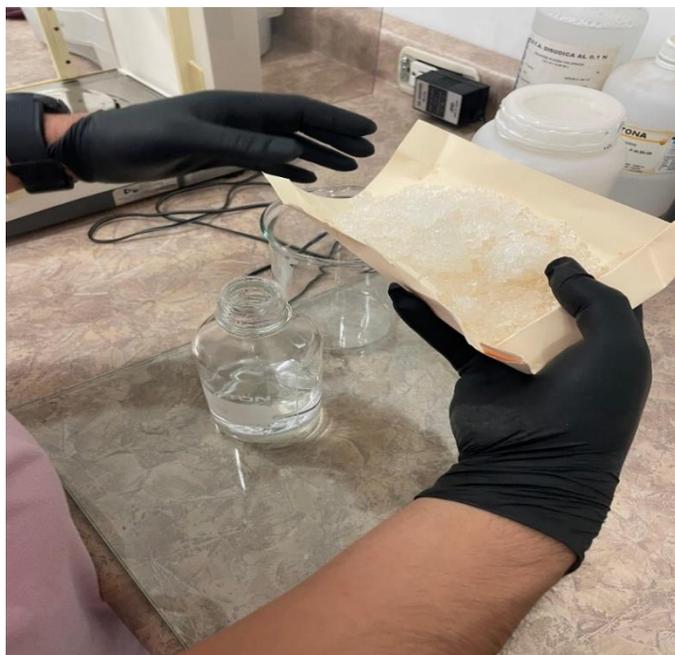


Figura 26. Solución 1 a 1 de agua y fenol.

### 3.3 Identificación de roya en hojas enfermas de Café

Se inspeccionaron 10 hojas de cada variedad (Arábica, Catimor, Marago, Geisha y Colombia) con presencia de síntomas de roya. Se identificaron estructuras con sintomatología similar a roya y se capturaron imágenes de las hojas de las distintas variedades analizadas. Las hojas fueron observadas bajo microscopio estereoscópico (Marca Carl Zeiss) con aumentos de 4X a 10 X para la identificación de pústulas y lesiones característicos del patógeno. Para la observación de las esporas se empleó microscopio óptico con aumentos de 10X y 40 X.

Al identificarse las estructuras, las hojas fueron tratadas con alcohol y utilizando tijeras de acero inoxidable se realizaron cortes en las partes de las hojas con presencia de roya (Figura 27), las cuales se depositaron en cajas Petri de vidrio.



Figura 27. Cortes en hojas que presentan roya.

En cada caja Petri se depositaron los cortes obtenidos de 4 hojas de la misma variedad con lesiones del hongo, fue sellado con climpac y se etiquetó la variedad en cada caja (Figura 28).



Figura 28. Pedazos de hoja con roya en cajas Petri.

### 3.4 Extracción de ADN

En un mortero de porcelana se vertieron 50 ml de alcohol al 95%, se originó la combustión del alcohol para esterilizar el material por temperatura. Una vez consumido el alcohol y alcanzado la temperatura deseada, se depositaron de manera individual cada una de las muestras vegetales con presencia de patógeno. Se inició con la trituración de las muestras de roya de la variedad Arábiga y empleando una micropipeta se añadieron 2 ml de CTAB, se continuó triturando las muestras hasta obtener un residuo semilíquido (Figura 29).

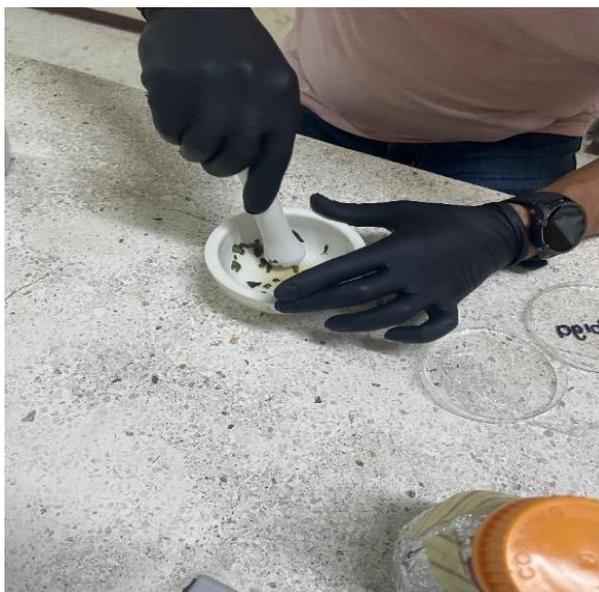


Figura 29. Trituración de hojas con roya en mortero.

Del material vegetal triturado, se extrajo todo el sobrenadante con una micropipeta y se depositó en un microtubo de 2 ml (Figura 30). Se repitió el procedimiento anterior hasta obtener el sobrenadante de las muestras vegetales de las cinco variedades. Posteriormente se enumeraron los microtubos utilizando un marcador permanente Sharpie, como se muestra en el Cuadro 2.

Microtubo	Variedad
1	Arábiga
2	Arábiga
3	Arábiga
4	Arábiga
5	Arábiga
6	Marago
7	Marago
8	Colombia
9	Catimor
10	Geisha
11	Geisha
12	Colombia
13	Geisha

Cuadro 2. Numeración de micro tubos y sus respectivas variedades

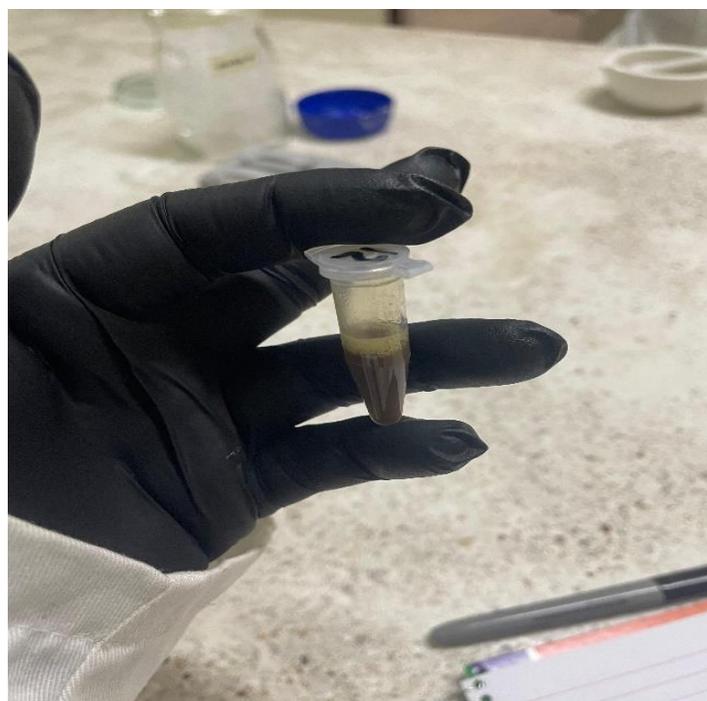


Figura 30. Microtubo con sobrenadante

Los microtubos fueron ubicados en el termoblock y depositados durante 20 minutos dentro del congelador para la ruptura física de las células; realizado el proceso anterior, se retiró el termoblock del congelador y utilizando una micropipeta se agregaron 800  $\mu$ l de Fenol cloroformo alcohol isoamilico (25:24:1) para obtener una solución 1:1.

Los microtubos fueron sometidos a agitación constante durante 20 segundos utilizando vortex para homogenizar las muestras (Figura 31).

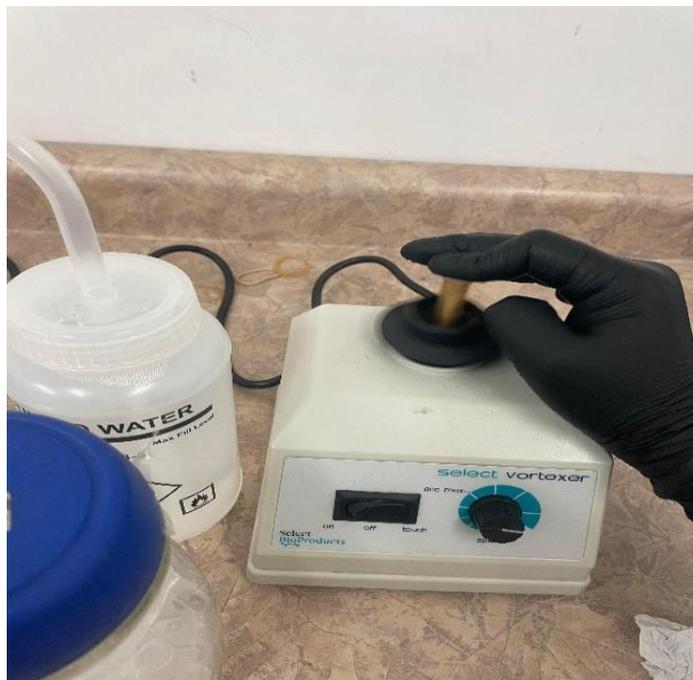


Figura 31. Microtubo en vortex.

