

SUPERVIVENCIA RELATIVA DE LAS RAZAS II Y XXII DE *Hemileia vastatrix*

Karen Rodríguez-Medina*; Germán Moreno-Ruiz* *

RESUMEN

RODRÍGUEZ M., K.D.; MORENO R., G. Supervivencia relativa de las razas II y XXII de *Hemileia vastatrix*. Cenicafé 53(3):252-265.2002

Se evaluó en condiciones controladas la capacidad de sobrevivencia de las razas II (v_5) y la raza XXII ($v_5, 6$) de roya *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. existentes en Colombia en un susceptible común, la var. Caturra. En un primer experimento se inocularon por separado y se evaluó su agresividad. En el segundo, se determinó la capacidad de las razas para competir después de ser mezcladas en iguales proporciones. Un tercer experimento confrontó los resultados con la supervivencia relativa bajo condiciones naturales, utilizando inóculo proveniente de muestras de variedad Caturra de tres lotes experimentales. La muestra de roya de cada lote se inoculó en hospedantes diferenciales. Los intervalos de confianza para las características evaluadas indicaron que no existen diferencias estadísticas significativas entre las dos razas cuando se inoculan por separado. Sin embargo, cuando se inocularon en mezcla en la var. Caturra, la raza XXII tendió a disminuir a medida que los ciclos de competencia aumentaron. Además, el espectro de reacción de los diferenciales a la inoculación con las muestras de inóculo tomado bajo condiciones naturales sobre var. Caturra, indicó que las muestras estaban conformadas por más de una raza y que la raza XXII no es la predominante en la población, como tampoco lo son razas muy complejas.

Palabras claves: Café, *Hemileia vastatrix*, razas, supervivencia, selección estabilizante, agresividad.

ABSTRACT

In order to detect the capacity survival differences of races II (v_5) and XXII ($v_5, 6$) of *Hemileia vastatrix* Berk and Br., the latter of greater genotypical complexity, two trials were carried out in a common host plant, Caturra variety, under controlled conditions. In the first experiment, the races were individually inoculated on Caturra coffee plants and their aggressiveness was evaluated. In the second one, their competition capacity was determined inoculating Caturra coffee plants with a urediniospore mixture (1:1) of both races. To compare the results obtained under controlled conditions with the relative survival under natural conditions, samples of urediniospores were collected on Caturra variety planted in three experimental plots. The rust sample of each plot was inoculated on differential hosts. Confidence intervals for the evaluated characteristics showed no statistical differences between the two races. When races were inoculated in mixture on Caturra, race XXII tended to diminish as the competition cycles increased. Reaction of the differential host coffee plants to inoculation with rust isolates collected on Caturra, showed the presence of more than one race and also that race XXII is not the predominant one in the population, and neither the more complex races are.

Keywords: coffee, *Hemileia vastatrix*, races, survival, stabilizing selection, aggressiveness.

* Becaria Colciencias. Estudiante de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.

** Investigador Principal I. Mejoramiento Genético y Biotecnología hasta junio de 2001. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

La roya del cafeto, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk. y Br., es una de las enfermedades más limitativas de la caficultura mundial. Detectada en Colombia en 1983, ha causado considerables pérdidas económicas debido a la defoliación progresiva de los cafetos que afecta su vigor, la productividad y la calidad del grano (5).

H. vastatrix es un hongo relativamente variable del cual hasta 1993 habían sido descritas 39 razas (13). La primera raza de roya identificada en Colombia fue la II (v_5), considerada como la de genotipo más simple y la más difundida en América. En Colombia existen actualmente varias razas de roya que varían genéticamente en complejidad, dentro de las cuales se han identificado las siguientes: II (v_5), XXII ($v_{5,6}$), XVII ($v_{1,2,5}$), XXV ($v_{2,5,6}$) y XXIII ($v_{1,2,4,5}$). La interacción entre las plantas de café y la roya se rige de acuerdo con la hipótesis gen a gen propuesta por Flor (3).

Varios investigadores han discutido sobre la habilidad para competir de las razas simples y complejas de un patógeno, sin que exista consenso al respecto. De acuerdo con la teoría de la Selección Estabilizante de Van der Plank (14), los patotipos más complejos presentarían una capacidad de supervivencia menor, en comparación con los simples, cuando ambos se encuentran bajo condiciones de competencia en un susceptible común de genotipo simple. En otros términos, las razas más adaptadas para sobrevivir serían aquellas que han perdido la expresión únicamente de los genes de avirulencia que les impiden atacar a hospedantes de genotipo simple. La virulencia innecesaria sería seleccionada en contra cuando no se requiere para superar la resistencia. Por otro lado, autores como Nelson (8) y Parlevliet (11) afirman que no hay evidencias definitivas de la existencia de la selección estabilizante, dado que en la naturaleza persisten muchos patógenos con virulencia innecesaria para atacar algunos hospedantes.

El conocimiento de la capacidad relativa de supervivencia de las razas simples y complejas de un patógeno incrementa la posibilidad de controlar enfermedades de las plantas mediante la selección de estrategias de manejo de ciertos genes dentro de los programas de mejoramiento por resistencia a la roya. El objetivo de esta investigación fue determinar si dos de las razas de *H. vastatrix* existentes en Colombia, la raza II (v_5) y la raza XXII ($v_{5,6}$), esta última más compleja en su constitución genotípica y con virulencia a algunos derivados del Híbrido de Timor, se diferencian en su capacidad para sobrevivir en un hospedante susceptible común.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron tres experimentos conducidos en los laboratorios e invernaderos del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, situado en el municipio de Chinchiná, Caldas, a una altitud de 1310m, con temperatura media de 21,6°C y precipitación anual de 2.662mm.

