

DETERMINACION CUANTITATIVA DE RESISTENCIA A
Hemileia vastatrix EN PLANTAS DE *Coffea canephora*
VARIEDAD CONILON. ¹

Gabriel Cadena-Gómez*
Pablo Buriticá-Céspedes**

INTRODUCCION

Según Rayner (10) los síntomas causados por la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. y Br.) se caracterizan por la presencia de manchas redondeadas amarillo-anaranjadas y polvorientas, en el envés de las hojas. El polvillo está constituido por las uredosporas del patógeno y es la única señal externa de la enfermedad. Subraya el autor que la apariencia exacta de una lesión puede variar de acuerdo con la variedad de cafeto, según su susceptibilidad.

Montoya (8), trabajando con plantas de la variedad Catuai bajo condiciones de laboratorio e invernadero, encontró que el proceso de germinación y penetración de *H. vastatrix* se realiza por completo en veinticuatro horas y que la temperatura y la luz predominante en este período afectan la infección y el período de generación.

Van der Plank, (14,15) postuló que toda resistencia a enfermedades de las plantas puede clasificarse dentro de dos categorías: vertical (RV) y horizontal (RH). Según Robinson (11), la RV solamente puede prevenir la infección mientras que la RH reduce los efectos de la infección después de que esta haya ocurrido.

1/ Adaptación de una parte de la tesis de grado presentada por el autor principal para optar al título de Magister Scientiae en el Programa de Estudios para Graduados UN-ICA. Bogotá, Colombia.

* Jefe de la Sección de Fitopatología del Centro Nacional de Investigaciones de café - CENICAFE - Chinchiná, Caldas, Colombia.

** Coordinador Nacional del Programa de Fitopatología del Instituto Colombiano Agropecuario. ICA - Bogotá, Colombia.

884

Van der Plank (16) afirma que la RH es determinada por caracteres cuantitativos: el número de lesiones producidas por una cantidad dada de esporas, el período necesario para que las lesiones esporulen y la cantidad de esporulación.

Según Zadoks (18), la determinación de la resistencia parcial se hace con métodos tipológicos y cuantitativos. Las teorías epidemiológicas sugieren diversos parámetros que pueden ser contados o medidos, llamados componentes de la resistencia como son: la relación de infección, el período de latencia, la tasa de esporulación, el crecimiento de la lesión y el período infeccioso.

Zadoks, citado por Johnson y Taylor (5) ha sugerido que el conteo de los propágulos es una alternativa o complemento para la evaluación de las enfermedades y que en un análisis matemático la cantidad de esporas contadas es análoga a la severidad de la enfermedad.

Según Van der Plank (14) el período de incubación (PI), en la patología de las plantas, es importante porque la estimación de la cantidad de enfermedad se hace con base en los síntomas visibles.

Rodrigues, Bettencourt y Rijo (12) afirman que durante las dos últimas décadas las fuentes de resistencia a *Hemileia vastatrix*, determinadas bajo condiciones de invernadero y utilizadas como material básico en los programas de mejoramiento de arabicas, han sido seleccionadas solamente hacia RV.

Bettencourt (2) conceptúa que últimamente los investigadores se han esforzado en encontrar métodos de evaluación de la resistencia de cafetos que en el campo presentan un ataque moderado de *H. vastatrix*, con una variación cuantitativa en el número y el tamaño de las pústulas y en la formación de las esporas, posiblemente de RH.

Scali, Carvalho y Mónaco (13) trabajando bajo condiciones de invernadero con plantás de los cultivares Ibaare, Catuai y Conilón encontraron que en esta última variedad se presentaba una mayor resistencia a la penetración y desarrollo de la roya del cafeto.

Según Mónaco (6, 7) la evaluación de la resistencia se ha realizado en algunos casos teniendo en cuenta la tasa de infección, la tasa de esporulación, el crecimiento de las lesiones, el período de latencia y el período de infección. En estos aspectos, se encontraron diferencias entre cultivares de *C. arabica* y el cultivar Conilón de *C. canephora*.

Con el objeto de desarrollar una metodología que sirviera para identificar cuantitativamente la resistencia a *Hemileia vastatrix* observada en el campo en plantas de la variedad Conilón (*Coffea canephora*), se realizaron tres ensayos bajo condiciones de invernadero en el Instituto Agronómico de Campinas (IAC) S. P. Brasil, durante 1977.

Simultáneamente se realizaron ensayos bajo condiciones de laboratorio y observaciones de campo (3,4). En el presente artículo se presentan los resultados obtenidos bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y METODOS

Ensayo N° 1.

En este ensayo se utilizaron plantas del cultivar Conilón obtenidas a partir de semillas de las plantas originales sembradas en el campo. Debido a su autoincompatibilidad, las plantas presentaban características fenotípicas variables, en su porte y tamaño de las hojas.

Se utilizaron 5 plantas de dos años de edad, de cada uno de los siguientes números: 67-5, 68-11, 69-14 y 70-11 del cv. Conilón, las cuales, bajo condiciones de campo, presentaban diferente grado de severidad de la roya expresada en una escala de 1 a 6, tal como se puede observar en la Tabla 1. Estas plantas estaban sembradas en materas de plástico de 24,5 x 20,5 x 15,0 cm. Como testigos se emplearon 5 plantas del cv. Mundo Novo (MN) sembradas en materas de barro de 20,0 x 20,0 x 15,0 cm.