Para la decantación del ADN se colocaron los microtubos (2 ml) previamente agitados en la centrífuga a 15 mil r/min durante 15 min (Figura 32) y se marcaron 13 microtubos esterilizados para verter el ADN resultante. Durante este proceso se observó la separación de clorofila-carbohidratos en la parte inferior y en la parte superior se conservó el material con el ADN. Utilizando una micropipeta se extrajo el material con ADN y se depositó en los microtubos previamente numerados. A cada microtubo con muestra de ADN se le agregaron 800  $\mu$ l de alcohol al 90% y fueron agitados nuevamente en el vortex por 20 seg; finalmente los microtubos fueron colocados en el termoblock y se introdujeron en refrigeración para obtener el punto de congelación.

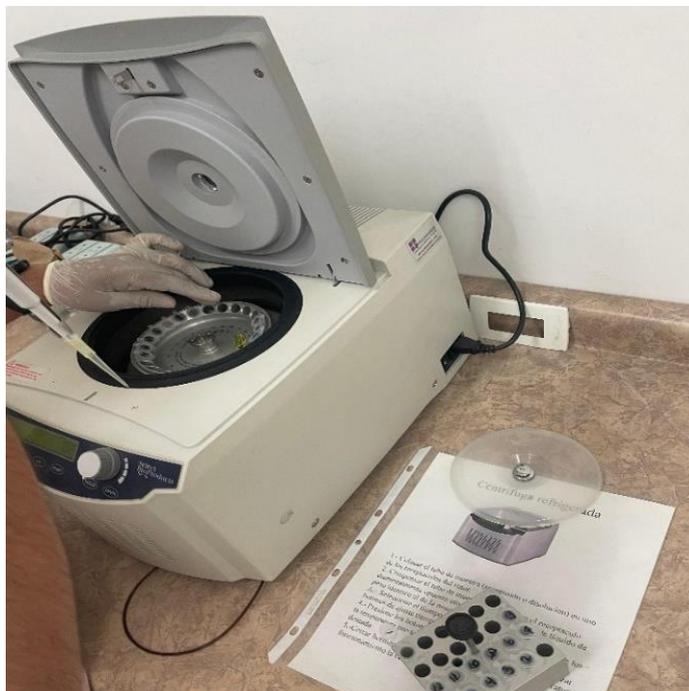


Figura 32. Colocación de los microtubos en centrifuga.

Una vez transcurridas 24 horas, el termoblock fue extraído del congelador y los tubos se ubicaron en la centrifugadora de manera opuesta entre cada microtubo para balancear la gravedad del peso y fueron sometidos a centrifugación por 10 min a 13,000 r/min. Transcurridos los 10 min se extrajeron los tubos del termoblock de la centrifuga. El sobrenadante fue vertido en un vaso de precipitados para conservar solamente la capsula de ADN formada al fondo del microtubo. Con una micropipeta se agregó 1 ml de alcohol al 70% al microtubo con el ADN, nuevamente cada microtubo fue agitado en vortex por 30 s de manera ordenada para colocarse nuevamente en la minicentrifuga por 3 min a 13,000 r/m. Una vez que retirados los microtubos de la centrifugadora, se depositaron en la cabina de luz UV, se decantó el alcohol sobrenadante en papel absorbente y se dejó secar por 24 hrs (Figura 33).



Figura 33. Secado en cabina de luz UV.

Transcurridas las 24 hrs, se abrió la cabina de luz UV y con la micropipeta se agregaron a cada microtubo 100 microlitros de agua ultrapura (Figura 34). Se agitaron nuevamente los microtubos en el vortex durante 30 segundos para diluir el ADN obtenido.



Figura 34. Depósito de agua ultra pura a microtubos con el ADN.

Con la micropipeta se extrajo 1 microlitro de ADN y se depositó en el lector óptico del Nanodrop (Figura 35) para analizar la cantidad y calidad de ADN de cada microtubo.



Figura 35. Depósito de ADN en Nanodrop.

Posteriormente se realizaron diluciones del ADN en tubos de 500  $\mu\text{l}$  para establecer una concentración de 20  $\text{ng}/\mu\text{l}$  a un volumen de 30  $\mu\text{l}$ . Los tubos fueron etiquetados para establecer su origen, posteriormente empacados y destinarlos a Macrogen (Seúl, Corea) para su secuenciación. Se solicitó a la empresa amplificar las regiones rDNA-ITS usando los cebadores universales ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') establecidos por White *et al.* (1990). El resultado de las secuenciaciones fue analizado utilizando los programas MEGA11 (Tamura, Stecher y Kumar, 2021) y UGENE (Okonechnikov *et al.*, 2012). Posteriormente se compararon con secuencias de distintas cepas de *H. vastatrix* depositadas en el GenBank, tomando en cuenta la región génica ITS. Se descargaron las secuencias del GenBank, se realizó un alineamiento y se generó un árbol filogenético con soporte de Bootstrap. Se realizó un análisis filogenético con el programa Mega 11 usando el método estadístico de Máxima verosimilitud en base al modelo de Jukes-Cantor, con un número de Bootstrap de 1000 repeticiones.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Procesamiento de muestras vegetales

Las muestras de hojas fueron clasificadas de acuerdo a la variedad y se fotografiaron los distintos tejidos con daños de necrosis y con presencia de roya, como se muestra en la figura 37 B. Los tejidos analizados mostraron signos de necrosis, marchitamiento en el haz y envés de la hoja.

Posteriormente se tomaron muestras de las pústulas de las hojas y fueron observadas bajo microscopio para verificar la presencia de esporas del hongo. Las esporas se observaron con aumentos de 40X (Figura 36), las cuales mostraron coloración amarilla y forma circular irregular con crestas. La proporción de esporas fué variable, dependiendo la forma, tamaño y color de la pústula de donde fueron obtenidas. No hubo diferencia entre las esporas de las distintas postulas encontradas en las cinco variedades de café.