El material vegetal utilizado y algunas de las muestras del inóculo de *H. vastatrix* proceden de la Estación Experimental Naranjal, de Cenicafé, ubicada en el municipio de Chinchiná, Caldas, a una altitud de 1.400m, con temperatura media de 21,7°C y precipitación anual de 2.987mm. Los experimentos realizados y sus resultados se presentan a continuación.

EXPERIMENTO N° 1.

Evaluación de la agresividad de las razas II y XXII inoculadas individualmente sobre la variedad Caturra.

Materiales. Se utilizaron plantas de la variedad Caturra de 4 a 6 meses de edad. Como inóculo de *H. vastatrix* se usaron aislamientos caracterizados como las razas fisiológicas II

(V₅) y XXII (V₅,₆) suministradas por la disciplina de Fitopatología de Cenicafé.

Método. Las razas II y XXII se inocularon mediante la técnica de inoculación por gota descrita por Leguizamón (6), sobre 30 plantas de la variedad Caturra. Cada raza se inoculó sobre hojas opuestas del primer par en una misma planta, con el fin de garantizar condiciones semejantes del hospedante. En cada hoja se depositaron, sobre el envés, 8 gotas de 10mL cada una, de la suspensión de urediniosporas de la raza respectiva.

Las plantas inoculadas se mantuvieron en cámara húmeda (100% humedad relativa) durante 48 horas, en ausencia total de luz y a una temperatura de 22 ± 2°C. Después se llevaron al invernadero donde se colocaron en cubículos de madera independientes cubiertos con lienzo, para evitar su contaminación con inóculo foráneo.

Evaluación. La evolución del proceso de infección se evaluó a partir de 13 días después de la inoculación y hasta 40 - 43 días después. Las evaluaciones se realizaron cada dos días, utilizando la escala de reacciones crecientes de *H. vastatrix* diseñada por Leguizamón (6). Con la información aportada por la escala se calcularon las siguientes variables:

- Grado de infección más frecuente (GI): Valor de la escala que más se repite en cada lectura y para cada raza. En las lecturas en que esta variable era igual para las dos razas se hizo una comparación entre ellas a través de las proporciones de los grados de infección respectivos.

- Período de incubación (PI): Número de días desde la inoculación hasta cuando el 50% de las lesiones aparecen.

- Inicio de la esporulación (IE): Número de días desde la inoculación hasta la aparición de las primeras esporas (Grado 4 de la escala).

- Período de latencia (PL): Número de días desde la inoculación hasta cuando el 50% de las lesiones desarrolladas esporularon.

También se evaluaron el **Área de la lesión (A)** y el **Área de la lesión esporulada (AE)**. Esta última equivale al área de la lesión cubierta por urediniosporas y el **Número de esporas por unidad de área de infección (Q)**.

Análisis estadístico. El experimento se repitió en dos ocasiones (ensayos). Las dos razas se compararon para todas las variables mediante prueba de t al nivel del 5%, en cada uno de los ensayos. Se consideró la planta como unidad experimental, estableciendo un total de 30 repeticiones y la hoja como unidad de observación.

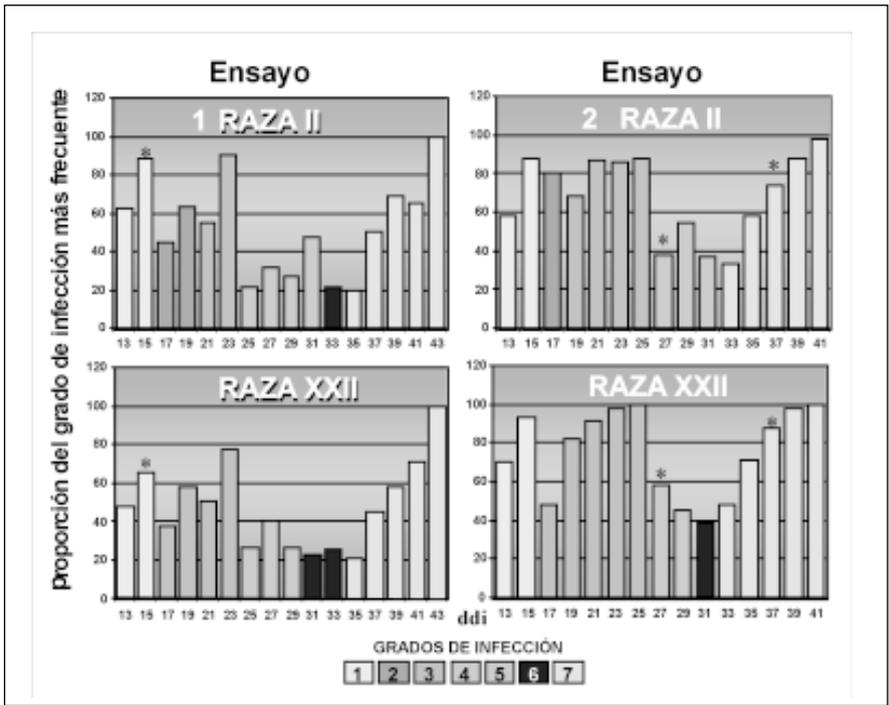
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución del grado de infección más frecuente para las razas II y XXII, en cada lectura y para cada uno de los ensayos se ilustra en la Figura 1. Como se puede observar, en los dos ensayos las razas alcanzaron el grado de infección 7 en la escala de Leguizamón (6), lo cual indica que la esporulación cubrió más del 50% de la superficie de la lesión.