Inóculo. Como inóculo se utilizaron uredosporas de *H. vastatrix* colectadas en el campo, provenientes de las plantas de los ensayos de la Sección de Genética del IAC. Las esporas se retiraron con la ayuda de un pincel y se pasaron a través de un tamiz de 100 mallas; luego se recolectaron en cápsulas de gelatina y se conservaron dentro de un desecador colocado en una nevera a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Antes de la inoculación se determinó el porcentaje de germinación del inóculo, para lo cual se dispersaron esporas sobre una lámina de vidrio con agua destilada, mantenida bajo oscuridad durante 12 horas a 22°C . Se obtuvo un 19,6 por ciento de germinación.

Inoculación. Para la inoculación cuantitativa se desarrolló la siguiente metodología:

Con el fin de conocer el área foliar inoculada se construyeron ventanas sobre láminas de plástico transparente. Las dimensiones de dichas ventanas fueron las siguientes:

Area 1 = 4 x 8 cm; Area 2 = 3,5 x 7 cm, Area 3 = 3 x 6 cm; Area 4 = 2,5 x 5 cm.

También se utilizaron ventanas dobles y triples teniendo como base el área de las ventanas simples. De acuerdo con el tamaño de la hoja a ser inoculada se utilizó la ventana que mejor sirviera para cubrir su superficie foliar. Antes de la inoculación se midió cada hoja y se anotó en una etiqueta el área a ser inoculada, en cada par de hojas.

El inóculo se aplicó a una concentración de 0,5 mg de uredosporas por ml. de agua destilada. Durante el tiempo previo a la inoculación, el inóculo se mantuvo en constante agitación con ayuda de un agitador magnético.

Para la inoculación se utilizó un aspersor Devilbis, accionado por un pequeño motor compresor Millipore a una presión de 0,35 kg/cm².

La inoculación se efectuó sobre el área foliar que quedaba expuesta a la aspersión cuando se colocaba la ventana correspondiente sobre el envés de la hoja, tal como se observa en la Figura 1. Todas las inoculaciones se efectuaron manteniendo las hojas a una distancia de 12 cm de la boquilla del aspersor y durante un tiempo de dos segundos, el cual era suficiente para hacer siempre el mismo recorrido para asperjar con el inóculo el área determinada.

Una vez inoculada la planta, se asperjó con agua destilada sobre el haz de las hojas y se cubrió con bolsas de plástico previamente mojadas en su parte interna. Las plantas permanecieron en esta condición y en ausencia de luz durante 65 horas. Después se retiraron las bolsas plásticas, dejando evaporar lentamente el agua que se encontraba sobre las hojas y posteriormente fueron trasladadas al invernadero en donde fueron dispuestas al azar.

Observaciones realizadas. Periodicamente se hicieron observaciones individuales sobre las hojas inoculadas, con el fin de estimar los siguientes parámetros:

Índice de infección: Número de lesiones de roya, resultantes en cada área inoculada. Para obtener este dato se hicieron lecturas diarias a partir de los 20 días después de la inoculación cuando empezaron a aparecer los primeros síntomas.

Período de incubación: Se consideró cumplido el PI cuando en el 50 por ciento de las lesiones resultantes se observó esporulación. La lectura fue individual para cada hoja y para la planta se tomó la totalidad de las lesiones.



FIGURA 1.- Sistema utilizado para la inoculación de las plantas, empleando ventanas de áreas conocidas.



FIGURA 2.- Metodología empleada para recolectar las uredosporas de *H. vastatrix* producidas en las plantas, bajo condiciones de invernadero.

Índice de esporulación: El número de esporas producidas por pústula. Después de que cada planta cumplió su PI se empezaron a tomar las esporas producidas durante 28 días, iniciando la primera recolección 7 días después de cumplido el PI y tres tomas posteriores semanalmente, con el fin de evitar la pérdida de esporas por caída natural.

Para la toma de esporas se utilizó un aspirador metálico tipo ciclón acoplado a una cápsula de gelatina N° 00 Eli Lilly. Para la aspiración de las esporas durante las tres primeras tomas se utilizó una fuerza de succión de 15 milibares con el fin de no causar daño al tejido foliar y a las hifas esporulantes (Figura 2). La última recolección de esporas se realizó con las hojas retiradas de las plantas y empleando una mayor fuerza de succión para obtener el máximo de las esporas producidas.

Para el conteo de las esporas, se extrajeron de las cápsulas mediante la utilización de un pincel y se colocaron en suspensión en volúmenes conocidos de agua destilada. Con el fin de obtener una suspensión homogénea, se utilizó un agitador magnético durante el período previo a la lectura.

Las esporas fueron contadas con la ayuda de una lámina de conteo Neubauer o hemacítmetro. El dato final correspondió al promedio de 10 lecturas, para cada una de las plantas.

Además de las anteriores observaciones también se anotó la caída de las hojas como consecuencia de la incidencia de la roya. Este ensayo se realizó de mayo a agosto de 1977.

Ensayo N° 2.

Teniendo en cuenta que las plantas del cv. Conilón son autoincompatibles y que por lo tanto su reproducción por medio de semillas no asegura la obtención de plantas genéticamente iguales a las originales, se planeó la realización de ensayos bajo condiciones de invernadero con plantas obtenidas por enraizamiento de estacas.

Para la obtención de las estacas enraizadas se siguió el método propuesto por Arcila y Valencia (1), el cual permitió la obtención de un porcentaje de enraizamiento superior al 70 por ciento en dos meses. A los dos meses las estacas fueron transplantadas a bolsas plásticas y un mes más tarde a vasijas de mayor tamaño.

Para la realización de este ensayo se seleccionaron 12 plantas de seis meses de edad, obtenidas por enraizamiento de estacas de cada una de las siguientes plantas del cultivar Conilón: 68-4, 68-15, 69-5 y 69-9. Como testigo se utilizaron 12 plantas del cv. Mundo Novo (MN).