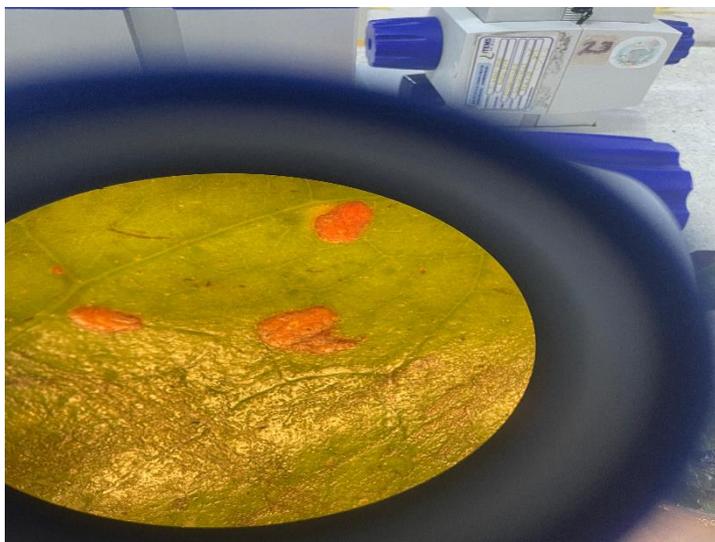


Figura 36. Observación de esporas bajo microscopio

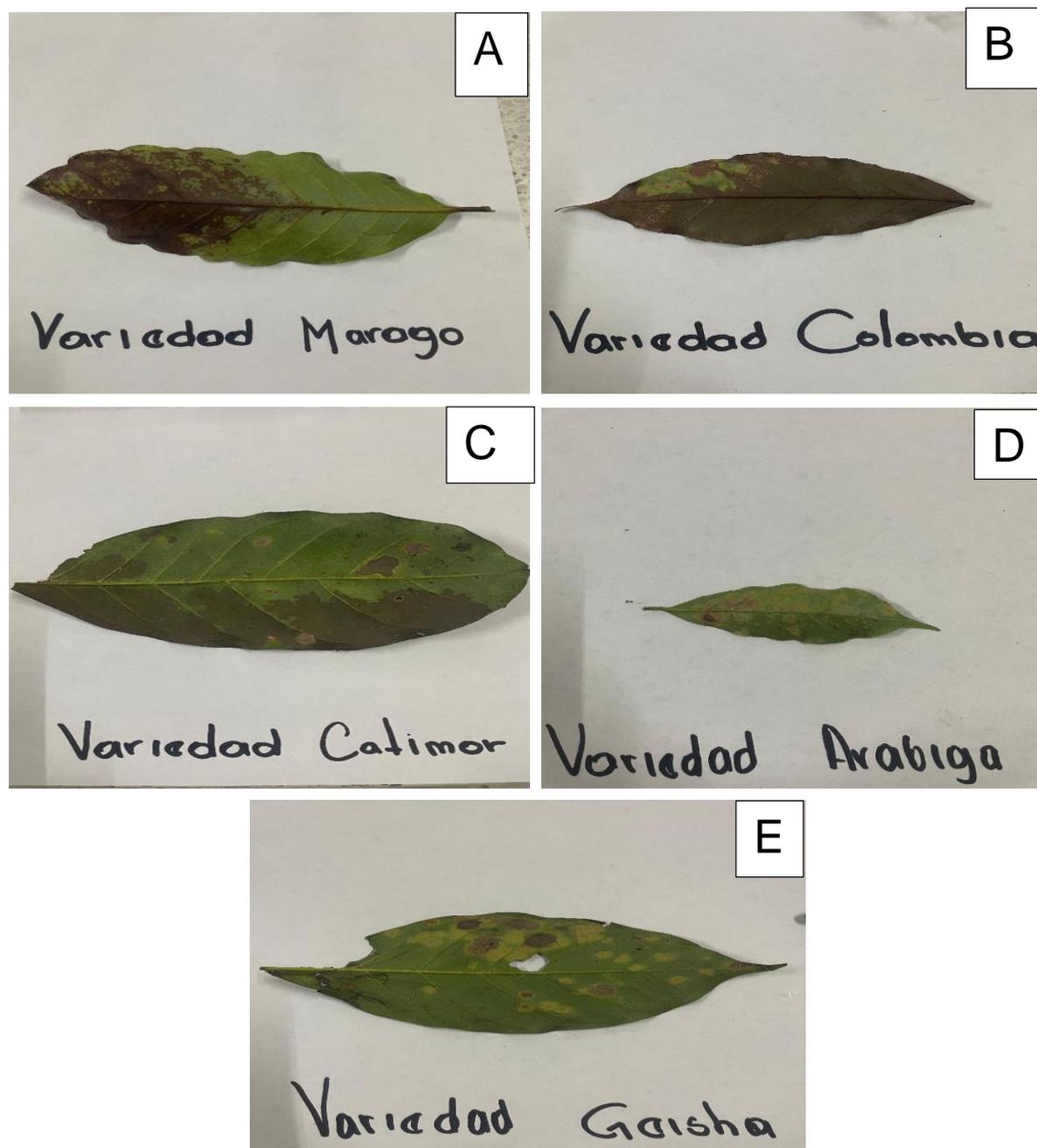


Figura 37. Roya presente en hojas de las variedades A: Marago, B: Colombia, C: Catimor, D: Arabiga, E: Geisha.

## 4.2 Esporas

Las hojas seleccionadas se observaron en el estereoscopio en un aumento de 10x, el daño visualizado fue consistente a las lesiones ocasionadas por *Hemileia vastatrix*. Se observaron manchas pálidas (Figura 38 A), que se fueron transformando en lesiones de color naranja o amarillo claro y presencia de esporas en la superficie de las hojas, las cuales se puede observar con más precisión en la figura 38 C.

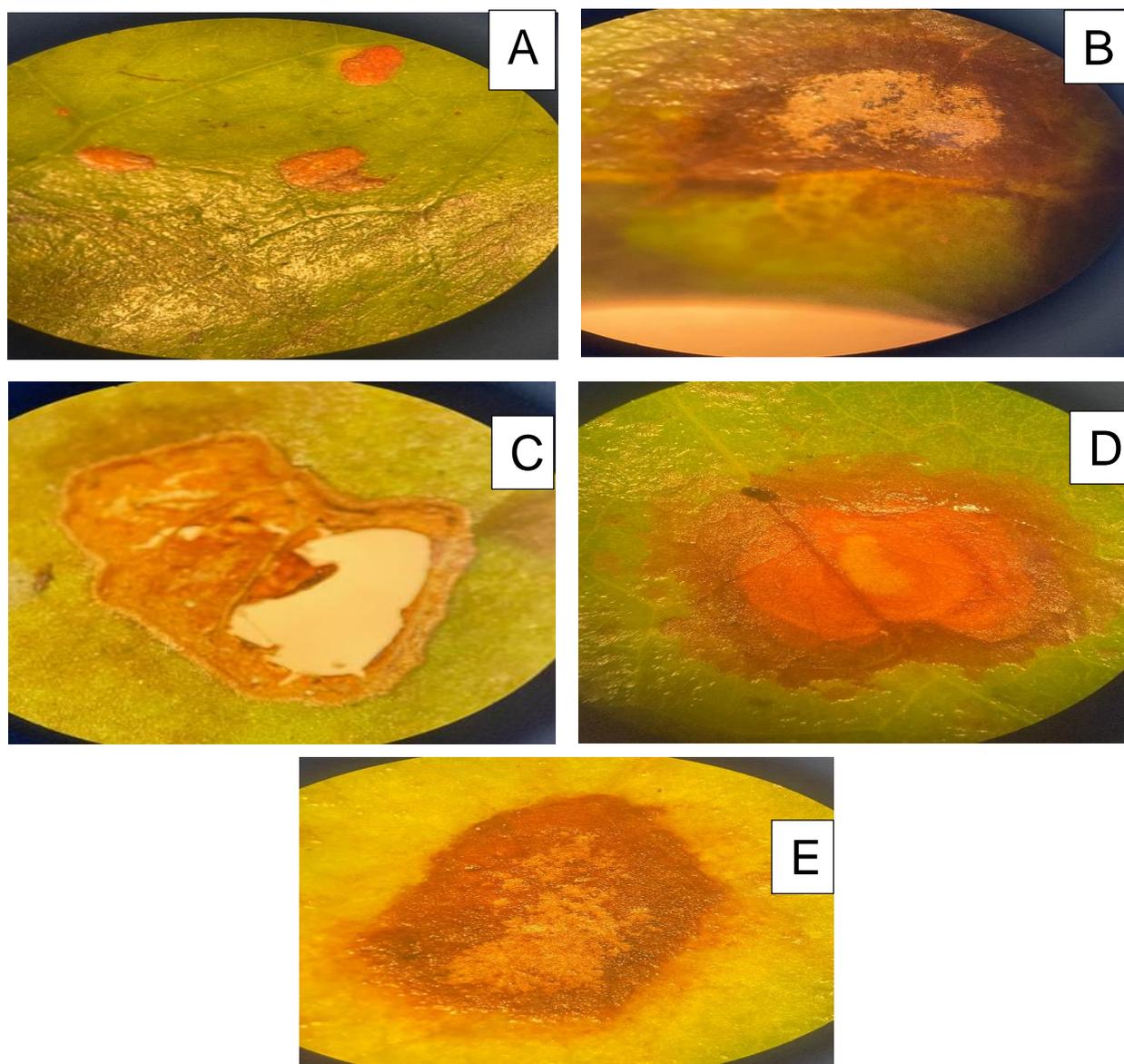


Figura 38. Esporas del hongo (*Hemileia vastatrix*) presente en hojas de las variedades **A:** Marago, **B:** Colombia, **C:** Catimor, **D:** Arábica, **E:** Geisha.

Las esporas o uredionosporas que se observaron en el microscopio, tienen forma reniforme, con la parte interna lisa, y la externa muy rugosa; están apiladas en grandes cantidades como en la Figura 39.