En la mayoría de las lecturas, las razas II y XXII presentaron el mismo grado de infección más frecuente y las proporciones en que éstos se presentaron fueron estadísticamente iguales en la mayoría de los casos. Esto significa que el avance del proceso de infección, medido con la escala de calificación de las lesiones de *H. vastatrix*, fue igual para las dos razas.

Los intervalos de confianza para las variables PI, IE y PL para las dos razas y en los dos ensayos se presentan en la Tabla 1 y los correspondientes a las variables A, AE y Q, para los mismos ensayos, se muestran en la

Figura 1. Distribución de los grados de infección más frecuentes de las razas II y XXII de *H. vastatrix* a través del tiempo, en los ensayos 1 y 2.



ddi = Días después de la inoculación.

***** = Diferencias estadísticas significativas entre razas en la proporción del grado de infección más frecuente.

Tabla 1. Intervalos de confianza de las razas II y XXII al nivel del 5% para el Período de Incubación (PI), Inicio de la Esporulación (IE) y Período de Latencia (PL) en cada uno de los ensayos.

Ensayo	Raza	Variables		
		PI	IE	PL
I	II	14,23±0,46	24,12±0,89	27,91±1,47
	XXII	14,54±0,57	24,76±0,99	28,58±1,37
II	II	14,15±0,57	26,15±0,62	28,17±0,6
	XXII	14,00±0,62	25,69±0,72	27,48±0,64

Tabla 2. Los datos de estas Tablas y la prueba de t establecida, indican que no existen diferencias estadísticas significativas entre las dos razas para ninguna de las características evaluadas.

Los resultados anteriores sugieren que cuando las razas II y XXII se inoculan por separado sobre la variedad Caturra, susceptible a ambas razas, su agresividad es la misma.

En los trabajos en que se ha evaluado la habilidad para sobrevivir de razas de *H. vastatrix*, no se han comparado las razas II y XXII. En algunos estudios la raza II se comparó con otras más complejas obteniendo resultados diferentes a los de esta investigación, en el

sentido que se detectaron diferencias entre razas atribuibles, en un caso, a la complejidad de las razas (4), y en otro, a causas distintas a la complejidad, pero sin proponer posibles explicaciones para estas diferencias (2). En el trabajo de Gil *et al.* (4), los resultados mostraron una relación inversa entre complejidad genotípica y habilidad competitiva, mientras que en el caso de Figueiredo y Vaz de Arruda (2), se realizó una clasificación en razas de alta, media y baja agresividad, no asociada con su complejidad.

Aplicando los supuestos de la relación gen a gen de Flor (3), la raza XXII ($v_5, 6$) habría perdido la expresión de un gen de avirulencia más que la raza II (v_5), el correspondiente al

Tabla 2. Intervalos de confianza de las razas II y XXII al nivel del 5% para el área de la lesión (AL), área de la lesión esporulada (AE) y cantidad de esporas/mm²(Q), en los ensayos I y II.

Ensayo	Días después de la inoculación	Razas	Variables			
			AL	AE	Q	
I	26	II	26,8±4,8	9,2±2,9	129,8±135,2	
		XXII	22,2±9,1	10,0±8,1	199,0±162,7	
	31	II	26,5±9,4	10,5±7,8	387,5±243,9	
		XXII	25,8±4,2	13,8±7,1	303,2±179,7	
	36	II	26,5±5,1	15,8±6	333,5±179,9	
		XXII	22,5±7,5	15,8±7	331,0±201,8	
	41	II	27,7±10,81	19,7±10	646,2±447,2	
		XXII	26,3±8,3	20,8±6,7	601,3±136,5	
	46	II	39,0±88,9	32,5±82,6	1075,5±883,1	
		XXII	42,0±25,4	32,0	1079,0±508,3	
	II	29	II	25,3±4,4	6,9±5,1	377,1±313,9
			XXII	26,3±9,1	8,8±6,8	294,4±46,3
34		II	37,2±16,2	21,9±11,3	877,1±34,2	
		XXII	29,6±12,6	17,3±9,4	878,9±166,2	
39		II	44,1±5,6	27,2±5,8	965,8±124,2	
		XXII	35,8±10,8	21,2±10,2	972,3±90,1	
45		II	51,3±3,9	33,7±5,9	1062,7±53,2	
		XXII	52,8±5,1	38,0±3,3	1072,2±44	

de resistencia S_H6 . De acuerdo con la teoría de la selección estabilizante de Van der Plank (14), las razas más hábiles para sobrevivir son aquellas que poseen el mínimo número de genes de virulencia innecesarios sobre hospedantes de genotipo simple. Esto significa que las razas más aptas para sobrevivir serían aquellas que han perdido la expresión únicamente de los genes de avirulencia que les impiden atacar a hospedantes de genotipo simple. En el caso de las razas II y XXII de *H. vastatrix*, la pérdida de la expresión de un gen más de avirulencia por parte de la XXII, sería innecesaria para establecer una relación compatible sobre la variedad Caturra (S_H5).