Las plantas del cv. Conilón estaban sembradas en vasijas de barro de 20 x 20 x 15 cm y las del cv MN en vasijas de plástico de 24,5 x 20,5 x 15 cm.

En cada planta se seleccionaron distintos números de pares de hojas, de acuerdo con su estado de desarrollo y escogiendo siempre aquellas hojas sanas y bien desarrolladas. La metodología de inoculación fue la misma empleada en el ensayo N^o 1.

El inóculo presentó un 12 por ciento de germinación y 50 por ciento de formación de apresorios, después de 12 horas.

Para la inoculación se utilizó una pistola de pintura marca Stevla TS-1 con boquilla de 0,7 mm de salida y accionada por una bomba compresora. La distancia de la aspersión fue de 18 cm y la presión utilizada de 0,35 kg/cm².

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 12 repeticiones.

Una vez inoculadas las plantas, éstas permanecieron durante 72 horas en cámara húmeda y posteriormente fueron llevadas al invernadero en donde periódicamente se realizaron las lecturas para Índice de Infección (II), Índice de Esporulación (IE) y Período de Incubación (PI).

Para la determinación del IE se utilizó la misma metodología utilizada en los ensayos con discos de hojas (3), utilizando 40 ml de agua destilada para retener las esporas, y una fuerza de succión de 15 milibares con el fin de evitar daño a las hojas y al hongo. (Figura 3)

La primera toma de esporas se realizó diez días después de cumplido el PI de cada planta. Posteriormente a los 20 días se hizo la segunda toma de esporas, utilizando exactamente la misma metodología empleada para la primera.

La lectura del número de esporas producidas por planta se hizo con la ayuda de una lámina de conteo Neubauer. El dato final corresponde al promedio de diez lecturas por cada planta.

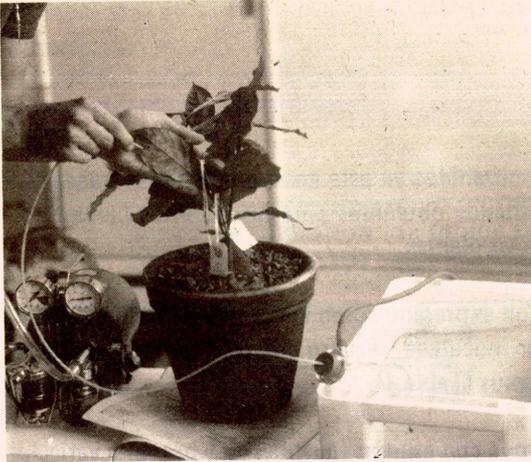


FIGURA 3.- Metodología empleada para la medición del índice de esporulación en el segundo, y tercer ensayo.

El clima predominante, durante la realización de este ensayo, corresponde a las lecturas para los meses de octubre a diciembre de 1977 (4).

Ensayo N° 3

Este ensayo se realizó utilizando plantas de tres meses de edad, obtenidas por enraizamiento de estacas procedentes de las plantas identificadas en el campo con los números 67-5, 68-11, 69-14, y 70-11, las cuales ya habían sido inoculadas bajo condiciones de invernadero pero utilizando plantas obtenidas a partir de semillas (ensayo N° 1).

Con la realización de este ensayo se pretendía comparar la reacción de plantas procedentes de estacas enraizadas, con la obtenida con las plantas procedentes de semillas.

El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 5 repeticiones por planta y utilizando como testigo 5 plantas de la variedad Mundo Novo de seis meses de edad. Las plantas estaban sembradas en vasijas de plástico de 24,5 x 20,5 x 15 cm.

Para la inoculación se utilizó la misma metodología empleada en el ensayo N° 2. La única variación consistió en que las plantas antes de ser llevadas al invernadero, permanecieron en cámara húmeda y en condiciones de oscuridad solamente durante 24 horas y bajo luz difusa durante otras 24 horas.

Los datos climatológicos para este ensayo corresponde a los de los meses de noviembre y diciembre de 1977 (4).

RESULTADOS

Ensayo N^o 1.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en este ensayo. En ella se puede observar la gran heterogeneidad de los resultados obtenidos para los distintos parámetros medidos, como consecuencia del origen de las plantas.

Índice de Infección. El índice de infección expresado como el número de lesiones de roya por centímetro cuadrado de área foliar inoculada, registró una gran variabilidad tanto entre tratamientos como dentro de los mismos (Tabla 1).

Igualmente, el porcentaje de lesiones de roya con esporas (pústulas) fue bastante variable. Como se muestra en la Tabla 1, no todas las plantas que en un principio resultaron con lesiones, presentaron pústulas.

Índice de esporulación. En la Tabla 1 se observa el índice de esporulación expresado como el número de uredosporas de *H. vastatrix* producidas por pústula. Entre las plantas del cv. Conilón, las pertenecientes al número 67-5 produjeron una mayor cantidad de uredosporas por pústula, seguidas por las plantas 70-11, 69-2 y 69-14. Por su parte las plantas de la var. Mundo Novo produjeron una cantidad mucho mayor de uredosporas que las plantas de Conilón, aunque algunas plantas de dicho cultivar presentaron esporulación similar o mayor que el promedio obtenido para las cinco plantas de Mundo Novo.

Período de incubación. El período de incubación de *H. vastatrix* registrado para las distintas plantas de este ensayo, también fue muy variable. En la Tabla 1 se puede observar que el PI registrado para las distintas plantas de Conilón fue mayor que para las plantas de Mundo Novo, con la excepción de las plantas 69 - 2 - 3 y 70 - 11 - 3.

Análisis estadístico. Aunque se realizaron los análisis para las distintas variables del ensayo, no se incluyen sus resultados, ya que debido a la gran variabilidad dentro de los tratamientos, las interpretaciones estadísticas no corresponderían al comportamiento individual de las plantas observadas en el ensayo.