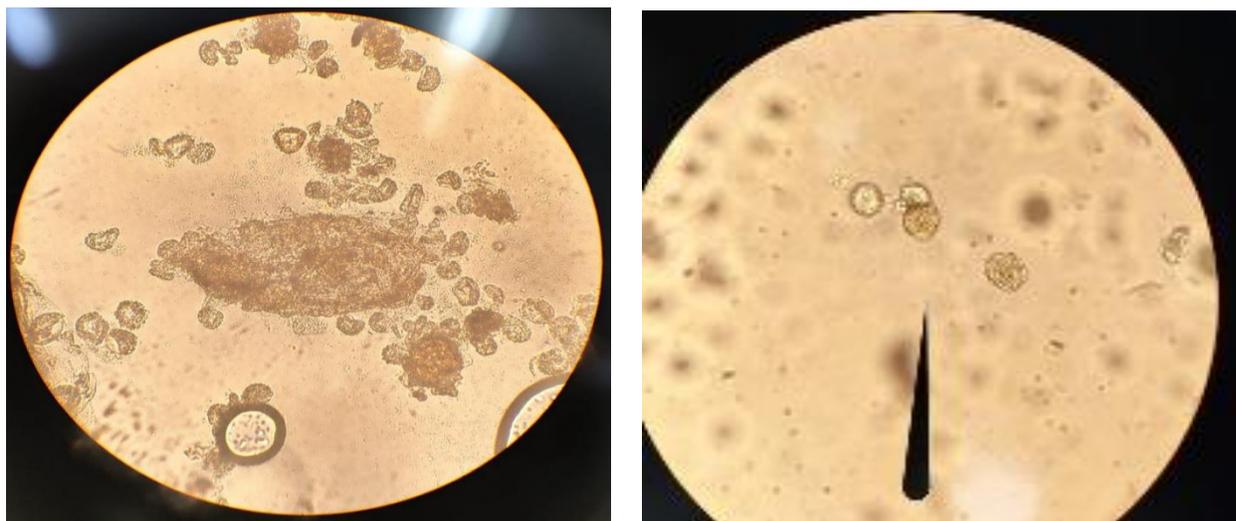


Figura 39. Observación de esporas de *Hemileia vastatrix*.

Los diferentes microtubos con agua ultrapura depositados en la cabina de luz UV, presentaron mayor coloración los que indicaron mayor cantidad de fenoles, como se observa en la Figura 40.

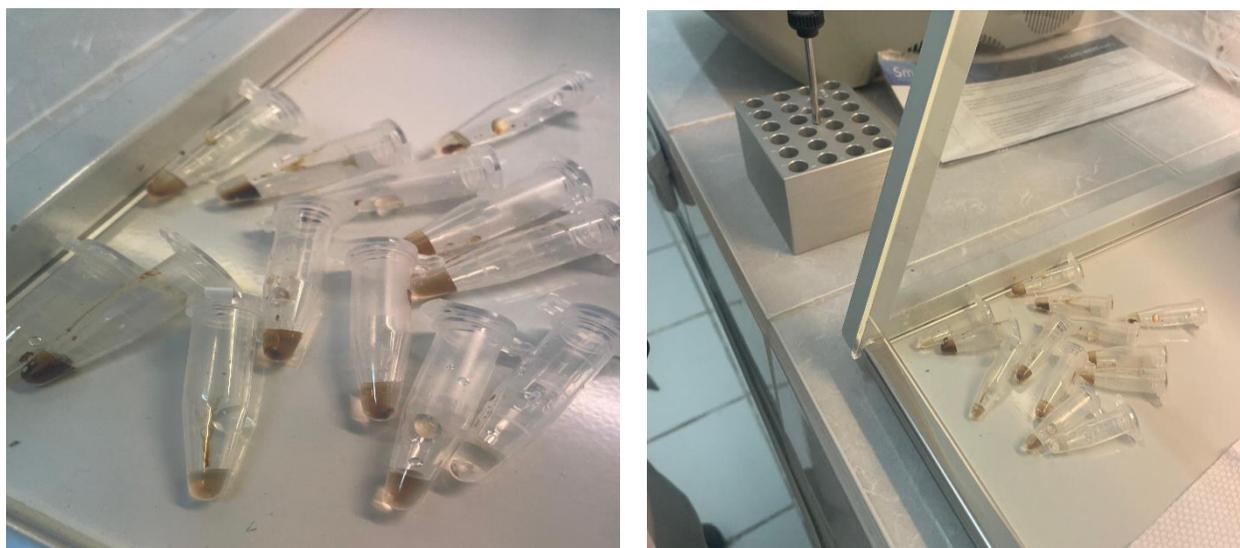


Figura 40. Microtubos en cabina de luz UV.

El contenido de ADN de cada uno de los microtubos en orden 1-13 fue colocado en el pedestal del NanoDrop para valoración de la calidad y cantidad de ADN (Figura 41).

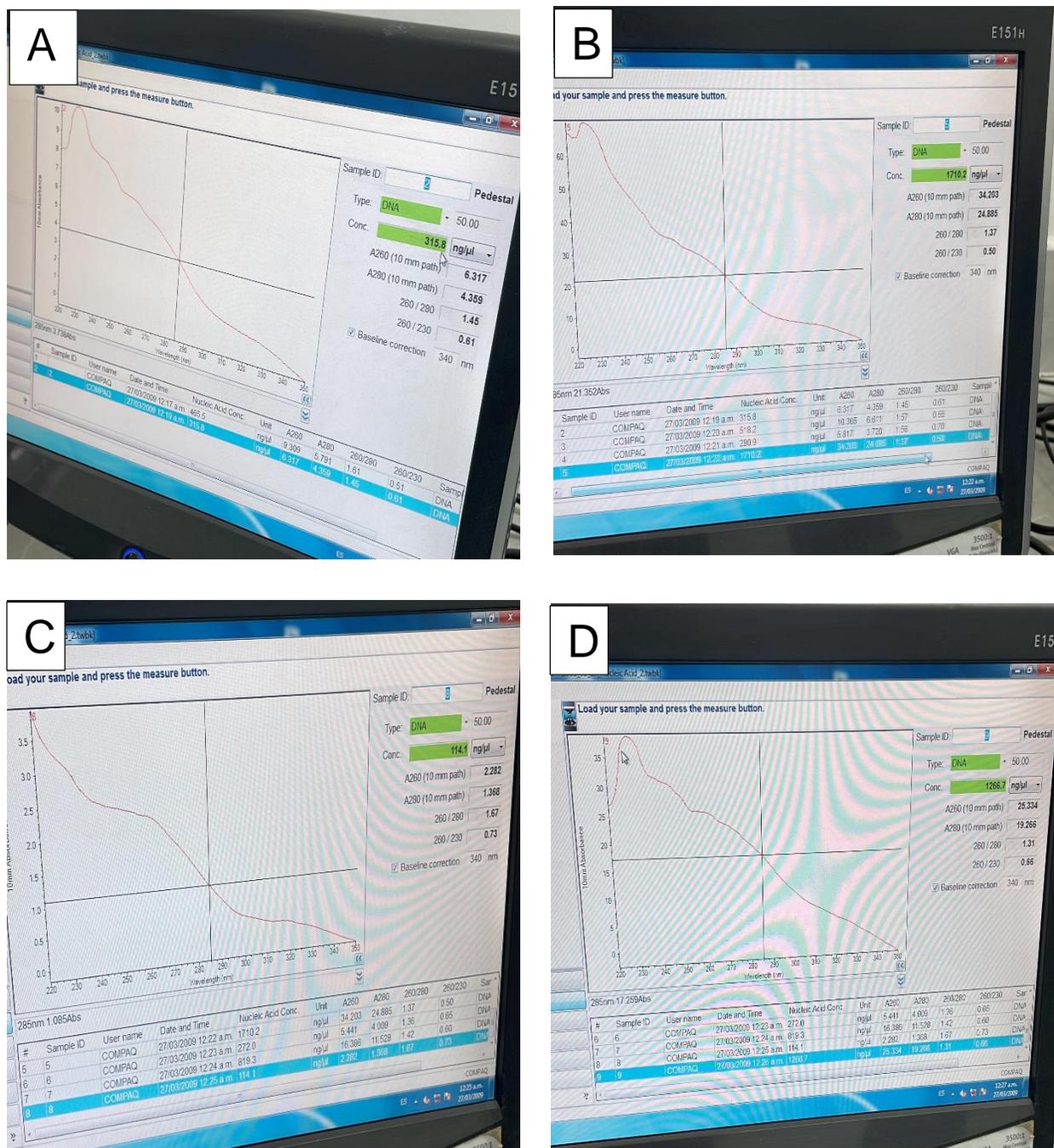


Figura 41. Cantidad de ADN obtenido al ser analizado en NanoDrop.

Al finalizar la valoración de cada muestra en el NanoDrop, se registró la concentración y la pureza de cada uno de los microtubos en un cuadro de secuencias (Cuadro 3), indicando la pureza baja mediante la relación de absorbancia 260/280 en la mayoría de las muestras debido a la gran cantidad de fenoles presentes.

