

1. INFORMACIÓN GENERAL.

TÍTULO:	Estudio de la diversidad poblacional de roya del café <i>Hemileia vastatrix</i> , en la región Sur de Ecuador.
---------	--

ÁREA: Biológica y Biomédica	DEPARTAMENTO: Ciencias Agropecuarias y de Alimentos
SECCIÓN DEPARTAMENTAL: Producción Vegetal	
LÍNEA ESTRATÉGICA: Investigación, Desarrollo e Innovación	- Recursos naturales, biodiversidad y
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN: Investigación agropecuaria	genética

Fecha de Inicio: 05/01/2015	Fecha de Fin: 30/04/2016
-----------------------------	--------------------------

DATOS DEL DIRECTOR DEL PROYECTO	
NOMBRES Y APELLIDOS: Jacqueline Elizabeth Rojas Rojas	
IDENTIFICACIÓN: 1103527055	CORREO ELECTRÓNICO: jerojasx@utpl.edu.ec

ÁREAS DE CONOCIMIENTO DE ACUERDO A ORGANISMOS NACIONALES E INTERNACIONALES		
SENESCYT		
Actividad Científica	Objetivo Socioeconómico	Área Temática de I+D
Ciencias agrícolas	Producción y tecnología agrícola	Soberanía alimentaria y transformación agroproductiva
OBJETIVOS DEL PLAN NACIONAL DEL BUEN VIVIR		
Impulsar la transformación de la matriz productiva		
UNESCO		
Área	Sub - área	
Agricultura	62 Agricultura, silvicultura y pesca	

TIPO DE PROYECTO:		
INVESTIGACIÓN	✓ INNOVACIÓN	
Contribuye a la iniciativa Smart Land:	SI	NO
Justifique ¿Por qué o en qué contribuye?		
Haga clic aquí para escribir la respuesta		

PRESUPUESTO TOTAL	APORTE UTPL	APORTE CONTRAPARTE
00000000	00000000	00000000

1.1 EQUIPO DEL PROYECTO
1.1.1 EQUIPO INTERNO

Nro.	ROL	TIPO	IDENTIFICACIÓN	NOMBRES Y APELLIDOS	% DE PARTICIPACIÓN	DEPARTAMENTO	SECCIÓN
01	Dirección	Docente a tiempo completo	1103527055	Jacqueline Elizabeth Rojas Rojas	80	Ciencias Agropecuarias y de alimentos	Producción vegetal
02	Participación	Docente a tiempo completo	0000000000	Humberto Vinicio Carrión Paladines	80	Ciencias Agropecuarias y de alimentos	Producción vegetal
03	Participación	Docente a tiempo completo	0000000000	Dario Javier Cruz Sarmiento	30	Ciencias Naturales	Biología
04	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
05	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
06	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
07	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
08	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
09	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		
10	Elija un elemento	Elija un elemento	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	100		

1.1.2 EQUIPO EXTERNO COOPERANTE

Nro.	IDENTIFICACIÓN	NOMBRES Y APELLIDOS	ROL	TIPO	ENTIDAD DE COOPERACIÓN
02	XD475865	Mario J. Ruiz González	Tutor/ Asesor	Equipo externo perteneciente a otra Universidad, red u organismo nacional o internacional	PROMETEO – SENESCYT UTMach
03	25165795T	Fernando Mestre Sanchis	Participación	Equipo externo perteneciente a otra Universidad,	PROMETEO – SENESCYT UTMach

				red u organismo nacional o internacional	
04	0101077840	Eudaldo Jadán	Participación	Equipo externo perteneciente a otra Universidad, red u organismo nacional o internacional	Vicepresidente del Consejo Nacional Ciudadano Sectorial Campesino UTMach
05	0000000000	Karina de los Angeles Samaniego Palacios	Participación	Equipo externo perteneciente a otra Universidad, red u organismo nacional o internacional	Haga clic aquí para escribir texto
06	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto

1.1.3 EQUIPO EXTERNO A CONTRATAR:

Nr o.	PERFIL REQUERIDO	FUNCIÓN	PRINCIPALES ACTIVIDADES A DESARROLLAR	TIEMPO DE CONTRATACIÓN (meses)	Número de personal a contratar	DE TENER PERSONAL RECOMENDADO, LO PUEDE INCLUIR	
						IDENTIFICACIÓN	NOMBRES Y APELLIDOS
01	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto
02	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto
03	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto
04	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto
05	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto
06	Haga clic aquí para escribir texto	Elija un elemento	Haga clic aquí para escribir texto	00	00	0000000000	Haga clic aquí para escribir texto

2. INFORMACIÓN TÉCNICA DEL PROYECTO.
2.1 RESUMEN DEL PROYECTO

Realizar una síntesis clara y concisa del proyecto. Máximo medio página.

