

387  
INFLUENCIA DE ALGUNOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL AGENTE CAUSAL  
DE LA MUERTE DESCENDENTE DEL CAFETO Y SOBRE LA INTERACCION PATOGENO:  
SUSCEPTIVO

T E S I S

Presentada al Programa de Estudios para Graduados en Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional - Instituto Colombiano Agropecuario

P o r

RAMIRO GOMEZ QUIROGA

Como requisito parcial para optar al título de

MAGISTER SCIENTIAE

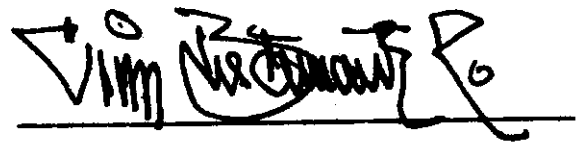
Bogotá, Colombia

1976

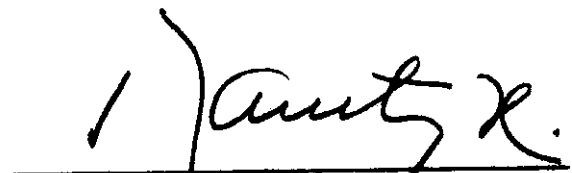
TESIS APROBADA POR

COMITE CONSEJERO

ELKIN BUSTAMANTE R. Ph.D.

Handwritten signature of Elkin Bustamante R. in black ink, written over a horizontal line.

RAMON MONTOYA H. M.S.

Handwritten signature of Ramon Montoya H. in black ink, written over a horizontal line.

DARIO CORREDOR P. M.S.

Handwritten signature of Dario Corredor P. in black ink, written over a horizontal line.

"El Presidente de Tesis, El Comité de Tesis y el Consejo Examinador de Grado,  
no serán responsables de las ideas emitidas por el autor"

(Artículo 217 de los Estatutos de la Universidad Nacional)

**D E D I C O**

**A la memoria de mis padres**

**A mi esposa**

**A mis hijos**

**A mis hermanos**

## AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia por la oportunidad brindada para realizar los estudios de posgrado.

Al Comité de Cafeteros de Cundinamarca por las facilidades prestadas en el conocimiento de la zona cafetera y en la colección del material.

A la Facultad de Agronomía de Bogotá por su colaboración en los trabajos de laboratorio.

A la División de Estadística del Instituto Colombiano Agropecuario por los análisis estadísticos.

Al doctor Elkín Bustamante R. por su valiosa orientación en el desarrollo de esta tesis y a los doctores Ramón Montoya H. y Darío Corredor P. por sus sugerencias en la revisión del manuscrito.

Al doctor Pablo Buriticá C. y a la colega Gloria Vidal C. por su colaboración en la ejecución de este trabajo.

A Bertha C. de Gutiérrez directora del laboratorio del Programa para Graduados, por su desinteresada ayuda.

A mi esposa Olga y a mis hijos Martha Viviana y Carlos Andrés por su permanente ayuda y constante estímulo.

Al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), a mis compañeros de posgrado, y en general a todas aquellas personas que en una u otra forma contribuyeron a la realización de este estudio.

# CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Sintomatología y agente causal	3
2.2. Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.	7
3. MATERIALES Y METODOS	9
3.1. Recolección del material	9
3.2. Aislamientos y pruebas de patogenicidad.	9
3.3. Caracterización del patógeno.	11
3.4. Efecto de la temperatura sobre el patógeno.	11
3.4.1. Germinación de conidias.	11
3.4.2. Crecimiento micelial.	12
3.4.3. Producción de picnidios.	12
3.5. Efecto de la luz, la temperatura y la humedad en la interacción patógeno:susceptivo.	14