Teniendo en cuenta lo sugerido por Van der Plank y los resultados encontrados en esta investigación, se puede pensar que en el caso de las razas II (v_5) y XXII ($v_5, 6$), inoculadas por separado sobre un susceptible común, los principios de la teoría mencionada no parecen cumplirse, en el sentido que no se encontraron diferencias entre las dos razas.

Por otra parte, las únicas diferencias estadísticamente significativas encontradas en este trabajo ocurrieron al considerar el factor "ensayo", para las variables IE, A, AE y Q, como se observa en la Tabla 3. El efecto "ensayo" mide diferencias ocurridas al considerar épocas diferentes. Sin embargo, las diferencias

entre épocas afectaron igualmente a las dos razas, puesto que no se encontró efecto para la interacción raza x ensayo.

EXPERIMENTO 2.

Evaluación de la habilidad para competir de las razas II y XXII cuando se inoculan en mezclas.

Materiales. Se utilizaron plantas de la variedad Caturra de 4 a 6 meses de edad. Además, se seleccionaron hojas jóvenes completamente desarrolladas, desprendidas de plantas adultas de los diferenciales E (Caturra) y R (HDT-1343/269). Como inóculo de *H. vastatrix* se utilizaron las razas fisiológicas II (v_5) y XXII ($v_5, 6$).

Método. La capacidad para competir de las razas II y XXII se midió a partir de su inoculación en mezcla, en iguales proporciones y sobre plantas de variedad Caturra. La mezcla de las razas se mantuvo por dos ciclos de infección sobre estas plantas y muestras del inóculo obtenido en cada ciclo se inocularon sobre hojas desprendidas de los diferenciales E (Caturra) y R (HDT-1343/269) como se ilustra en la Figura 2.

El procedimiento anterior también se realizó con una mezcla de la raza II e inóculo colectado

Tabla 3. Niveles de significancia estadística para evaluar tres fuentes de variación respecto a las variables Período de Incubación (PI), Inicio de la Esporulación (IE), Período de Latencia (PL) Área de la Lesión (AL), Área de la lesión esporulada (AE) y cantidad de esporas/mm² (Q).

Fuentes de variación	Variables Pr					
	PI	IE	PL	AL	AE	Q
Raza	0,78	0,84	0,96	0,20	0,93	0,82
Ensayo	0,26	0,0003**	0,39	0,0001**	0,006**	0,0001**
Raza x Ensayo	0,39	0,16	0,19	0,79	0,59	0,99

** P = 99 %

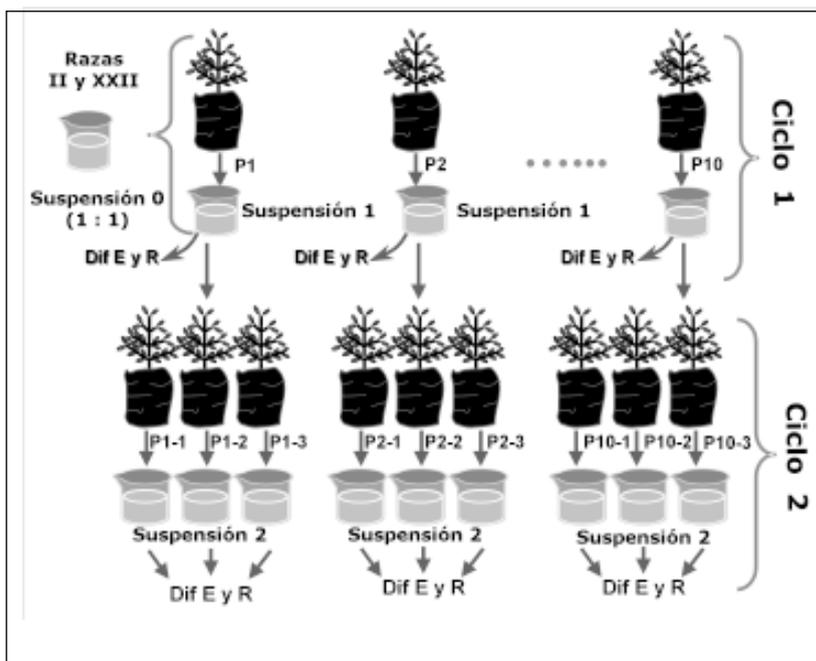


Figura 2. Procedimiento seguido para evaluar la capacidad de las razas II y XXII de *H. vastatrix* para competir en mezclas.

en el campo sobre plantas del diferencial R. Para determinar la complejidad de este inóculo, las urediniosporas colectadas en el campo también se inocularon sobre hojas desprendidas de los diferenciales para los grupos de resistencia R (S_H6), 3 (S_H5 , 6, 9) y 1 (S_H5 , 6, 7, 9).

Evaluación. La capacidad para competir en mezclas se determinó por medio del cambio en la proporción inicial de las razas, de acuerdo con las reacciones de resistencia o susceptibilidad observadas sobre el diferencial R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antes de discutir los resultados de las inoculaciones de este experimento conviene analizar el significado de las lesiones esporuladas y sin esporular obtenidas sobre los diferenciales. Cada gota que se deposita

sobre estos diferenciales representa un evento de inoculación, el cual puede ser exitoso (lesiones esporuladas), o sin éxito (lesiones sin esporular).

Sobre el diferencial E son compatibles las dos razas; por tanto, el porcentaje de gotas esporuladas en este diferencial no puede utilizarse como estimativo de cambios en la proporción de las razas respecto a la mezcla original. Por otra parte, las lesiones sin esporular sobre éste, sólo pueden atribuirse a fallas del procedimiento.