Ensayo N^o 2.

En la Tabla 2 se presentan los datos correspondientes a los promedios obtenidos para cada uno de los tratamientos, antes de las correspondientes transformaciones para fines estadísticos. En la Tabla 3 se observan los promedios transformados para el análisis estadístico,

acompañados de su respectiva identificación de acuerdo con la prueba de Tukey de significancia.

TABLA 1.- RESULTADOS DEL ENSAYO Nº 1 INVERNADERO. PLANTAS DE LAS VARIETADES CONILÓN Y MUNDO NOVO INOCULADAS CON UREDOSPORAS DE *H. vastatrix*. INDICE DE INFECCION (II); INDICE DE ESPORULACION (IE) Y PERIODO DE INCUBACION (PI). DATOS PARA PLANTAS INDIVIDUALES.

Planta No	Calificación 1 - 6*	Lesiones por cm ² de área foliar	% de pústulas	Esporas por pústula x 10 ⁴	Período de incubación días
69-14-1	1,0	1,18	50,00	0,06	78
69-14-2		0,23	00,00	0,00	00
69-14-3		1,20	00,00	0,00	00
69-14-4		2,55	00,00	0,00	00
69-14-5		0,55	00,00	0,00	00
68-11-1	2,0	0,77	00,00	0,00	00
68-11-2		1,23	00,00	0,00	00
68-11-3		0,26	00,00	0,00	00
68-11-4		0,95	00,00	0,00	00
68-11-5		0,00	00,00	0,00	00
70-11-1	2,0	1,68	66,49	4,63	60
70-11-2		9,84	58,93	0,82	50
70-11-3		1,83	84,90	2,44	45
70-11-4		0,46	00,00	0,00	00
70-11-5		0,98	50,00	0,21	87
67- 5-1	3,5	1,13	62,63	7,36	60
67- 5-2		2,17	45,77	5,26	60
67- 5-3		0,17	89,66	5,96	53
67- 5-4		0,19	00,00	0,00	00
67- 5-5		4,13	00,00	0,00	00
69- 2-1	4,0	0,77	27,92	0,43	60
69- 2-2		0,12	00,00	0,00	00
69- 2-3		3,12	100,00	2,91	40
69- 2-4		5,20	30,71	0,03	60
69- 2-5		0,00	00,00	0,00	00
Mundo Novo 1/		1,26	99,85	5,80	44

* Calificación para grado de severidad de la roya en el campo.

1/ Promedio de cinco plantas.

TABLA 2.- RESULTADOS ENSAYO N° 2 INVERNADERO. PLANTAS DE LAS VARIETADES CONILON Y MUNDO NOVO INOCULADAS CON UREDOSPORAS DE *Hemileia vastatrix*. INDICE DE INFECCION (II); INDICE DE ESPORULACION (IE) Y PERIODO DE INCUBACION (PI). PROMEDIO DE 12 REPETICIONES.

Tratamiento	Calificación 1 - 6*	II		IE	PI
		Lesiones por cm ² de área foliar	% de pústulas	Esporas por pústula x 10 ⁴	Período de incubación días
68- 4	3,0	1,07	100,0	2,90	31,8
68-15	5,0	0,14	00,0	0,00	00,0
69- 5	1,0	0,31	00,0	0,00	00,0
69- 9	4,0	1,89	100,0	5,10	28,4
Mundo Novo	6,0	2,56	100,0	5,78	39,8

* Calificación para grado de severidad de la roya en el campo.

TABLA 3.- RESULTADOS ENSAYO N° 2 INVERNADERO. PLANTAS DE LAS VARIETADES CONILON Y MUNDO NOVO INOCULADAS CON UREDOSPORAS DE *Hemileia vastatrix*. INDICE DE INFECCION (II); INDICE DE ESPORULACION (IE) Y PERIODO DE INCUBACION (PI). PROMEDIO DE 12 REPETICIONES. DATOS TRANSFORMADOS PARA ANALISIS ESTADISTICO 1/.

Tratamiento	II		IE	PI
	Lesiones por cm ² de área foliar = $\frac{X}{\sqrt{X}}$	% de pústulas = $\frac{X}{\text{arc sen } \sqrt{X/100}}$	Esporas por pústula x 10 ⁴ = $\frac{X}{\sqrt{X}}$	Período de incubación días = $\frac{X}{\sqrt{X}}$
68-4	0,98 a	1,57 a	1,66 b	5,64 b
68-15	0,25 b	1,20 a	0,00 c	0,00 d
69- 5	0,41 b	0,76 b	0,00 c	0,00 d
69- 9	1,28 a	1,57 a	2,23 a	5,32 c
Mundo Novo	1,46 a	1,57 a	2,37 a	6,30 a
Tukey 5°/o	0,53	0,48		
Tukey 1°/o			0,39	0,25
C. V. (°/o)	52,07	32,58	22,56	5,66

1/ Los promedios seguidos por la misma letra no difieren, estadísticamente entre sí, por la prueba de Tukey al 5 ó al 1 por ciento.

Índice de Infección. De acuerdo con el análisis estadístico se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos. Los tratamientos Mundo Novo, 69-9 y 68-4 presentaron un número de lesiones de roya por centímetro cuadrado estadísticamente mayor que los tratamientos 68-15 y 69-5.

Respecto al porcentaje de pústulas, de acuerdo con el análisis de varianza, se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos.

De acuerdo con la prueba de Tukey existen diferencias significativas entre los tratamientos Mundo Novo, 68-4, 68-15 y 69-9 y el tratamiento 69-5.