	Página
3.5.1. Efecto de la luz .	14
3.5.2. Efecto de la temperatura.	15
3.5.3. Efecto de la humedad.	16
4. RESULTADOS	18
4.1. Aislamientos y patogenicidad.	18
4.2. Características de la enfermedad.	18
4.2.1. Síntomas.	18
4.2.2. Signos.	20
4.3. Características del patógeno.	20
4.3.1. Crecimiento micelial.	20
4.3.2. Producción de picnidios.	21
4.4. Efecto de la temperatura sobre el patógeno.	21
4.4.1. Germinación.	21
4.4.2. Crecimiento micelial.	25
4.4.3. Producción de picnidios.	28
4.4.4. Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios.	31
4.5. Efecto de la luz, la temperatura y la humedad sobre la interacción Patógeno:susceptivo.	

	Página
4.5.1. Efecto de la luz.	31
4.5.2. Efecto de la temperatura.	36
4.5.3. Efecto de la humedad.	40
5. DISCUSION	41
6. CONCLUSIONES	47
7. RECOMENDACIONES	49
8. RESUMEN	50
9. SUMMARY	53
BIBLIOGRAFIA	55
APENDICE	59

## LISTA DE TABLAS

TABLA No.		Página
1	Algunas de los aislamientos de <u>Phoma</u> sp. causantes de muerte descendente del cafeto, codificados de acuerdo a la altitud del lugar de procedencia.	13
V 2	Hongos aislados de las distintas muestras de cafeto con síntomas de muerte descendente.	19
3	Características de aislamiento de <u>Phoma</u> sp. en medio de cultivo V-8 incubados en oscuridad a 19C durante 10 días.	22
4	Efecto de la temperatura sobre la germinación de conidias del aislamiento 300 de <u>Phoma</u> sp. en presencia de agua libre, de acuerdo al promedio de 80 lecturas.	23
5	Diámetro de aislamientos de <u>Phoma</u> sp. incubados en oscuridad durante 10 días y correspondientes al promedio de cuatro replicaciones.	26

6	Número de picnidios de <u>Phoma</u> sp. por milímetros cuadrados correspondiente al promedio de 80 lecturas.	29
7	Porcentaje de área foliar necrosada de plantas de café Var. Caturra, inoculadas con aislamientos de <u>Phoma</u> sp., provenientes de 3 alturas, sometidas a períodos diarios de 3, 6 y 9 horas de luz y correspondiente al promedio de cuatro replicaciones.	35
8	Porcentaje de área foliar necrosada de plantas de café Var. Caturra, inoculadas con aislamientos de <u>Phoma</u> sp. provenientes de 3 alturas, sometidas a temperaturas de 18, 22 y 26°C y correspondiente al promedio de cuatro replicaciones.	38

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA No.		Página
✓ 1	Síntomas característicos de la muerte descendente del cafeto observados en la zona cafetera colombiana.	10
2	Efecto de la temperatura sobre la germinación de conidias de <u>Phoma</u> sp. del aislamiento 300, en presencia de agua libre.	24
✓ 3	Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de aislamientos de <u>Phoma</u> sp., en medio de cultivo V-8.	27
4	Efecto de la temperatura en la capacidad de producción de picnidios de aislamientos de <u>Phoma</u> sp., provenientes de tres altitudes, en medio de cultivo V-8.	30
✓ 5	Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamiento de <u>Phoma</u> sp. de la serie 100.	32
6	Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 200.	33

- |   |   |    |
|---|---|----|
| 7 | Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamiento de <u>Phoma</u> sp. de la serie 300.   | 34 |
| 8 | Influencia de períodos de luz en el desarrollo de la muerte descendente en cafetos de la variedad Caturra, cuando se inocularon con aislamientos de <u>Phoma</u> sp., provenientes de tres altitudes. | 37 |
| 9 | Influencia de la temperatura en el desarrollo de la muerte descendente en cafetos de la variedad Caturra, cuando se inocularon con aislamientos de <u>Phoma</u> sp., provenientes de tres altitudes.  | 39 |