El diferencial R sólo es compatible con la raza XXII y por tanto, las lesiones exitosas y las que no fueron exitosas sobre éste, tienen un significado diferente al atribuido en el caso del diferencial E. En el caso del diferencial R las lesiones esporuladas indican que la raza XXII se encontraba en la gota en una cantidad suficiente para causar infección. Las lesiones sine esporular pueden ser atribuidas a diferen-

tes causas como: a) fallas en el procedimiento; b) ausencia de la raza XXII en la gota o presencia de ésta en una concentración tan baja que le impide causar infección, como consecuencia de la competencia con la raza II; c) efecto detrimental sobre la raza por resistencia incompleta del diferencial.

Como el procedimiento de inoculación fue el mismo para los dos diferenciales, las lesiones sin esporular en el diferencial E, atribuidas a fallas en el procedimiento, pueden emplearse para corregir las correspondientes en el diferencial R. El porcentaje de lesiones sin esporular sobre R, al que ya se le excluyeron las fallas por procedimiento, se le llamó valor corregido.

El porcentaje de lesiones sin esporular restante podría ser atribuido a una baja presencia de la raza XXII o a un efecto detrimental sobre la raza por resistencia incompleta del diferencial.

Para determinar si la eventual resistencia incompleta del diferencial R estaba operando, se inoculó la raza XXII sobre los diferenciales E (Caturra) y R y se evaluaron algunas de sus características epidemiológicas. Los resultados (Tabla 4) indican que en el diferencial R el número de días necesarios para completar las características PI, IE y PL, tienen valores estadísticamente superiores a los correspondientes en el diferencial E. Sin embargo, los

Tabla 4. Características epidemiológicas de la raza XXII cuando es inoculada sobre los diferenciales E y R.

Hospedante	Características epidemiológicas			
	PI	IE	PL	PLE
Diferencial E	13	23	24,33	100
Diferencial R	15	36	41,66	79,7
Probabilidad	0,0001	0,0001	0,0001	0,13

Tabla 5. Gotas no esporuladas sobre los diferenciales E y R después de un ciclo de competencia en mezclas de las razas II y XXII de *H. vastatrix*.

Planta	Diferencial E		Diferencial R		Valor corregido
	Gotas sin esporular	%	Gotas sin esporular	%	
P 1	0	0	7	10,94	10,94
P 2	1	1,56	41	64,06	63,49
P 3	15	23,43	47	73,44	65,31
P 4	0	0	16	33,33	33,33
P 5	0	0	15	23,44	23,44
P 6	1	1,56	16	25	23,81
P 7	13	20,31	28	43,75	29,41
P 8	14	21,88	36	56,25	43,99
P 9	0	0	14	21,88	21,88
P 10	0	0	17	26,56	25,56
Promedio		6,87		37,86	34,12

porcentajes de lesiones esporuladas (PLE) obtenidos sobre los dos diferenciales fueron estadísticamente iguales, lo cual indica que la eventual resistencia incompleta no afectó la proporción de infecciones exitosas obtenidas sobre el diferencial R.

Como el valor corregido de gotas sin esporular sobre R ya excluye el efecto por fallas de procedimiento, la proporción ajustada de gotas sin esporular sobre R debe atribuirse exclusivamente a una baja presencia de la raza XXII en las respectivas gotas.

La cantidad y proporción de gotas sin esporular sobre los diferenciales E y R después de un ciclo de inoculación con una mezcla de las razas II y XXII, se muestran en la Tabla 5.

El porcentaje de gotas sin esporular fue bajo sobre el diferencial E, indicando alta eficiencia en el procedimiento de inoculación. Sólo con el inóculo de las plantas 3, 7 y 8 se presentaron los mayores porcentajes de gotas sin esporular.

La Tabla 5 también contiene la proporción corregida de lesiones sin esporular sobre el diferencial R. El valor corregido, atribuido a una baja presencia de la raza XXII, muestra que en una proporción importante de las gotas la raza XXII no se detecta, llegando en un caso a proporciones del 65 %. Estos resultados sugieren que la permanencia en mezcla de las dos razas, durante un ciclo y sobre un susceptible común, ocasiona que en una fracción de las inoculaciones la raza XXII se presente en proporciones tan bajas que le impiden producir infecciones exitosas.

La información correspondiente a las inoculaciones sobre los diferenciales E y R, después de 2 ciclos de competencia en mezcla de las razas II y XXII sobre Caturra se presenta en la Tabla 6. Esta tabla contiene datos de 22

de las 30 plantas inoculadas. En las ocho restantes, ocurrieron daños que impidieron terminar la evaluación.

De acuerdo con los resultados, el porcentaje de gotas sin esporular sobre el diferencial E fue bajo, indicando que el procedimiento de inoculación en el segundo ciclo también fue eficiente. Sólo en dos casos (plantas P1-1 y P8-1) los porcentajes de gotas sin esporular fueron relativamente altos.

Los valores corregidos del porcentaje de gotas sin esporular sobre el diferencial R atribuidos a una baja presencia de la raza XXII, después de los dos ciclos, se presentan en la Tabla 6.