Índice de esporulación. El índice de esporulación, transformado a raíz cuadrada del número de esporas, presenta diferencias altamente significativas entre tratamientos. Estas diferencias se presentan en los tratamientos Mundo Novo y 69-9 con los tratamientos 68-4, 68-15 y 69-5. En los dos últimos tratamientos no se presentó esporulación.

Período de incubación. Para el PI de *H. vastatrix* se encontraron diferencias altamente significativas de acuerdo con el análisis de varianza, para los datos transformados a raíz cuadrada del número de días. El PI del tratamiento Mundo Novo fue mayor y difiere altamente con el registrado para los demás tratamientos.

Análisis de correlación. Se obtuvieron coeficientes de correlación altamente significativos entre los siguientes parámetros: entre esporas por pústula y período de incubación ($r = 0,94$). Entre esporas por pústula y lesiones por cm cuadrado ($r = 0,74$). Entre lesiones por cm cuadrado y período de incubación ($r = 0,69$). Entre esporas por pústula y porcentaje de pústulas ($r = 0,51$) y entre porcentaje de pústulas y PI ($r = 0,54$). (Tabla 6.)

Ensayo N° 3.

Los promedios correspondientes a los distintos parámetros medidos en desarrollo de este ensayo aparecen en la Tabla 4.

En la Tabla 5 se presentan los datos promedios para los distintos tratamientos, transformados para el análisis estadístico y clasificados de acuerdo con la prueba de Tukey.

Índice de infección. Según el análisis de varianza para lesiones de roya por cm cuadrado, se presentaron diferencias altamente significativas entre tratamientos. De acuerdo con la prueba de Tukey al 5 por ciento, los tratamientos Mundo Novo, 69-2 y 67-5, difieren del 69-14 y del 70-11.

TABLA 4.- RESULTADOS ENSAYO N° 3 INVERNADERO. PLANTAS DE LAS VARIETADES CONILON Y MUNDO NOVO INOCULADAS CON UREDOSPORAS DE *Hemileia vastatrix*. INDICE DE INFECCION (II); INDICE DE ESPORULACION (IE) Y PERIODO DE INCUBACION (PI). PROMEDIO DE CINCO REPETICIONES.

Tratamiento	Calificación 1 - 6*	II		IE Esporas por pústula x 10 ⁴	PI Período de incubación días
		Lesiones por cm ² de área foliar	% de pústulas		
67- 5	3,5	0,50	88,0	1,88	39,8
68-11	2,0	0,00	00,0	0,00	00,0
69- 2	4,0	1,62	100,0	4,25	34,4
69-14	1,0	0,47	89,0	1,18	34,0
70-11	2,0	0,16	82,0	0,75	38,4
Mundo Novo	6,0	1,33	100,0	8,69	42,0

* Calificación para grado de severidad de la roya en el campo.

Según el análisis de varianza para el porcentaje de pústulas, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

Indice de esporulación. De acuerdo con el análisis de varianza para el número de esporas de *H. vastatrix* producidas por pústula, se presentan diferencias altamente significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey al 5 por ciento, indica que los tratamientos Mundo Novo y 69 - 2, difieren estadísticamente de los tratamientos 67 - 5, 69 - 14 y 70 - 11.

Período de incubación. Según el análisis de varianza para raíz cuadrada del número de días, no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, para este parámetro.

Análisis de correlación. De acuerdo con el análisis de correlación entre las distintas variables estudiadas en este ensayo, se encontraron coeficientes de correlación altamente significativos entre : período de incubación y porcentaje de pústulas ($r = 0,81$). Entre esporas por pústula y lesiones por centímetro cuadrado ($r = 0,63$) y entre esporas por pústula y porcentaje de pústulas ($r = 0,56$). El coeficiente de correlación fue significativo para esporas por pústula y período de incubación ($r = 0,44$). (Tabla 6).

TABLA 5.- RESULTADOS ENSAYO N° 3 INVERNADERO. PLANTAS DE LAS VARIETADES CONILON Y MUNDO NOVO INOCULADAS CON UREDOSPORAS DE *Hemileia vastatrix*. INDICE DE INFECCION (II); INDICE DE ESPORULACION (IE) Y PERIODO DE INCUBACION (PI). PROMEDIO DE CINCO REPETICIONES. DATOS TRANSFORMADOS PARA ANALISIS ESTADISTICO 1/.

Tratamiento	II		IE	PI
	Lesiones por cm ² de área foliar = X \sqrt{X}	% de pústulas = X arc sen $\sqrt{X/100}$	Esporas por pústula x 10 ⁴ = X \sqrt{X}	Período de incubación días = X \sqrt{X}
67- 5	0,69 a	1,34	1,35 b	6,30
69- 2	1,20 a	1,57	2,04 a	5,85
69-14	0,55 b	1,37	0,96 b	5,21
70-11	0,37 b	1,32	0,75 b	5,53
Mundo Novo	1,12 a	1,57	2,88 a	6,47
Tukey 5%	0,64		0,93	
C.V. (%)	43,19	21,98	30,26	32,60

1/ Los promedios seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí, por la prueba de Tukey al 5 por ciento.

TABLA 6. COEFICIENTES DE CORRELACION ENCONTRADOS ENTRE LAS DISTINTAS VARIABLES ESTUDIADAS EN LOS DOS ENSAYOS REALIZADOS BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO CON PLANTAS OBTENIDAS POR ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS.

	Esporas por pústula	Período de incubación
Período de incubación	0,94** 0,44*	
Lesiones por cm ²	0,74** 0,63**	
Porcentaje de pústulas	0,51** 0,56**	0,54** 0,81**

* Significativo al 5%.