## LISTA DE APENDICES

APENDICE No.		Página
1	Análisis de varianza para el diámetro de doce aislamientos de <u>Phoma</u> sp. sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C, en ausencia de luz y durante 10 días.	60
2	Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 100, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C, en ausencia de luz y durante 10 días.	61
3	Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 200, sometidos a temperaturas de 18, 19, 22 y 25C, en ausencia de luz y durante 10 días.	62
4	Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 300, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.	63
5	Análisis de varianza para la producción de picnidios de doce aislamientos de <u>Phoma</u> sp. sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.	64

- |    |  |    |
|----|--|----|
| 6  | Análisis de varianza para la producción de picnidio de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp., de la serie 100 sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días  | 65 |
| 7  | Análisis de varianza para la producción de picnidio de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 200, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días. | 66 |
| 8  | Análisis de varianza para la producción de picnidio de cuatro aislamientos de <u>Phoma</u> sp. de la serie 300, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días. | 67 |
| 9  | Análisis de varianza de datos transformados de área foliar necrosada para medir el efecto de períodos de luz diaria de 3, 6 y 9 horas en el desarrollo de la muerte descendente del cafeto.        | 68 |
| 10 | Análisis de varianza de datos transformados de área foliar necrosada para medir la influencia de la temperatura (18,22 y 26C) en el desarrollo de la muerte descendente del cafeto.                | 69 |

## 1. INTRODUCCION

El café es el pilar de la economía colombiana y su producción ha aumentado en los últimos años, sin embargo la presencia de plagas y enfermedades hace difícil conocer el verdadero potencial de su producción. Una de estas enfermedades es la conocida como muerte descendente, enfermedad que se presenta en las diferentes zonas cafeteras del país y especialmente en aquellas ubicadas sobre los 1600 m.s.n.m. en donde toma características endémicas.

La muerte descendente se caracteriza por la presencia inicial de manchas pequeñas de color negro opaco en el ápice de las hojas recién formadas. Si las condiciones son favorables la lesión cubre todo el área foliar; cuando no lo son, las lesiones toman forma circular o semicircular y en este caso, los tejidos por el mayor crecimiento de la hoja, se arrugan alrededor de la lesión. Los brotes nuevos cuando son atacados se necrosan y la planta emite ramificaciones laterales que van a deformarla luego. El avance de la enfermedad disminuye con el envejecimiento de los tejidos.

El agente causal de esta enfermedad y los factores que la favorecen no han sido claramente establecidos; por esta razón, los objetivos de este trabajo fueron:

- a. Caracterizar los diferentes patógenos, así como los síntomas y signos de cada una de las enfermedades en el conocido complejo "muerte descendente" del ca-

feto .

- b. Medir el efecto de la temperatura sobre el crecimiento del patógeno en medios artificiales, y
- c. Evaluar la influencia de la luz, la temperatura y la humedad sobre la interacción patógeno:susceptivo.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Sintomatología y agente causal.

La sintomatología de la muerte descendente del cafeto ha sido atribuída a diferentes agentes causales.

Castaño en 1953 registró una enfermedad en cafetos de la especie libérica, caracterizada por la presencia de manchas irregulares pardo claras al principio y luego oscuras, localizadas cerca a los nudos y abarcando parte del pedúnculo foliar. A medida que avanzaban las lesiones sobrevenía una marchitez y muerte posterior del tejido. Este autor aisló de las partes enfermas un hongo del género Phomopsis. En Costa Rica Hastings (1954) realizó un estudio en plantas de café en almácigo con infecciones foliares y muerte descendente ("die-back") de ramas terminales y laterales. Hizo aislamientos de hojas, flores, frutos, ramas, tallos y raíces encontrando siempre asociación entre la enfermedad y Colletotrichum coffeanum Noack.

En plantas de café del Valle del Cauca (Colombia), Castaño en 1954 observó un amarillamiento de las hojas tiernas, con defoliación paulatina y secamiento descendente de los tallos más tiernos que cesa cuando el tejido se lignifica. El organismo causal de esta afección según este autor es Colletotrichum coffeanum Noak.