En la Tabla 7 se presenta una comparación entre los valores corregidos de las proporciones de gotas sin esporular sobre R después de 1 y 2 ciclos de competencia en mezclas de las razas II y XXII sobre Caturra. En siete de los diez casos comparados, las proporciones de gotas con una baja presencia de la raza XXII se incrementaron en el segundo ciclo, en un caso permanecieron iguales y en dos casos decrecieron. Este resultado sugiere que la competencia en mezcla tiene un efecto negativo sobre la raza XXII, que hace que su presencia disminuya en la medida en que el número de ciclos de competencia se incrementa.

No se tienen referencias de otros estudios acerca de la habilidad para competir en mezclas de razas de *H. vastatrix*, aunque sí las hay en otros trabajos, principalmente con royas de cereales. Watson y Singh (15), observaron que al inocular razas de *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* en mezclas sobre un susceptible común, las razas más complejas disminuyeron en la mezcla a lo largo de varios ciclos de inoculación. En un estudio de Prud'Homme y Sackston (12), con razas de *Puccinia helianthi*

Tabla 6. Gotas sin esporular sobre los diferenciales E y R después de dos ciclos de competencia en mezclas de las razas II y XXII de *H. vastatrix*.

Planta	Diferencial E		Diferencial R		Valor corregido
	Gotas no esporuladas	%	Gotas no esporuladas	%	
P1-1	16	25	45	70,31	60,41
P1-2	4	6,25	39	60,93	58,32
P1-3	1	1,56	19	29,69	28,57
P2-1	1	1,56	51	79,69	79,37
P3-1	0	0	23	35,94	35,94
P3-2	0	0	32	50	50
P4-1	0	0	16	25	25
P4-2	0	0	51	79,69	79,69
P5-1	0	0	32	50	50
P6-1	0	0	49	76,56	76,56
P6-2	0	0	40	62,5	62,5
P7-1	0	0	9	14,06	14,06
P7-2	5	7,81	49	76,56	74,57
P8-1	12	18,75	39	60,94	51,93
P8-2	0	0	35	54,69	54,69
P8-3	0	0	6	10,71	10,71
P9-1	0	0	32	50	50
P9-2	0	0	24	37,5	37,5
P9-3	3	4,69	24	37,5	34,42
P10-1	1	1,56	28	43,75	42,86
P10-2	1	1,56	16	25	23,81
P10-3	0	0	11	17,19	17,19
Promedio		3,12		47,65	46,27

Tabla 7. Porcentaje de gotas sin esporular sobre el diferencial R después de uno y dos ciclos de competencia en mezcla de las razas II y XXII.

Planta	% Gotas no esporuladas sobre el diferencial R	
	CICLO 1	CICLO 2 *
1	10,94	49,10
2	63,49	79,37
3	65,31	42,97
4	33,33	52,34
5	23,44	50,00
6	23,81	69,53
7	29,41	44,31
8	43,99	39,11
9	21,88	40,64
10	25,56	27,95
Promedio	34,12	46,27

* Corresponde al promedio del porcentaje de gotas no esporuladas sobre el diferencial R en las plantas del ciclo 2

también se encontró mayor habilidad de las razas simples para sobrevivir en mezclas. Ambos resultados coinciden con los obtenidos en esta investigación. Al contrario, las razas más complejas llegaron a ser predominantes en la mezcla en los trabajos de Brown y Sharp (1), Ogle y Brown (9), Osoro y Green (10).

Los resultados discutidos hasta aquí se refieren a la inoculación con una mezcla de las razas II y XXII. Como se mencionó, la raza II también fue mezclada con una muestra de inóculo recolectada en el campo sobre el diferencial R. Después de cada ciclo de competencia con esta última mezcla se evaluaron los porcentajes de gotas sin esporular sobre el diferencial R (Tabla 8). En ocho de los diez casos comparados, las proporciones de gotas sin esporular se incrementaron en el segundo ciclo; en un caso permanecieron iguales y en otro disminuyeron.

La muestra proveniente del campo estaba compuesta por varias razas, entre ellas algunas muy complejas. Esto se deduce porque al inocular una parte de esta muestra sobre hojas desprendidas de los diferenciales R (S_H6), 3

(S_H5 , 6, 9) y 1 (S_H5 , 6, 7,9) se obtuvieron reacciones de compatibilidad en todos los casos.

Estos resultados indican que las razas complejas contenidas en la muestra recolectada en campo también disminuyen con los ciclos de cultivo, tal como ocurrió con la raza XXII cuando se mezcló con la II.

EXPERIMENTO N° 3.

Conformación de la población de *H. vastatrix* en condiciones naturales.

Materiales. Se seleccionaron hojas jóvenes, completamente desarrolladas, desprendidas de plantas adultas de los diferenciales para los grupos de resistencia E (S_H5), $\alpha(S_H1)$, D (S_H2 , 5), L (S_H1 , 2, 5), C (S_H1 , 5), G (S_H3 , 5), J (S_H4 , 5), R (S_H6), 2 (S_H5 , 8), 3 (S_H5 , 6, 9) y 1 (S_H5 , 6, 7, 9), sembrados en el banco de germoplasma de la Estación Central Naranja.

Método. Se colectaron muestras de inóculo sobre la variedad Caturra sembrada en los lotes experimentales MEG 1.89, MEG 2.41 y MEG 2.42, que además contienen progenies de di-

Tabla 8. Porcentaje de gotas sin esporular sobre el diferencial R después de uno y dos ciclos de competencia en mezcla de la raza II con inóculo colectado sobre el diferencial R bajo condiciones naturales.