Muestra	ADN	A260	A280	260/280	260/230
Microtubo 1	465.5 ng/μl	9.309	5.791	1.61	0.51
Microtubo 2	315.8 ng/μl	6.317	4.359	1.45	0.61
Microtubo 3	518.2 ng/μl	10.365	6.611	1.57	0.55
Microtubo 4	290.9 ng/μl	5.817	3.720	1.56	0.70
Microtubo 5	1710.2 ng/μl	34.203	24.885	1.37	0.50
Microtubo 6	272.0 ng/μl	5.441	4.009	1.36	0.65
Microtubo 7	819.3 ng/μl	16.386	11.528	1.42	0.60
Microtubo 8	114.1 ng/μl	2.282	1.368	1.67	0.73
Microtubo 9	1266.7 ng/μl	25.334	19.266	1.31	0.66
Microtubo 10	767.1 ng/μl	15.342	11.363	1.35	0.64
Microtubo 11	544.7 ng/μl	10.895	7.881	1.38	0.60
Microtubo 12	390.0 ng/μl	7.800	5.633	1.38	0.51
Microtubo 13	197.1 ng/μl	3.942	2.624	1.50	0.62

Cuadro 3. Cantidad obtenida de ADN en microtubos numerados del 1-13

Los trece tubos con productos de la extracción del ADN se disolvieron hasta obtener una aglomeración de 20 ng/μl a un volumen de 30 μl, las muestras se enviaron por paquetería a Macrogen para su secuenciación por el método Sanger. Las secuencias arrojadas fueron de ±800 pares de bases; sin embargo, solo 5 electroferogramas mostraron curvaturas de señal óptimas para su análisis (figura 42), los electroferogramas restantes mostraron inconsistencias o alteraciones haciendo imposible su análisis (Figura 43).

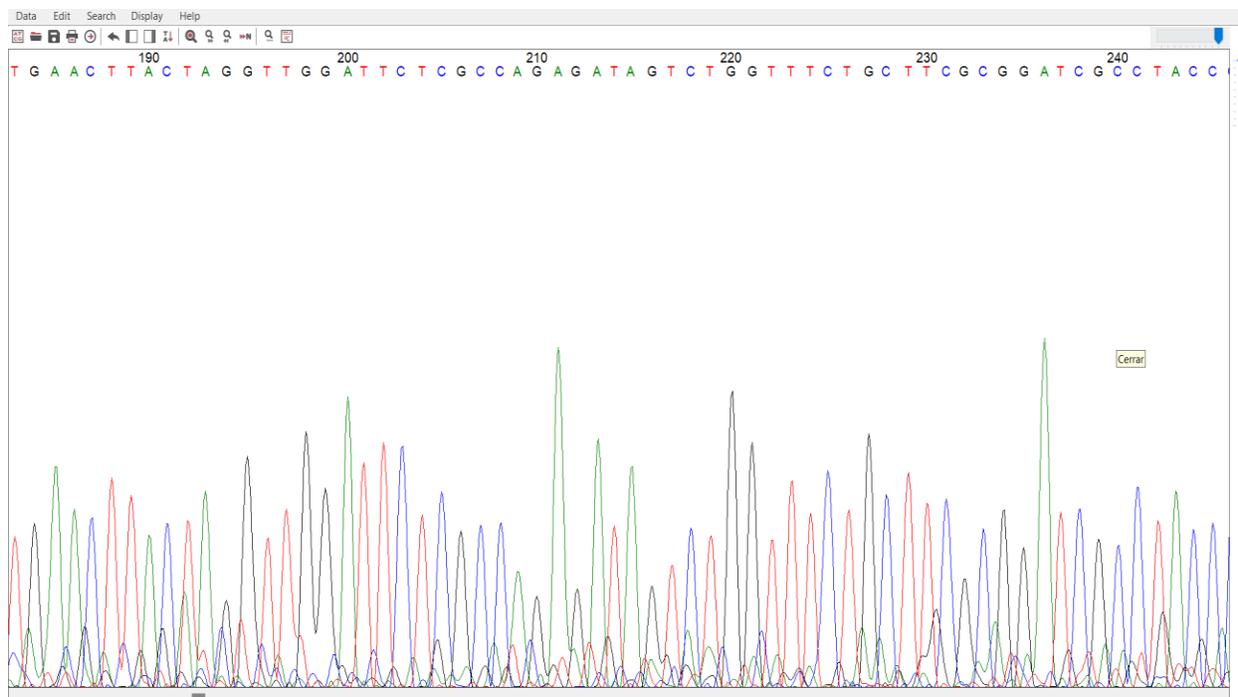


Figura 42. Electroferograma con curvas de señal estables.

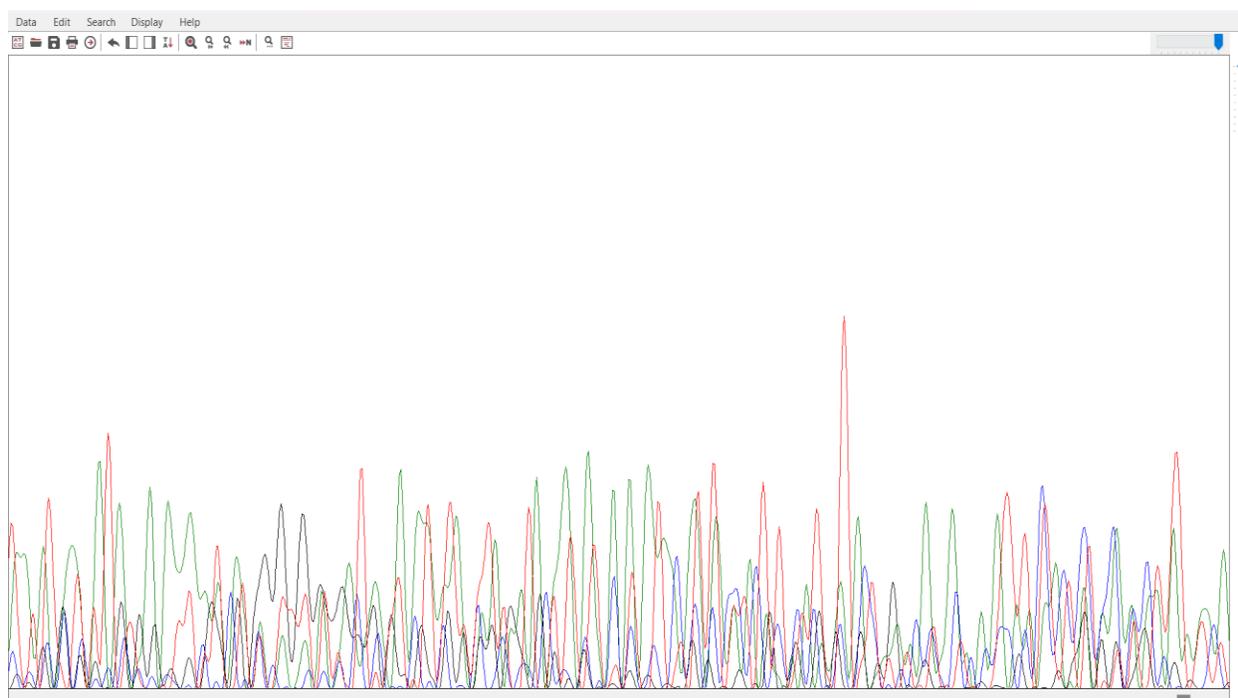


Figura 43. Electroferograma con curvas de señal inestables.

Se realizó una búsqueda de secuencias de *H. vastatrix* en la base información de secuencias génicas de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Esta búsqueda arrojó una cantidad significativa de 164 secuencias de diversos genes, de las cuales se tomaron 98 pertenecientes al gen ITS de *H. vastatrix*. Se eligieron 82 secuencias del estudio Diversidad genética espacial, temporal y estructura poblacional de *Hemileia vastatrix* de cafetales peruanos, nueve secuencias se tomaron del estudio *Hemileia vastatrix* reanálisis de su fenotipo y genotipo, tres secuencias del estudio Incidencia de la roya del café en Vietnam, posibles fuentes originales y vías posteriores de migración. Otras dos secuencias del estudio Evolución de las razas de la roya del café, *Hemileia vastatrix* en Colombia, una secuencia del estudio Variabilidad genética del ADNr nuclear ITS1-5.8S-ITS2 en población *Hemileia vastatrix*. También se eligió una secuencia del estudio *Hemileia vastatrix* reanálisis de su fenotipo y genotipo.

Se realizó un alineamiento con el modelo matemático tipo ClustalW y posteriormente se elaboró un rasurado de las secuencias para su uniformidad. Las secuencias fueron analizadas para la generación de un árbol filogenético con el modelo de Máxima verosimilitud, esto arrojó un árbol con muchos clados; por lo que se decidió tomar a las secuencias de las cepas más representativas para una mejor representación gráfica, dejando solo 19 secuencias y dando prioridad a las secuencias de cepas mexicanas. El análisis de las mismas arrojó el árbol mostrado en la Figura 44. Se observa que las cepas obtenidas de Huehuetla (Hidalgo) se agruparon en un solo clado filogenético, lo que indica una homogeneidad genética de las mismas.