La roya del café está presente en Ecuador desde el año 1980 aunque a partir del 2011 se comenzó a detectar niveles de incidencia del hongo superiores al 90%, produciendo importantes reducciones de la producción (cercasas al 60%) en las provincias de Manabí, Loja y El Oro. El hongo de la Roya del café infecta a las especies *C. arábica* y *C. canephora* causando defoliación, secamiento de ramas y muerte de la planta. Se han identificado diferentes variantes fenotípicas de la infección que podrían corresponder a diferentes razas del hongo, aunque hasta la fecha no hay datos genéticos que corroboren esta hipótesis. Con el objetivo de conocer más sobre esta especie de hongo y sus razas fisiológicas se pretende hacer un muestreo para determinar la presencia del hongo y trabajar en la caracterización morfológica y fisiológica.

así como a nivel genético, con la utilización de herramientas moleculares que nos permitan determinar la variabilidad genética de este hongo, en las diferentes plantaciones de café, así como sus variedades. Asimismo se evaluará la inmunidad de la planta al ataque de la roya, mediante la inoculación de inductores, con miras a encontrar un control para esta enfermedad.

2.2 PALABRAS CLAVES
Coffea – Roya – Hemileia – Hospedador – Patógeno – Coevolución

2.3 INTRODUCCIÓN: (Incluye la justificación y el estado del arte)

Ecuador, por su ubicación geográfica posee una gran capacidad como productor de café, y es uno de los pocos países que exporta todos los tipos de café (arábigo lavado, arábigo natural y robusta). En el Ecuador, este cultivo genera un aporte importante de divisas así como ingresos económicos a unas 105.000 familias de productores (COFENAC, 2013). Se trata de un cultivo que se adapta a los agroecosistemas de las cuatro regiones del país (Costa, Sierra, Amazonia e islas Galápagos). El cultivo de café de Ecuador ocupa una extensión de 199.205 ha de café arábigo y robusta; alrededor del 66% corresponde a la especie arábigo y el resto a la especie robusta (PRO ECUADOR, 2013).

Además, en el país se han identificado varias zonas aptas para la producción de cafés especiales. Estamos pues ante un cultivo altamente competitivo en el mercado internacional. Sin embargo la caficultura ecuatoriana se compone en su mayoría (cerca del 80%) de plantaciones de avanzada edad con serios problemas fitosanitarios, especialmente causados por el hongo *Hemileia vastatrix* (roya del café) ya que las variedades usadas en el país son susceptibles al ataque del hongo (PRO ECUADOR, 2013).

El Hongo de la Roya del café infecta a las especies *C. arábigo* y *C. canephora* causando defoliación, secamiento de ramas y muerte de la planta. Se han identificado diferentes variantes fenotípicas de la infección que podrían corresponder a diferentes razas del hongo, aunque hasta la fecha no hay datos genéticos que corroboren esta hipótesis.

La roya del café (*Coffea arabica*) está presente en Ecuador desde el año 1980 (Kushalappa & Eskes, 1989). Según FAPECAFES y FECAFEM citados por PRO ECUADOR (2013), a partir del 2011 se comenzó a detectar niveles de incidencia del hongo superiores al 90%, produciendo importantes reducciones de la producción (cercas al 60%) en las provincias de Manabí, Loja y El Oro. Se trata de una enfermedad devastadora en las plantaciones, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* (Berk. & Br.) hongo obligado biotrófico, que pertenece a la familia pucciniaee, orden uredinales, clase Basidiomycetes (Romero et al. 2014; Talhinhos et al. 2014). La enfermedad es muy frecuente en los trópicos donde el café tiene un follaje verde todo el año,



siendo muy devastador para los cultivos (Bettencourt & Rodríguez, 1988). En Ecuador, el hongo se distribuye ampliamente, causando pérdidas del 90 % de la productividad por hectárea (PRO ECUADOR, 2013).