PLANTA	% Gotas sin esporular sobre el diferencial R	
	CICLO 1	CICLO 2
P 1	12,50	40,82
P 2	8,06	20,43
P 3	7,81	44,65
P 4	20,31	44,23
P 5	12,70	17,57
P 6	39,68	62,07
P 7	26,23	37,09
P 8	36,06	43,32
P 9	39,06	40,29
P 10	57,81	46,43
Promedio	26,02	39,01

ferentes genotipos del cruce de Caturra x Híbrido de Timor. La muestra recolectada en cada lote fue inoculada sobre los diferenciales mencionados mediante la técnica de inoculación por gota (6).

Evaluación. En cada planta hospedante se registró la reacción de resistencia o de susceptibilidad, con el fin de identificar la virulencia de los aislamientos. Se calificó como reacción de susceptibilidad aquella en la cual las lesiones esporularon.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El espectro de reacción y los porcentajes de gotas esporuladas sobre los diferenciales inoculados con las muestras de roya tomadas sobre Caturra en los tres lotes mencionados, se presentan en la Tabla 9. Las reacciones al inóculo proveniente de los lotes MEG 1.89 y MEG 2.42 indican que en esas muestras se encuentran genotipos compatibles con los diferenciales portadores de los genes de resistencia S_H1 , S_H5 y S_H6 solos o combinados. Este resultado supone la presencia de las razas II

(v_5), III ($v_{1,5}$), XXII ($v_{5,6}$) y/o de una raza compleja de genotipo $v_{1,5,6}$, hasta ahora no identificada en la colección de *H. vastatrix*. Las reacciones al inóculo proveniente del experimento MEG 2.41 sugieren que en éste estaban presentes genotipos compatibles con los diferenciales portadores de los genes de resistencia S_H4 , S_H5 y S_H6 solos o combinados. Podría sugerirse la presencia de las razas II (v_5), XV ($v_{4,5}$), XXII ($v_{5,6}$) y/o XXVI ($v_{4,5,6}$).

Si las muestras hubieran estado conformadas por una sola raza compleja, capaz de infectar simultáneamente los hospedantes que resultaron susceptibles, el porcentaje de infecciones exitosas sobre cada uno sería muy alto, cercano al 100%. Sin embargo, sobre algunos hospedantes, los porcentajes de infecciones exitosas fueron bajos lo cual sugiere que las muestras estaban compuestas por más de una raza con uno, dos o tres genes de virulencia y que las razas más complejas no son las predominantes, ni han desplazado a razas más simples.

Los diferenciales para los grupos de resistencia 2 ($S_H5, 8$), 3 ($S_H5, 6, 9$) y 1 ($S_H5, 6, 7$,

Tabla 9. Espectro de reacción de plantas diferenciales a la inoculación con muestras de *H. vastatrix* Berk. y Br. colectadas sobre variedad Caturra en los lotes experimentales MEG 1.89. MEG 2.42 y MEG 2.41.

Diferencial	Exp. MEG 1.89		Exp. MEG 2.42		Exp. MEG 2.41	
	Reacción	% gotas esp.	Reacción	% gotas esp.	Reacción	% gotas esp.
E (S_H5)	S	100	S	100	S	94
α (S_H1)	S	91	S	100	R	0
R (S_H6)	S	50	S	30	S	3
C ($S_H1, 5$)	S	48	S	75	R	0
D ($S_H2, 5$)	R	0	R	0	R	0
G ($S_H3, 5$)	R	0	R	0	R	0
J ($S_H4, 5$)	R	0	R	0	S	3
L ($S_H1, 2, 5$)	R	0	R	0	R	0
2 ($S_H5, 8$)	R	0	R	0	R	0
3 ($S_H5, 6, 9$)	R	0	R	0	R	0
1 ($S_H5, 6, 7, 9$)	R	0	R	0	R	0

9), usados para identificar las razas afines a los materiales derivados del Híbrido de Timor, fueron resistentes cuando se inocularon con cada una de las muestras de roya. Este resultado, junto con la susceptibilidad del diferencial R, confirma la presencia de la raza XXII, aunque el bajo porcentaje de infecciones exitosas sobre este diferencial indicaría que su presencia en las muestras es relativamente baja.

Es posible que las muestras estén conformadas por otras razas además de las sugeridas. Sin embargo, la carencia de los diferenciales apropiados impediría su identificación. No obstante, puede inferirse la presencia de algunas razas, como la II, de amplia difusión en las zonas cultivadoras de café en América; y la raza III con un alto porcentaje de infecciones exitosas sobre el diferencial ∞ .

De acuerdo con los resultados, puede proponerse que las dos razas incluidas en este estudio están presentes en el campo. La raza II no ha sido desplazada por otras más virulentas, mientras que la virulencia innecesaria de la raza XXII para establecer una relación compatible con un hospedante de genotipo simple, como la variedad Caturra, no le ha significado su desplazamiento de la población.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN EN GENERAL

El objetivo de este trabajo fue investigar la habilidad de las razas II y XXII de *H. vastatrix* para competir. En términos de comparación, se considera que la diferencia entre las razas II y XXII consiste en que esta última ha perdido la expresión de un gen mas de avirulencia.