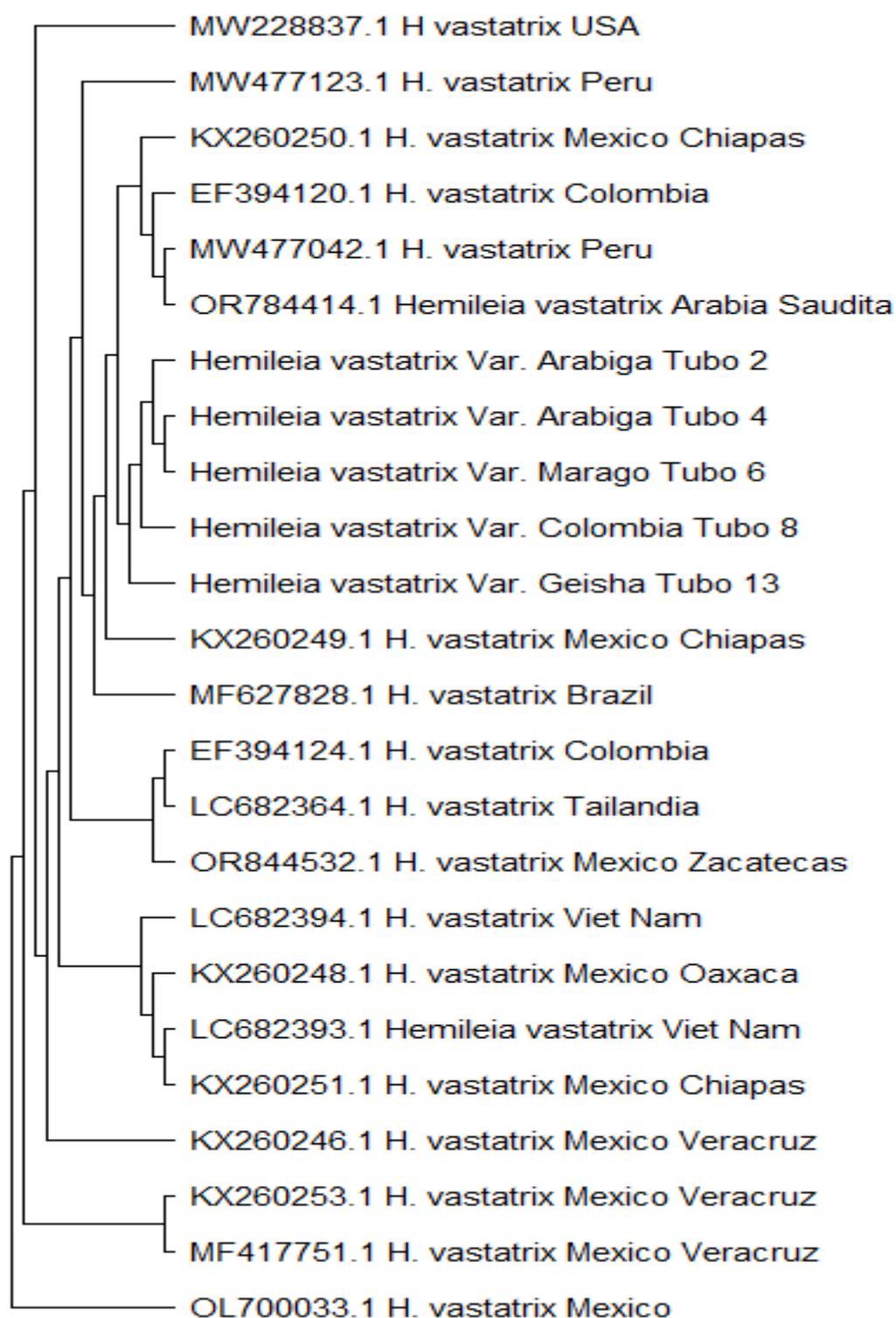


Figura 44. Árbol filogenético generado a partir de las secuencias depositadas en Genbank y de las cepas de *H. vastatrix* obtenidas de cafetos de la zona de Huehuetla, Hidalgo.

## V. DISCUSIÓN

*Hemileia vastatrix* es un hongo basidiomiceto que forma parte del orden Pucciniales, conocido como el causante de la roya del café, esta enfermedad ha tenido impacto por devastar a nivel global la producción de café. Desde su primera descripción en 1869, África Oriental y Ceilán, este patógeno se ha distribuido a todas regiones productoras, resultando pérdidas considerables en la producción (Talhindas *et al.*, 2017).

Restringida originalmente a África Oriental, *H. vastatrix* se ha expandido a nivel mundial desde el siglo XIX. Un estudio de Silva *et al.*, (2019), utilizando marcadores genéticos para reconstruir la historia evolutiva de este patógeno, sugirió que su origen se remonta a regiones de África Oriental, el centro de diversificación del café. La enfermedad fue reportada en Sri Lanka en 1867, en India en 1870, y posteriormente se propago en otras regiones de Asia y África. En la década de 1970 la roya del café llegó a América, afectando a Brasil, luego a Centroamérica y los Andes. Una epidemia severa devastó las plantaciones de café en 2012, países como Colombia, Guatemala y Honduras. Actualmente, la mayor parte de los países productores de café ha tenido presencia de la roya del café, lo que significativamente afecta la economía de estas regiones (Waller *et al.*, 2007).

La roya del café en México fue detectada por primera vez en 1981, específicamente en el Estado de Chiapas, más sin embargo en la actualidad, la roya del cafeto se ha registrado en diversos Estados que producen café, incluyendo Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, Hidalgo, Nayarit, San Luis Potosí, Jalisco, Colima, Tabasco, Estado de México, Querétaro, Morelos y Michoacán. Destacando que Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla nos presenta el 80% de la superficie cultivada de café en el país (SENASICA, 2016). En nuestro estudio se analizaron muestras de hoja de cafetales provenientes del municipio de Huehuetla, Estado de Hidalgo. Estos mostraron sintomatología típica de la enfermedad de la roya del café y se siguió el protocolo de obtención de esporas sugerido por Quispe-Apaza *et al.*, (2017).

Se utilizó CTAB al extraer ADN para una obtención del material genético a partir de tejido vegetal (Li *et al.*, 2006; Deepak *et al.*, 2007). Esperando mayor efectividad en la extracción de ADN, ya que este método tiene un nivel de pureza de entre el 1.8 a 2

con una concentración de 243 a 1213 ng/μl (Peinado, Pacheco y Samaniego, 2015). Sin embargo, las extracciones realizadas en el presente protocolo presentaron un índice de impurezas alto al tener menor a 1.8 como resultado de la medición con Nanodrop (espectrofotometría), los valores idóneos son cercanos a 1.8 o 2 de longitud de onda 260/280 y 260/230 para la medición de ADN (Sambrooks *et al.*, 1989). La relación OD260 / 1 OD280 es un señalador de la buena calidad del ADN; para una preparación eficiente de ADN se deben de tener lecturas de entre 1.8 y 2, ya que entre más altos son los datos más altos indican la presencia de proteínas y/o de trazas de fenol en la preparación (Sambrooks *et al.*, 1989). De acuerdo a lo antes señalado las muestras posiblemente tenían un alto grado de fenoles propios del tejido vegetal. A pesar de ello, las muestras fueron enviadas para su secuenciación, siendo que de las trece muestras enviadas solo 5 pudieron ser obtenidas secuencias favorables para su análisis filogenético y fue corroborado con los electroferogramas.

A nivel global, el análisis de la estructura poblacional de *H. vastatrix* utilizando marcadores de repeticiones simples (SSR) indican una reproducción predominantemente asexual, con una diversidad genética limitada pero una gran diversidad patogénica, evidenciada por la existencia de más de 50 razas fisiológicas (Ramírez-Camejo *et al.*, 2022). Estudios filogenéticos basados en la secuencia de los espaciadores internos transcribibles (ITS) del ADN ribosomal han permitido analizar la diversidad genética de *H. vastatrix*. Investigaciones en zonas cafetaleras de Perú, como Quillabamba y Villa Rica, revelaron altos índices de diversidad haplotípica, sugiriendo una estructura poblacional compleja y una posible adaptación local de este patógeno (Quispe-Apaza *et al.*, 2017).