El ciclo de vida de *H. vastatrix* es micro cíclico (Hennen & Figueiredo, 1983). El hongo sobrevive como urediniosporas, uredia y micelios, mientras que la mayoría de las royas por lo general tienen cinco etapas de esporas y dos hospederos. Ha sido posible descubrir una producción ocasional de teliosporas y basidiosporas, bajo lugar fresco y seco, sin hospedero alternativo producción. Sin embargo, Carvalho et al. (2011), revelan que, la imposibilidad de inducir y lograr la infección a nivel de laboratorio, sigue siendo un obstáculo para la comprensión del ciclo de vida de esta especie, y lo más importante otro factor para no comprender adecuadamente el ciclo de vida es el surgimiento de nuevas razas o patotipos.

Según Brown et al. (1995), el daño ocasionado por *H. vastatrix* se deduce en la imposibilidad de realizar la fotosíntesis; las urediniosporas penetran en las hojas de café a través de los estomas y desarrollan pústulas de color naranja en la superficie abxial, dando como resultado el deterioro de la fotosíntesis, prematura defoliación y la disminución del rendimiento del cultivo. Las basidiosporas germinan in vitro, pero no infectan las hojas de café (Carvalho et al. 2011). No se ha logrado determinar una función conocida de las basidiosporas; se ha pensado que razas fisiológicas surgen como resultado de una mutación en vez de recombinación genética (Pardo-Cardona, 2001).

El desarrollo de variedades de café con resistencia duradera a la roya, ha sido un desafío debido a la gran variabilidad genética de poblaciones de *H. vastatrix*. Se han descrito alrededor de 45 razas patogénicas en el mundo (Várzea & Marques, 2005). En Brasil, estudios previos diferencian 14 razas identificados como I, II, III, VII, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV o XXXI. La raza II es el más ampliamente distribuida en Brasil (Zambolim et al. 2005).

2.4 OBJETIVOS

1. Identificar de forma molecular los haplotipos de *Hemileia vastatrix* roya del café y de su hospedero en la región sur de Ecuador.
2. Analizar la estructura genética poblacional de ambas especies y las distintas variables ambientales, abióticas y bióticas como agentes potenciales de selección sobre ambas especies.
3. Estudiar de la dinámica de las poblaciones del hongo con el fin de predecir la evolución de la enfermedad.
4. Estudiar el efecto de inductores del sistema inmune de la planta en la incidencia de la enfermedad, mediante inyección en plantas control e infectadas.

2.5 METODOLOGÍA:

1. Se realizarán muestreos al azar en las zonas productoras de café de la Región sur del Ecuador, considerando las variantes geográficas. Para evaluar la incidencia de roya (*Hemileia vastatrix*), se trabajará en parcelas de 0,50 ha, se seleccionarán 30 plantas, se tomarán 10 hojas por cada planta, considerando el tercer y cuarto nudo de ramas plagiotrópicas de la parte baja y media de la planta; según metodología propuesta por Silva-Acuña, et al. (2012).

2. Caracterización molecular de variantes fenotípicas del hongo *Hemileia vastatrix* causante de la enfermedad de la roya del café.

Emplearemos la secuenciación de las regiones correspondientes al ARN ribosomal ITS1 e ITS2 de diferentes variantes fenotípicas del hongo recogidas de plantaciones de café de distintas plantaciones ubicadas en la región Sur.

En una primera fase se procederá a extraer el material genético del hongo y se amplificarán estas regiones mediante PCR usando cebadores universales descritos en la bibliografía. A continuación los productos de PCR se purificarán y se secuenciarán. De esta manera se determinarán las diferencias genéticas existentes entre las poblaciones con diferencias fenotípicas. Una vez establecidas las diferentes poblaciones genéticas, comprobaremos si éstas se pueden diferenciar mediante el análisis de microsatelites, amplificando mediante PCR también usando cebadores universales y comprobando los patrones de amplificación mediante electroforesis en geles de agarosa.

3. Puesta a punto de métodos de diagnóstico basado en técnicas moleculares que permita una detección rápida del hongo, y que permita diferenciar las variantes genéticas encontradas. Trataremos de identificar secuencias específicas de cada variante fenotípica, con el fin de diseñar cebadores y/o sondas en estas regiones que permitan detectar y diferenciar las variantes del hongo mediante PCR tradicional o PCR en tiempo real (qPCR)

Estudio de la dinámica de las poblaciones del hongo con el fin de predecir la evolución de la enfermedad. Se cuantificara la cantidad de cada variante de hongo empleando la técnica de qPCR. Si hacemos un estudio temporal de las poblaciones podemos ver cómo éstas varían en el tiempo, las diferencias de competitividad que tienen, etc. Estos datos pueden permitir predecir la evolución de las infecciones en las áreas de cultivos afectadas