Una enfermedad similar a la muerte descendente del cafeto ( die-back ) se conoce en Costa Rica como Quema o derrite y sus síntomas fueron descritos por Echandi (1957) como manchas necróticas de tamaño variable, de color café oscuro casi negro, con numerosos picnidios en el haz y en el envés, dependiendo de la edad de las hojas. Con el progreso de la enfermedad las hojas afectadas se marchitan y caen. Este autor atribuyó el disturbio a Phoma costarricensis.

Posteriormente Bianchini (1959), también en Costa Rica, describió esta enfermedad e indicó como agente causal de la misma a Phyllosticta coffeicola Speg. (= Phoma costarricensis Ech.).

En Colombia, Fernández (1961) asoció síntomas similares a los descritos por Echandi y Bianchini con la presencia en las lesiones de hongos de los géneros Phoma y Colletotrichum.

Montoya y Umaña (1961) en Costa Rica relacionaron una necrosis progresiva de las yemas terminales de plantas de cafeto con la posible acción de hongos, textura del suelo, sequía, defectos de sombrío y factores genéticos.

En Tanganica, Burdekin (1962) describió una muerte descendente (die-back) en cafetos, tipificada por necrosis de las estípulas y amarillamiento de las nuevas hojas de la planta. Este autor aisló varios hongos de gránulos de goma presentes en los haces vasculares del sistema radical de plantas atacadas por esta enfermedad.

En plantaciones de café en Tanganica se atribuyó la presencia de una muerte descendente a un desarrollo radical pobre como consecuencia de una inadecuada preparación del suelo (Frankel, 1963).

En Kenya, una decoloración de las hojas jóvenes del cafeto, con posterior necrosis y sin defoliación se relacionó con: a) desórdenes fisiológicos y b) Colletotrichum coffeanum Noack, agente causal del "Coffee berry disease" CBD. (Firman, 1963).

Ramaiah y Chockanna (1964) concluyeron que una muerte descendente (Die-back) de cafetos de la India se debía a desórdenes fisiológicos asociados con poca fertilidad del suelo.

Firman (1965), registró en Kenya una enfermedad en cafetos, similar a la descrita por Echandi en Costa Rica, pero atribuyó la sintomatología al hongo Ascochyta tarda.

En Malavi, Siddiqi y Corbatt (1965) atribuyeron a Fusarium stilboides la muerte descendente de chupones de cafeto.

En Guatemala, la presencia en plantas de café de: a) manchas color negro mate con apariencia de papel quemado en la punta de las hojas tiernas y b) manchas semicirculares del mismo color y arrugamiento de la lámina foliar en hojas

jóvenes está asociada con Phoma sp. En este país esta enfermedad se le conoce como Foma. (Hernández-Paz, 1967, 1975).

Gopal y Ramaiah (1968) en la India, indicaron que la presencia de hojas jóvenes arrugadas con clorosis intervenal y posterior necrosis en árboles de café son causados por exposiciones alternas a sequía y humedad. El disturbio solo se observa a través de la estación lluviosa.

Para Fernández (1968) en Costa Rica el derrite de las hojas nuevas y tallos tiernos del cafeto es debido a Phoma costarricensis Ech., tal como fue descrito por Echandi y Bianchini.

En la India, D'Souza (1971) investigó el papel de insectos y microparásitos en la muerte descendente (die-back) del café, no encontrando asociación entre microorganismos y enfermedad.

En Cuba, se registró como agente causal de la muerte descendente del cafeto a una raza de Colletotrichum coffeanum Noack (Mitov, 1971).

Investigaciones realizadas por el Instituto Brasileiro del Café (IBC) señalaron que microorganismos como Pseudomonas garceae, Colletotrichum coffeanum, Ascochyta coffea, Rhizotocnia sp., pueden causar muerte descendente en el cafeto. Deficiencias fisiológicas pueden producir efectos similares (IBC, 1972).