Un estudio realizado por Rodríguez-Alvarado *et al.*, (2018), analizó la diversidad genética de *H. vastatrix* en México y encontró que las poblaciones presentan una alta homogeneidad genética, lo que indica un origen común y una dispersión rápida. En el mismo estudio se observó que las poblaciones mexicanas de *H. vastatrix* muestran adaptaciones locales a variedades de café que son cultivadas en el país, como *Coffea arabica*. Esta adaptación ha facilitado la persistencia y propagación del hongo en las principales regiones cafetaleras de México. Como resultado de este estudio se indicaron

que las cinco cepas fueron agrupadas en un mismo clado, el cual fue cercano a otras cepas provenientes de Brasil y el Estado de Chiapas, corroborando lo mencionado en estudios moleculares basados en secuencias de ADN ribosomal (rDNA) y genes mitocondriales; que han demostrado que las poblaciones de *H. vastatrix* en México están estrechamente relacionadas con las de Centroamérica (Rodríguez-Alvarado *et al.*, 2018), lo que sugiere una introducción reciente a la región cafetalera de Huehuetla, Hidalgo. Por lo tanto, se establece que las cepas de Huehuetla, Hidalgo están estrechamente relacionadas con algunas cepas del Estado de Chiapas y que han seguido la ruta descrita por Waller *et al.*, (2007).

En Latinoamérica al controlar la roya del café es recomendable utilizar un enfoque que integre prácticas culturales, manejo genético, control químico y biológico. Un estudio realizado por Avelino *et al.*, (2015), destacó que las variedades Castillo, Caturra y Catimor han demostrado resistencia parcial o completa a la roya en países como Colombia, Costa Rica y Honduras. En este estudio se encontró a *H. vastatrix* infectando las variedades de cafeto Arábica, Catimor, Marago, Geisha y Colombia; por lo que se recomendaría utilizar variedades resistentes en otros países de Latinoamérica. Sin embargo, la evolución del hongo puede superar la resistencia genética mostrada en la variedad Catimor; por tanto, se requiere un monitoreo constante y el desarrollo de nuevas variedades.

Los análisis filogenéticos de diversidad genética de la región ITS de las cepas *Hemileia vastatrix* del municipio de Huehuetla, Hidalgo se englobaron en un mismo clado, indicando una similitud genética entre ellas, lo que deriva su procedencia de un mismo antecesor. En el mismo clado filogenético también se encuentran cepas encontradas en Chiapas y Brasil, lo cual muestra una ruta de migración originadas de esas cepas que fueron dispersadas a la región cafetalera de Hidalgo. Es fundamental continuar con investigaciones que integren herramientas genómicas y ecológicas para monitorear su evolución y desarrollar estrategias de manejo sostenible, que minimicen su influencia en la producción de café.

## VI. CONCLUSIÓN

Los análisis filogenéticos de las cepas de *Hemileia vastatrix* presentes en las variedades de cafeto Arábica, Catimor, Marago, Geisha y Colombia cultivadas en el municipio de Huehuetla, Hidalgo se ubicaron en un mismo clado e indicaron similitud genética entre ellas y resultaron procedentes de un mismo antecesor de roya dispersado desde el sur de México.

El clado filogenético mostró similitud con las razas presentes en Chiapas y Brasil, indicando que están estrechamente relacionadas por una ruta de migración del patógeno con las razas de roya de Centroamérica, al transportarse las cepas de Brasil al estado de Chiapas y dispersarse hacia el estado de Hidalgo.

## VII: LITERATURA CITADA

- Aguilera, M. (2019). ROYA DEL CAFETO *Hemileia vastatrix* Verkeley & Brome Ficha Técnica No. 40. Colegio de Postgraduados, Laboratorio Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria.
- Alcalde, J. G. V. (2023). Comercialización y producción de café, un análisis cultural en la zona de Hidalgo, México. *South Florida Journal of Development*, 4(3), 1164–1182. <https://doi.org/10.46932/sfjdv4n3-012>
- BARRERA ROJAS, A. (2022). DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE MINADOR DE LA HOJA (*Leucoptera coffeella* GUÉRIN-MÉNEVILLE, 1842) EN EL CULTIVO DE CAFÉ EN EL ESTADO DE MÉXICO. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/137191>
- Benito Sullca, J. A. (2009). Manejo integrado del cultivo de café. In Folleto; n. 5-2009. Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA. <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/176>
- Brancher, T. L., Hawerth, M. C., Kvitschal, M. V., & Manenti, D. C. (2018). Efficiency of different protocols of apple tree DNA extraction. *Revista De Ciências Agroveterinárias*, 17(3), 361–367. <https://doi.org/10.5965/223811711732018361>
- Carlos A. Rivillas Osorio, César A. Serna Giraldo, Marco A. Cristancho Ardila, Alvaro L. Gaitán Bustamante (2011). La roya del café en Colombia: Impacto manejo y costos del control.
- Castro Caicedo, B. L. (2003). Mal de Hilachas o Arañera. En *Enfermedades del café en Colombia* (pp. 133–136). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/10791/0025\\_16](https://doi.org/10.38141/10791/0025_16)
- Constantino, L. M., Flórez, J. C., Benavides, P., & Bacca, R. T. (2011). Minador de las hojas del café: Una plaga potencial por efectos del cambio climático. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé). <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/330>
- Cortina, H. A., Acuña-Zornosa, J. R., Moncada Botero, M. del P., Herrera Pinilla, J. C., & Molina, D. M. (2013). Variedades de café: Desarrollo de variedades. En

- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 1, pp. 169–202). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_09](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_09)
- Cruz-Esteban S. *et al.* (2021). Una gallina ciega, pero voraz. Elementos 123
- Dinghi, Pablo A; Guzmán, Noelia V; Monti, Daniela S (2020). Jugando con Dragones: Una experiencia lúdica como introducción a los conceptos filogenéticos en la enseñanza de la biodiversidad
- Enríquez Eraso, M. G. (2002). Persistencia de fungicidas en el manejo preventivo de macana del cafeto *Ceratocystis fimbriata* (Ellist and Halst) Hunt.
- Enríquez, J. P., Retes-Cálix, R. F., & Vásquez-Reyes, E. F. (2020). Importancia, genética y evolución del café en Honduras y el mundo. *Innovare: Revista De Ciencia Y tecnología*, 9(3), 149–155. <https://doi.org/10.5377/innovare.v9i3.10649>
- Figuroa Hernández, E., Pérez Soto, F., & Godínez Montoya, L. (2015). Importancia de la comercialización del café en México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/41277>
- Flórez, C. P., Ibarra Ruales, L. N., Gómez Gil, L. F., Carmona González, C. Y., Castaño Marín, Á., & Ortiz, A. (2013). Estructura y funcionamiento de la planta de café. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 1, pp. 123–168). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_08](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_08)
- Gaitán, Á., Rivillas, C. A., Castro Caicedo, B. L., & Cristancho Ardila, M. A. (2013). Manejo integrado de enfermedades. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 2, pp. 143–178). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_22](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_22)
- GARIBAY MEDINA, L. A., PEREZ, R., & DE JESUS, M. A. R. I. A. (2023). Evaluación de métodos de conservación e inoculación de roya (*Hemileia vastatrix*) en plantas de café. <https://rinacional.tecnm.mx/jspui/handle/TecNM/5768>

- Gloria, R. C. (2003). "COMPARACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN DEL GÉNERO *Gymnopilus*"
- GUZMAN, O., Gómez, E. O., RIVILLAS, C., & OLIVEROS, C. (2004). Utilización del procesamiento de imágenes para determinar la severidad de la mancha de hierro en hojas de café. Cenicafe. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/244>
- Herrera, J. C., & Cortina, H. A. (2013). Taxonomía y clasificación del café. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 1, pp. 117–121). Cenicafé. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/4320>
- Hernández Aguilar, Jennifer. (2010). Incidencia de enfermedades foliares del café bajo diversos tipos de sombra y manejo de insumos, en sistemas agroforestales, Turrialba, Costa Rica. Incidencia de enfermedades foliares del café bajo diversos tipos de sombra y manejo de insumos, en sistemas agroforestales, Turrialba, Costa Rica.
- Juan F. Barrera (2005). Situación actual y perspectivas de la investigación y manejo de la broca del café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México
- Leyva Mir, G. (2018). Principales enfermedades del café (*Coffea arabica*). *Agro Productividad*, 3(2). Recuperado a partir de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/590>
- MAGAÑA, C. A. E., & ESTEVEZ, M. M. (2012). Efecto del aluminio sobre el desarrollo de plántulas de cafeto (*Coffea arabica* var. *Typica*) cultivadas en condiciones de hidroponía. <http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/956>
- McCook, S. (2009). La Roya del café en Costa Rica: Epidemias, innovación y medio ambiente, 1950-1995. *Revista De Historia*, 59-60, 99-117. <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/historia/article/view/3471>
- McCook, S., & Vandermeer, J. (2015). "The global spread of coffee rust and the response of the scientific community." *Annual Review of Phytopathology*, 53, 513-534.