4. Estudio del efecto de inductores del sistema inmune de la planta en la incidencia de la enfermedad, mediante inyección en plantas control e infectadas. Se trata de un polipéptido extraído de una cepa de *Acremonium strictum* (Chalfoun, 2001). La aplicación del polipéptido AsES induce resistencia contra un amplio espectro de otros patógenos bacterianos y fúngicos (*Botrytis cinerea* y *Xanthomonas fragariae*), obteniéndose resultados similares o mejores a los alcanzados con agroquímicos utilizados en el manejo convencional de enfermedades. Además, se determinó que la proteína AsES es capaz de inducir respuestas defensivas en *Arabidopsis thaliana* y en cultivos celulares de tomate (Chalfoun et al., 2013).

2.5 RESULTADOS POR OBJETIVOS

1. Haplotipos de *Hemileia vastatrix* identificados.

2. Cebadores diseñados para identificar la variante del hongo

3. Variantes genéticas
4. Plantas de café más resistentes al ataque del hongo.

2.7 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES PRINCIPALES	FECHA INICIO	FECHA DE FIN
1. Muestreo de la roya en las zonas cafetaleras de la región Sur.	Enero	Junio
2. Trabajo de laboratorio extracción de ADN	Enero	Junio
3. Secuenciación de las muestras	Febrero	Mayo
4. Trabajo de PCR - SSR	Mayo	Octubre
5. Análisis de resultados	Octubre	Diciembre

2.8 BIBLIOGRAFÍA:

Bettencourt AJ, R. J. (1988). Principles and practices of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. . Elsevier Applied Science , 199 - 234.

Brown J. S., W. J., K. M., M. P (1995). The effect of coffee leaf rust on foliation and yield of coffee in Papua New Guinea. *Crop Protection*, 14 (7), 589 – 592.

Carvalho C. R., R. C. (2011). Cryptosexuality and the Genetic Diversity Paradox in Coffee Rust, *Hemileia vastatrix*. *PLoS ONE*, Vol. 6, issue 11, e 26387.

Castro R., H. C. (2009). Confirmation of the occurrence of teliospores of *Hemileia vastatrix* in Brazil with observations on their mode of germination. *Tropical Plant Pathology*, 108-113.

Chalfoun SM, Carvalho VL, Pereira MC. (2001). Efeito de alterações climáticas sobre o progresso da ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk, & Br.) do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) *Ciencia e Agrotecnologia* 25, 1248-52.

Consejo Nacional cafetero, C. (2013). Situación del sector cafetalero ecuatoriano, diagnóstico Portoviejo: s/e.

ECUADOR, I. d. (2013). Análisis sectorial de café. Guayaquil: Inteligencia Comercial e Inversiones

Hennen, J. F. (1983). The life cycle of *Hemileia vastatrix*. In SIMPOSIO sobre Ferrugens do Cafeeiro Oeiras. Portugal.

Kushalappa, A. C. (1989). Coffee rust: Epidemiology, resistance, and management. Boca Raton, Florida: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data.

Pardo-Cardona, V. (2001). Historia, estado actual y perspectivas de la investigación de los uredinales en Colombia. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 54(1-2), 1333-1350.

Talhinhas P., h. G. (2014). Overview of the functional virulent genome of the coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix* with an emphasis on early stages of infection. *Plant Science*, 88, 1 -

17.

Romero G. L. M. (2013). Identification of major QTL for adult plant resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in the natural Timor Hybrid (*Coffea arabica* x *C. canephora*). *Plant Breeding*, 133, 121-129.

Silva, D. F. (2012). "Phylogenetic analysis of *Hemileia vastatrix* and related taxa using a genome-scale approach". 24th International Conference on Coffee Science (págs. 1404-1408). San Jose: s/e.

Várzea, V. M. P., & Marqus, D. V. (2005). Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. Coffee durable resistance. *Durable resistance to coffee leaf rust*, 53-74.

Zambolim, L., Zambolim, E. M., Vale, F.D., Pereira, A.A., Sakiyama, N. S., & Caixeta, E. T. (2005) Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk et Br. *Brail-Physiological variability, current situation and future prospects*. In: Zambolim, L, 75-98.

2.9 OBSERVACIONES:

Usted puede utilizar este espacio para adicionar información relevante al proyecto que no pudo ser incluida en otros apartados del presente formulario.

Haga clic aquí para escribir texto.