En Rodesia, la muerte descendente del cafeto según Clowen (1973) es el resultado de interacciones entre clima y manejo del cultivo.

## 2.2. Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

Los elementos del ambiente que favorecen o limitan una enfermedad, incluyen luz, temperatura, humedad en varias formas (precipitación, humedad ambiental, niebla, y rocío), movimiento del aire, evaporación, radiación y presión atmosférica (National Research Council, 1968).

En Colombia, la muerte descendente (Foma, derrite, die-back) se presenta en todas las variedades de cafeto sembrados en diferentes altitudes, en distintos tipos de suelo, con algún tipo de sombrío y sin él. La incidencia e intensidad de la enfermedad es mayor durante la época lluviosa (observaciones del autor), época que coincide con días de períodos cortos de brillo solar (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 1974).

Hay diversidad de opiniones y criterios al respecto. Algunos investigadores (Fernández, 1961, Firman, 1963, Hernández-Paz, 1975) limitan la presencia de esta enfermedad (die-back) a zonas altas. Otros indican que temperaturas bajas, alta humedad, y poca luminosidad la favorecen (Burdekin, 1962, Siddiqi y Corbett, 1965, Clowes, 1973, Hernández-Paz, 1967-1975),.

Por su parte Gopal y Ramaiah (1968) consideran que períodos alternos de lluvia y sequía son condiciones ideales para que se desarrolle la enfermedad.

D'Souza (1971) opina que la falta de sombra acelera el avance de la enfermedad.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Recolección del material.

Las plantas de cafeto seleccionadas para la recolección fueron aquellas que presentaron necrosis de las yemas terminales o presencia de manchas circulares de color negro y arrugamiento del área foliar alrededor de éstas (Figura 1).

Las muestras se colectaron en distintas regiones de la zona cafetera de Cundinamarca y para realizar esta en forma sistemática, se zonificó de acuerdo a tres altitudes : a) menores de 1500 m.s.n.m.; b) entre 1500 y 1700 m.s.n.m. y C) mayores de 1700 m.s.n.m. Las altitudes de los sitios de recolección se determinaron mediante un planímetro.

#### 3.2. Aislamientos y pruebas de patogenicidad.

Los aislamientos se obtuvieron de hojas y tallos de cafeto atacados de muerte descendente, luego de esterilizar las superficies con una solución de hipoclorito de sodio al cinco por ciento. Con estas muestras se hicieron siembras en Agar-Agua, en PDA (papa-dextrosa-agar) y en un medio a base de legumbres (V-8), debidamente acidulados.

Cuatro días después de incubados a 19C se seleccionaron los aislamientos más importantes para obtener cultivos puros, con los que se hicieron pruebas de pa-