- Melvin Alvarado S., Gilberto Rojas C.- 2 reimpr, de la 1 edición. —San José, C.R.: EUNED (2007) Cultivo y beneficiado del café.
- Milton Adalberto G (2019). “Identificación de plagas que atacan al cultivo de café (*Coffea arabica*) de la parroquia Jacinto Jijón y Caamaño, cantón Mira, provincia del Carchi “
- Monzón Ruiz, Víctor Ramón (2003) Evaluación de opciones de manejo de la antracnosis (*Colletotrichum* spp. Noack) en el cultivo del café (*Coffea arabica* L.) en la zona de Boaco, Nicaragua 2001-2002. Ingeniería tesis, Universidad Nacional Agraria, UNA.
- Moreira-Morrillo, Anthony A., Vélez-Zambrano, Jean P., Moreira, Silvino Intra, & Garcés-Fiallos, Felipe R.. (2023). Enfermedades que afectan el cultivo de café: Elucidando el ciclo de vida de Roya, Mal de Hilachas y Cercosporiosis. *Scientia Agropecuaria*, 14(3), 395-412. Epub 18 de septiembre de 2023.<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.035>
- Nájera, O., (2002). El café orgánico en México. Cuadernos de Desarrollo Rural, (48),. [fecha de Consulta 10 de octubre de 2023]. ISSN: 0122-1450. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=11704804>
- Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M,(2012) the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit . *Bioinformatics*, 28: 1166-1167.
- Olmedo Bran, Edgar José (2016). Evaluación de tres insecticidas biológicos y un insecticida químico, para el control de gallina ciega *Phyllophaga supo*. en el cultivo de café *Coffea arabica*, diagnóstico y servicios realizados en la finca varales Esquipulas, Chiquimula, Guatemala, Centroamérica. Tesis Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Fuentes, L. P., Covarrubias, J. P., & Russo, J. S. (2015). CTAB: nueva opción para la detección de Huanglongbing en cítricos. In *Ciencias de la Biología y Agronomía: Handbook TI* (pp. 73-79). ECORFAN.

- Peña, Carlos. (2011). Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología*, 18(2), 265-267. Recuperado en 10 de julio de 2024, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332011000200023&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332011000200023&lng=es&tlng=es).
- Pilozo Mantuano, W., Indacochea Ganchozo, B., Castro Landín A., Vera Tumbaco, M., & Gabriel Ortega, J. (2022). Principales enfermedades causantes de la pérdida de rendimientos de los cultivos de café arábigo (*Coffea arabica* L.) en la zona sur de manabí, Ecuador: principales enfermedades de café arábigo (*Coffea arabica* L.). UNESUM - Ciencias. *Revista Científica Multidisciplinaria*, 6(2), 117-134. <https://doi.org/10.47230/unesum-ciencias.v6.n2.2022.632>
- Prado, E. E., Amico, A. L., & González, M. A. B. (2021). Las variedades de café en México ante el desafío de la roya. *BOLETÍN INFORMATIVO*.
- Quispe-Apaza, Cinthia Sheila, Mansilla-Samaniego, Roberto Carlos, López-Bonilla, César Fernando, Espejo-Joya, Rosa, Villanueva-Caceda, Juan, & Monzón, Criss. (2017). Diversidad genética de *Hemileia vastatrix* de dos zonas productoras de café en el Perú. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 418-436. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1612-7>
- Ramírez-Camejo LA, Eamvijarn A, Díaz-Valderrama JR, Karlsen-Ayala E, Koch RA, Johnson E, Pruvot-Woehl S, Mejía LC, Montagnon C, Maldonado-Fuentes C, Aime MC. Global Analysis of *Hemileia vastatrix* Populations Shows Clonal Reproduction for the Coffee Leaf Rust Pathogen Throughout Most of Its Range. *Phytopathology*. 2022 Mar;112(3):643-652. doi: 10.1094/PHYTO-06-21-0255-R. Epub 2022 Mar 9. PMID: 34428920.
- Ramírez-Salinas, Concepción, & Castro-Ramírez, Adriana E.. (2000). El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el cultivo de maíz, en El Madronal, municipio de Amatenango del Valle, Chiapas, México. *Acta zoológica mexicana*, (79), 17-41. Recuperado en 14 de febrero de 2025, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372000000100003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372000000100003&lng=es&tlng=es).

- Ramírez, V. H. (2014). La fenología del Café una Herramienta para Apoyar la Toma de Decisiones. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé). <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/489>
- Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S. P., & Gómez-Rodríguez, O. (2018). "Diversidad genética de *Hemileia vastatrix* en México y su relación con poblaciones de Centroamérica." *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 123-135.
- Rojas, J. U. L. I. O. (2005). Ecología química de la broca del café y sus parasitoides. In Simposio sobre situación actual y perspectivas de la investigación y manejo de la broca del café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México. Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas, México (pp. 14-21).
- Sánchez-Lucio, R., González-Gaona, E., Padilla-Ramírez, J. S., Gallegos-Robles, M. Á., González-Salas, U., Gómez-Jaimes, R., & Lira-Ramos, K. V. D. (2024). Efectividad de cepas de *Trichoderma* spp., y *Lecanicillium* spp., en el control de la roya (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) en el cultivo del café en Nayarit, México. *Biocencia*, 26.
- SENASICA (2014). Cochinilla del café *Planococcus lilacinus* Cockerell. Dirección General de Sanidad Vegetal. Laboratorio Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria LANREF-CP. Ficha Técnica No. 45
- SENASICA. 2016. Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome). Dirección General de Sanidad Vegetal. Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica No. 40. 23 p.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018). Producción mensual agrícola de café
- Sik Kim, H., Hyun Byun, S. y Mu Lee, B. (2005). Efectos de los carcinógenos químicos y los factores fisicoquímicos en la determinación espectrofotométrica de UV del

- ADN. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Parte A*, 68 (23–24), 2081–2095. <https://doi.org/10.1080/15287390500182503>
- Silva, D. N., Talhinhos, P., Cai, L., Manuel, L., Gichuru, E. K., & Loureiro, A. (2019). "Phylogenetic and population genetic analyses of *Hemileia vastatrix* reveal the origin and diversification of the coffee leaf rust pathogen." *Fungal Genetics and Biology*, 123, 1-10.
- Sotomayor Herrera, I. A., & Duicela Guambi, L. (1995). Control Integrado de las principales enfermedades foliares del cafeto en el Ecuador. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1617>
- Talhinhos P, Batista D, Diniz I, Vieira A, Silva DN, Loureiro A, Tavares S, Pereira AP, Azinheira HG, Guerra-Guimarães L, Várzea V, Silva MDC. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. *Mol Plant Pathol*. 2017 Oct;18(8):1039-1051. doi: 10.1111/mpp.12512. Epub 2017 Jan 25. PMID: 27885775; PMCID: PMC6638270.
- Tamura K, Stecher G, and Kumar S (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022-3027
- Vásquez Bonilla, M. M. (2019). Comparación de 5 métodos de extracción de ADN genómico de sangre (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11904>
- Velazquez O. Rafael A (2019). Asociación Nacional del Café, Anacafé Guía de variedades de café | Guatemala Primera edición, 2016
- Waller JM, Bigger M, Hillocks RJ (2007). Plagas y enfermedades del café y su manejo. CABI. [ISBN 978-1845931292](https://doi.org/10.1093/095026880701845931292).
- White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Shinsky J. J., White T. J., editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press; Inc., New York, NY, USA: 1990. pp. 315–322

Widmer, A. A. A., Giménez, M. C. N., Ortiz, N., Díaz, L. S., Cristaldo, R. D. L. N. C., Cardozo, L., ... & Ríos, D. F. (2022). Comparación de métodos para la evaluación de la calidad del ADN. *Revista sobre estudios e investigaciones del saber académico*, (17), e2023018-e2023018.

Yaxsier de Armas, Virginia Capó, Efraín González, Lilian Mederos, Raúl Díaz (2006). Extracción de ADN de tejidos embebidos en parafina por Chelex-100. ADN de tejidos en parafina por resina quelante

Zamora, K. (2017). Uso potencial de lixiviados y tés de vermicompost en el control del ojo de gallo del cafeto <i>Mycena citricolor</i>. *Agronomía Costarricense*, 41(1). <https://doi.org/10.15517/rac.v41i1.29747>