** Significativo al 1%.

DISCUSION

La metodología empleada en la inoculación bajo condiciones de invernadero facilitó la lectura de los resultados en cuanto se refiere al número de lesiones resultantes, si tenemos en cuenta las grandes diferencias de área foliar que existen entre las dos variedades estudiadas. Aunque se controlaron los distintos factores que intervinieron en las inoculaciones como fueron la calidad del inóculo, la cantidad de esporas aplicada por unidad de superficie foliar, el tiempo de exposición, la distancia de la aspersión, la presión constante del compresor, así como el flujo de salida, los resultados fueron variables. El número de lesiones de roya por área foliar no solo varió a nivel de plantas o tratamientos sino también entre las hojas de un mismo par.

Scali, Carvalho y Mónaco (13) encontraron que bajo condiciones de invernadero se presentaron diferencias en el número de lesiones por área foliar al comparar la variedad Conilón con Ibaare, Mundo Novo y Catuai, y consideraron que esa diferencia se debía a una mayor resistencia a la penetración y desarrollo de la roya, existente en las plantas de Conilón. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el segundo y tercer ensayo bajo condiciones de invernadero, en los cuales se utilizaron plantas obtenidas por enraizamiento de estacas. En ambos ensayos se encontraron diferencias altamente significativas entre las plantas de la variedad Mundo Novo y las de Conilón, calificadas como resistentes en el campo.

Según Van der Plank (16), una de las formas de expresión de la RH consiste en que el número de lesiones formadas en una variedad con RH es menor que en una variedad susceptible bajo las mismas condiciones e inoculadas con el mismo número de esporas.

En cuanto al primer ensayo, debido a la gran variabilidad genética de las plantas empleadas, los resultados fueron igualmente muy variables entre plantas del mismo origen. Esto explica, en parte, el comportamiento de la var. Conilón bajo condiciones de campo, en donde al lado de plantas susceptibles se encuentran plantas mediana y altamente resistentes (4). Esta población heterogénea conduce a un comportamiento epidémico de la roya que impide que su inóculo se desarrolle a niveles que puedan causar un verdadero daño a las plantas.

Además de las diferencias encontradas entre los tratamientos en cada uno de los ensayos, se presentaron diferencias entre los ensayos debido posiblemente a los factores ambientales predominantes durante su desarrollo. Se sabe que, en el caso específico de la roya del cafeto, la luminosidad y la presencia del agua en estado líquido, que permite la germinación de las uredosporas, influye en el número de lesiones resultantes.

En los ensayos 1 y 2, las plantas una vez inoculadas permanecieron bajo condiciones de

cámara húmeda y oscuridad durante 65 y 72 horas, mientras que en el ensayo número 3 dicha condición se mantuvo únicamente durante 24 horas. Es posible que ésta haya sido la razón por la cual el número de lesiones resultantes en los dos primeros ensayos fue mayor que en el tercer ensayo.

De acuerdo con Montoya (8), el proceso de germinación y penetración de *H. vastatrix* se realiza por completo en 24 horas y la temperatura y la luz predominante en ese período afecta la infección y el período de generación.

En los trabajos que se realizan en el Centro de Investigaciones de las Royas del Cafeto, con el fin de diferenciar variedades desde el punto de vista de la RV, el tiempo durante el cual las plantas permanecen en cámara húmeda es de 72 horas, con el propósito de obtener resultados más estables. Sin embargo, bajo condiciones de campo, la presencia de agua y ausencia de luminosidad no deben durar más de 12 horas contínuas. De acuerdo con este hecho, es explicable que las plantas que permanecieron menos tiempo en cámara húmeda y en ausencia de luz, presentaran una reacción a la inoculación con la roya semejante a su comportamiento en el campo.

Para medir el índice de esporulación en los tres ensayos se utilizaron dos métodos distintos para la recolección de las uredosporas producidas. La metodología empleada en el primer ensayo permitió la recuperación de las uredosporas producidas semanalmente con una alta eficiencia. Sin embargo, durante el proceso de sacado de las uredosporas desde las cápsulas de gelatina, se perdían uredosporas. Este defecto se logró corregir con la metodología empleada en los otros ensayos mediante la cual las uredosporas producidas eran capturadas directamente en el agua, donde quedaban en suspensión para su inmediato conteo.

Los dos métodos empleados para la recolección de las uredosporas directamente desde las lesiones, además de ser eficientes, permitieron que las uredosporas siguieran produciéndose normalmente, es decir, no causaron daño a las hifas esporulantes.

La cuenta de las uredosporas producidas evidenció una alta variabilidad en sus resultados. Por esa razón los datos finales correspondieron siempre al promedio de 10 lecturas. Esa alta variabilidad posiblemente se deba a las características de peso, tamaño y forma de las uredosporas que hace que éstas se distribuyan muy irregularmente en el agua o que se agrupen en tal forma que influyan sobre los resultados de las lecturas con el hematocímetro.

De acuerdo con Zadoks, citado por Johnson y Taylor (5), contar los propágulos es una alternativa o complemento para la evaluación de las enfermedades, y en un análisis matemático la cantidad de esporas contadas es análoga a la severidad de la enfermedad.

Johnson y Taylor (5) afirman que la medición de la producción de esporas de un pató-

geno proporciona un método refinado de medir la patogenicidad de este y la resistencia del hospedante. Agregan que esta medida corresponde a la suma de los efectos de todos los mecanismos de resistencia en el hospedante.

En los tres ensayos de invernadero, se midió el índice de esporulación por planta, expresado como la cantidad de uredosporas producidas por lesión. En números absolutos, la esporulación en las plantas de Mundo Novo siempre fue mayor que la obtenida en las plantas de Conilón. A nivel estadístico, en los tres ensayos se presentaron diferencias altamente significativas que permitieron diferenciar las distintas plantas incluídas en los ensayos. Las plantas de Conilón que en el campo han sido clasificadas como resistentes a la roya, en los ensayos de invernadero presentaron los más bajos índices de esporulación y se diferenciaron en forma significativa de las plantas de Mundo Novo y de las de Conilón consideradas susceptibles.