Los resultados indican que cuando las dos razas se inoculan por separado no se observan diferencias en su agresividad. De acuerdo con esto, la pérdida de la expresión de un gen mas

de avirulencia sufrida por la raza XXII no produce efectos sobre la habilidad para sobrevivir, o si los hay, no son detectables con la metodología utilizada. Sin embargo, cuando las dos razas compiten en mezclas los resultados son diferentes, en el sentido que la raza XXII tiende a disminuir a medida que los ciclos de competencia aumentan, afectándose negativamente la raza más compleja. Este resultado fue confirmado al mezclar la raza II con una muestra de inóculo colectada en el campo, más compleja genotípicamente que la raza XXII, y que también disminuyó al incrementar los ciclos de competencia con la raza II.

También se puede pensar que las diferencias en la habilidad competitiva de las razas de un patógeno no se deban exclusivamente a su complejidad como sugiere Van der Plank (14) en su teoría de la Selección Estabilizante, sino a la clase del gen de avirulencia perdido por la raza, en la medida en que el producto de ese gen sea o no importante para su supervivencia. Este aspecto valdría la pena dilucidarlo en el futuro. Mes *et al.* (7), al inducir por mutación la pérdida de la expresión de un gen de avirulencia en la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, observaron que esta pérdida de avirulencia conllevó a una disminución en la patogenicidad del hongo.

Para el mejoramiento genético los resultados son de interés especialmente si el efecto de detrimento observado en la raza XXII ocurre con otras razas más complejas. Si esto ocurre, podría pensarse que la selección de diferentes genotipos de resistencia válidos contra razas relativamente simples, haría innecesaria la piramidización de numerosos genes de resistencia en una misma planta, ya que las razas muy complejas no predominarían en la población del patógeno con la primer estrategia mencionada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología COLCIENCIAS, por su respaldo económico y al Centro Nacional de Investigaciones en Café, CENICAFÉ, en especial a las siguientes personas vinculadas a las Disciplinas de Mejoramiento Genético y Biotecnología, Fitopatología y Biometría: Hernando Cortina, Fernando Gil y Esther C. Montoya, y a los auxiliares Luis Gonzaga Henao, Enrique Chanchí, Jairo Jaramillo y Jorge Dickson Ocampo.

LITERATURA CITADA

1. BROWN, J.F.; SHARP, E.L. The relative survival ability of pathogenic types of *Puccinia striiformis* in mixtures. *Phytopathology* 60: 529 – 533. 1970.
2. FIGUEIREDO, P.; ARRUDA, H.V. DE Estudo da biologia de algumas raças de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. Arquivos do Instituto Biológico 41 (1): 47 – 51. 1974.
3. FLOR, H.H. Host - parasite interaction in flax rust, its genetics and other implications. *Phytopathology* 45: 680 - 685. 1955.
4. GIL F., S. L.; BERRY, D.; BIEYSSE, D.; MULLER, R.A. Etude comparee de l'agressivite de races physiologiques d'*Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Possedant diverses charges en genes de virulence. *In: Colloque Scientifique International sur le Café*, 12. Montreux, Juin 29 – Juillet 3, 1987. Paris, ASIC, 1988. p. 614 – 628.
5. KUSHALAPPA, A.C. Biology and epidemiology. *In: Coffee rust: Epidemiology, resistance and management*. Boca Ratón, CRC Press, 1989. p. 1 - 80.
6. LEGUIZAMÓN C., J. E. Contribution a la connaissance de la resistance incomplete du cafeier arabica (*Coffea arabica*) a la rouille orange (*Hemileia vastatrix* Berk et Br). Montpellier, Ecole Nationale Superieure Agronomique, 1983. 183 p. (These: Docteur-Ingenieur).
7. MES, J.J.; WIT, R.; TESTERINK, C.S.; GROOT, F. DE; HARING, M.A.; CORNELISSEN, B.J.C. Loss of A virulence and reduced pathogenicity of a gamma-irradiated mutant of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Phytopathology* 89 (12): 1131 – 1137. 1999.
8. NELSON, R. R. Stabilizing racial populations of plant pathogens by use of resistance genes. *Journal of Environmental Quality* 1 (3): 220 – 227. 1972.
9. OGLE, H.J.; BROWN, J.F. Relative ability of two strains of *Puccinia graminis tritici* to survive when mixed. *Annals of Applied Biology* 66: 273 – 279. 1970.
10. OSORO, M.; GREEN, G.J. Stabilizing selection in *Puccinia graminis tritici* in Canada. *Canadian Journal of Botany* 54: 2204 – 2214. 1976.
11. PARLEVLIT, J.E. Stabilizing selection in crop pathosystems: an empty concept or a reality. *Euphytica* 30: 259 - 269. 1981.
12. PRUD'HOMME, A. M.; SACKSTON, W. E. Relative fitness of races 1 (0) and 3 (0, 1) of rust (*Puccinia helianthi*) in mixtures on susceptible sunflower (*Helianthus annuus*). *Canadian Journal of Botany* 68 (5): 1602 – 1607. 1990.
13. RODRIGUES Junior, C.J.; VARZEA, V.M.P.; GODINHO, I.L.; PALMA, S.; RATO, R.C. New physiologic races of *Hemileia vastatrix*. *In: Colloque Scientifique International Sur le Café*, 15. Montpellier, Juin 6 – 11, 1993. Paris, ASIC, 1993. p. 318 – 321.
14. VAN DER PLANK, J.E. Disease resistance in plants. New York, Academic Press, 1968. 206 p.
15. WATSON, I.A.; SINGH, D. The future for rust resistance wheat in Australia. *Journal of Australian Institute of Agriculture Science* 18: 190 – 197. 1952.