Posiblemente el índice de esporulación sea el parámetro más preciso para diferenciar reacciones de resistencia y susceptibilidad a la roya del cafeto, en plantas de pocos meses de edad, bajo condiciones de invernadero o de campo, desarrollando las técnicas apropiadas. Este sería un método de selección que, aunque dispendioso, daría la mejor aproximación entre las observaciones de campo y de invernadero.

Un bajo índice de esporulación sería la forma más efectiva para reducir los efectos de una epidemia a nivel de poblaciones, ya que a su vez se reduciría el índice de infección, por medio de la disminución en la formación de lesiones nuevas. Esto puede ser cierto especialmente para el caso de *H. vastatrix*, que bajo condiciones de campo registra porcentajes de germinación bastante bajos.

El PI expresado como el tiempo transcurrido desde el momento de la inoculación hasta la esporulación del 50 por ciento de las lesiones resultantes de dicha inoculación, fue medido individualmente para cada planta.

La importancia del PI en el desarrollo de una enfermedad, puede variar de acuerdo con la naturaleza del hospedante y del patógeno. Van der Plank (17) considera que el tiempo no es importante en enfermedades endémicas. Afirma que el principal factor que determina que una enfermedad sea endémica es la presencia constante del hospedante y el parásito. Agrega que por ejemplo algunas enfermedades de forestales poseen períodos de latencia de varios años pero de otra parte su esporulación es sumamente abundante y prolongada.

Si consideramos que la roya del cafeto es una enfermedad endémica, dado que la disponibilidad de tejido hospedante y la presencia del patógeno es constante, así sea en bajas proporciones o en las plantas espontáneas que crecen en los cafetales, se podría considerar que una diferencia de pocos días en el PI al comparar dos variedades de *Coffea* no sería de

gran utilidad desde el punto de vista epidemiológico, si no está acompañada de una reducción en la tasa de esporulación.

En los tres ensayos realizados en invernadero se encontraron variaciones en los PI de las diferentes plantas probadas. Con excepción del primer ensayo en el cual algunas plantas de Conilón presentaron baja esporulación y prolongados PI, en los otros dos ensayos la situación fue al contrario; las plantas con baja esporulación presentaron PI mas cortos que las plantas con mas abundante esporulación. Una posible explicación para ese comportamiento del PI, puede estar relacionada con los factores ambientales, principalmente la temperatura, reinantes durante la realización de cada ensayo. Así tenemos que mientras el primer ensayo se realizó entre los meses de mayo y agosto, el segundo y tercero se realizaron entre octubre y diciembre de 1977. Las temperaturas predominantes durante los meses de mayo a agosto son más frías que las registradas en el último trimestre del año (4).

De acuerdo con los trabajos realizados por varios autores, citados por Rayner (10), el PI de *H. vastatrix* tiene la tendencia a acortarse en los meses más calientes y se vuelve más largo en los meses más fríos, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos de invernadero.

Resultados más homogéneos y estables fueron obtenidos en los dos últimos ensayos cuando se comparan con los obtenidos en el primero, en el cual se usaron plantas provenientes de semillas. Esto se debió al empleo de plantas obtenidas por enraizamientos de estacas, lo que permitió tener en el invernadero a la planta que se deseaba probar, multiplicada clonalmente, lo cual asegura la identidad genética y por consiguiente una respuesta más uniforme a la infección por la roya.

Respecto a la edad de las plantas a probar, de acuerdo con su mayor disponibilidad de tejido foliar y mejor estado de desarrollo, parece que aquellas plantas de más de 6 meses de edad, son las más recomendables para este tipo de ensayos en invernadero.

En relación con los distintos parámetros estudiados, de acuerdo con los análisis de correlación, el número de esporas por pústula es la variable que mejor se correlaciona con las demás variables estudiadas (Tabla 6) y por lo tanto corresponde a la medida más segura para evaluar resistencia de tipo horizontal en plantas de *Coffea* sp.

CONCLUSIONES

1. Es posible identificar la expresión de resistencia horizontal a la roya del cafeto, en plantas de *Coffea canephora* var. Conilón, mediante la metodología desarrollada.

2. Con plantas de seis meses de edad y obtenidas por enraizamiento de estacas, se obtienen resultados más homogéneos en relación con el comportamiento de sus plantas de origen en el campo.
3. Los parámetros que mejor sirven para identificar la resistencia a *H. vastatrix* son en su orden el número de esporas por pústula, el porcentaje de pústulas, el número de lesiones por cm² de área foliar y el período de incubación.

RESUMEN

Con el fin de identificar la forma de expresión de la resistencia a *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. en la variedad Conilón de *Coffea canephora*, se realizaron durante 1977 tres experimentos bajo condiciones de invernadero en el Instituto Agronómico de Campinas, SP, Brasil.

Se utilizaron plantas obtenidas de semillas y por enraizamiento de estacas. Como testigo se utilizó la variedad Mundo Novo.

Se desarrolló una metodología para realizar inoculaciones cuantitativas con el fin de obtener datos acerca del índice de infección (número de lesiones por cm² de área foliar) índice de esporulación (porcentaje de pústulas y producción de uredosporas por pústula) y período de incubación (días transcurridos desde la inoculación hasta que el 50% de las lesiones esporulan).

Se encontraron coeficientes de correlación altamente significativos, en los dos experimentos realizados con plantas obtenidas por enraizamiento de estacas, para los parámetros porcentaje de pústulas y período de incubación ($r = 0,54^{**}$ y $r = 0,81^{**}$); esporas por pústula y lesiones por cm² de área foliar ($r = 0,74^{**}$ y $r = 0,63^{**}$) y entre porcentaje de pústulas y esporas por pústula ($r = 0,51^{**}$ y $r = 0,56^{**}$).

Estos parámetros son los que mejor expresan la resistencia a *H. vastatrix* en plantas jóvenes y los que permiten explicar el comportamiento de la enfermedad bajo condiciones de campo en plántas de la variedad Conilón.

SUMMARY

In order to identify the form of expression of the resistance to *Hemileia vastatrix* Berk. and Br. in the Conilon variety of *Coffea canephora*, three experiments were carried out during the year 1977 under greenhouse conditions in the Agronomic Institute of Campinas, S.P., Brazil.

The materials tested consisted of plants originated from both seed and rooted cuttings. The variety Mundo Novo was used as check.

A methodology was developed to carry out quantitative inoculations in order to obtain data on the infection index (number of lesions per cm^2 of foliar area), spore production index (percentage of pustules and production of uredospores per pustule), and incubation period (days elapsed from time of inoculation until 50% of the lesions spored).

In the two experiments carried out with plants originated from rooted cuttings highly significant correlation coefficients were found for both the parameters percentage of pustule and incubation period ($r = 0.54^{**}$ and $r = 0.81^{**}$) for spores per pustule and lesions per cm^2 of foliar area ($r = 0.74^{**}$ and $r = 0.63^{**}$), as well as for percentage of pustules and spores per pustules ($r = 0.51^{**}$ and $r = 0.56^{**}$).

These parameters are the ones which best express the resistance to *Hemileia vastatrix* in young plants and allow the explanation of the performance of the disease under field conditions in plants of the variety Conilon.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ARCILA P., J. y VALENCIA A., G. Enraizamiento de estacas de café (*Coffea arabica* L.) Cenicafe (Colombia). 27(3):135-139. 1976.
- 2.- BETTENCOURT, A. J. Avaliação da resistencia a *Hemileia vastatrix* no melhoramento genético de *Coffea arabica*. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 4º, Caxambu, Brasil, 1976. Resumos. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro do Café, 1976. pp. 274-276.
- 3.- CADENA G., G. Expresión de resistencia horizontal a la roya (*Hemileia vastatrix*) en la variedad Conilón (*Coffea canephora*). Tesis M. S. Bogotá, Colombia. Programa de Estudios para Graduados en Ciencias Agrarias ICA-UN. 1978. 185 p.
- 4.- CADENA G., G. y BURITICA C., P. Expresión de resistencia horizontal a la roya (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) en *Coffea canephora* variedad Conilón. Cenicafe (Colombia) 31(1): 3-28. 1980.
- 5.- JOHNSON, R. and TAYLOR, A. J. Spore yield of pathogens in investigations of the race specificity of host resistance. Ann. Rev. Phytopathol. 14:97-119, 1976.
- 6.- MONACO, L. C. Hibridación de café en relación a resistencia hacia la roya. In: Consulta de expertos sobre prevención de la roya del cafeto. Turrialba, Costa Rica 27-29 de noviembre, 1973. IICA - FAO - CATIE Minagricultura Costa Rica. p. 1 - 2.

- 7.- MONACO, L. C. Consequences of the introduction of coffee rust into Brazil. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 287: 57-71. 1977.
- 8.- MONTROYA, H. R. Influencia da temperatura e da luz na germinação infectividade e periodo de geração de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. Tese M. S. Viçosa M. G. Brasil, Universidade Federal de Viçosa, 1974. 60 p.
- 9.- MORAES, S. A. DE; SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. A.; ORTOLANI, A. A. e PEDRO JUNIOR, M. J. Periodo de incubação de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. em tres regioes do Estado de Sao Paulo. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 2:32-38. 1975.
- 10.- RAYNER, R. W. *Micología, historia y biología de la roya del cafeto*. Trad. Ludwing Muller. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1972. 68 p. (Publicación miscelánea N° 94).
- 11.- ROBINSON, R. A. *Plant pathosystems*. Berlin, Springer, 1976. 184 p.
- 12.- RODRIGUES JUNIOR, C. J.; BETTENCOURT, A. J. y RIJO, L. Razas del patógeno y resistencia a la roya del café. Trad. Fernández, C. E. San Salvador, IICA, Zona Norte, 1976. 32 p. (Publicación miscelánea N° 134).
- 13.- SCALI, M. H.; CARVALHO, A. e MONACO, L. C. Resistencia horizontal a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em cultivares de *Coffea*. In: Reuniao Anual da Sociedade Brasileira para o Progreso da Ciencia, 26°, Sao Paulo, Brasil, 1974. Resumos. Sao Paulo, SBPC, 1974, p. 241.
- 14.- VAN DER PLANK, J. E. *Plant diseases: epidemics and control*. New York, Academic Press, 1963. 340 p.
- 15.- VAN DER PLANK, J. E. *Disease resistance in plants*. New York. Academic Press. 1968. 206 p.
- 16.- VAN DER PLANK, J. E. Horizontal resistance: six suggested projects in relation to blast disease of rice. In: Seminar on horizontal resistance to the blast disease of rice, Cali, Colombia, october 8-12, 1971. Proceedings. Cali, Colombia, CIAT, 1971. pp. 21-26.
- 17.- VAN DER PLANK, J. E. *Principles of plant infection*. New York, Academic Press, 1975. 216 p.
- 18.- ZADOKS, J. C. Reflections on disease resistance in annual crops. In: U.S. Dept. Agr. Forest. Serv. *Biology of rust resistance in forest trees*. 1972. pp. 43-63 (Misc. publ. 1221).