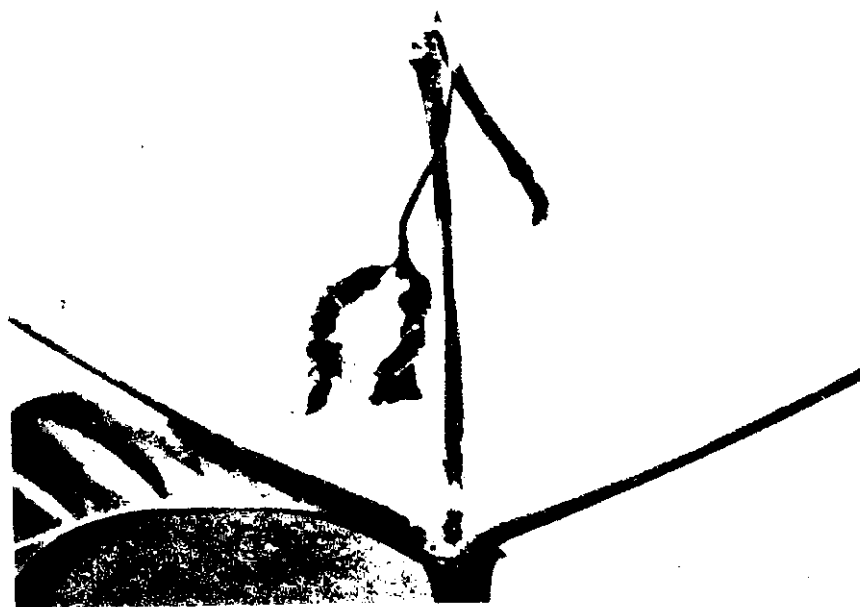


FIGURA 1. Síntomas característicos de la muerte descendente del cafeto, observados en la zona cafetera colombiana.

togenicidad sobre plántulas de cafeto de la variedad Caturra. Se descartaron los aislamientos que no produjeron síntomas de muerte descendente.

### 3.3. Caracterización del patógeno.

Cultivos puros de Phoma sp., producidos a partir de un picnidio e incubados a 19C en ausencia de luz se caracterizaron en base a: a) forma, color y apariencia de la colonia, b) tamaño y forma de picnidios y conidias, c) rata de crecimiento micelial y d) tiempo en que empezaron a fructificar. La composición del medio de cultivo empleado por litro fue: Jugo de legumbres V-8,200 ml; Agar, 13 gr; Carbonato de calcio, 3 grs; agua, 800 ml. (Tuite, 1969).

Para todos los aislamientos de Phoma sp., se emplearon 20 milímetros del medio de cultivo por caja de Petri, usándose cuatro replicaciones por aislamiento.

### 3.4. Efecto de la temperatura sobre el patógeno.

#### 3.4.1. Germinación de conidias.

Para medir el efecto de distintas temperaturas (10, 15, 20, 25 y 30C) sobre la germinación de Phoma sp., se colocaron cuatro gotas de una suspensión de conidias del aislamiento 300 por lámina porta-objeto. En cada tratamiento se emplearon cuatro replicaciones. Las láminas se colocaron dentro de cámaras de rocío, para mantener el agua libre, y se incubaron a las temperaturas indicadas. Después

de 20 horas, se hicieron lecturas al microscopio para evaluar el total de conidias germinadas. En cada gota de suspensión de conidias se promediaron las lecturas de cinco campos.

#### 3.4.2. Crecimiento micelial.

Para medir el efecto de diferentes temperaturas (16, 19, 22 y 25C) sobre el crecimiento micelial de Phoma sp. se seleccionaron doce aislamientos, cuatro por piso térmico considerado (Tabla 1).

Del material seleccionado se sembró un picnidio por caja de Petri de 90 milímetros de diámetro y que contenía 20 mililitros del medio empleado en la caracterización del patógeno. Después de 24 horas y durante 10 días se midió el diámetro de la colonia.

En este ensayo se empleó un diseño completamente al azar en arreglo factorial de 3 x 4 x 4 (tres alturas, cuatro aislamientos por altura, cuatro temperaturas) con cuatro replicaciones.

#### 3.4.3. Producción de picnidios.

La influencia de distintas temperaturas (16, 19, 22 y 25C) en la producción de picnidios se evaluó en los 12 aislamientos empleados para el ensayo de tempe -

TABLA 1. Algunos de los aislamientos de Phoma sp. causantes de muerte descendente del cafeto, codificados de acuerdo a la altitud del lugar de procedencia.

Serie	Código	Altitud (m.s.n.m.)
100	100	Menos de 1500
	101	
	102	
	103	
200	204	1500 - 1700
	205	
	206	
	207	
300	300	Más de 1700
	301	
	302	
	306	

raturas, utilizando su mismo diseño experimental.

Quince días después de la siembra, de cada replicación se sacaron cinco secciones circulares de 8,55 milímetros cuadrados de las regiones donde era más uniforme la fructificación. Las secciones circulares se colocaron en placas porta-objeto en número de cinco; luego se efectuaron lecturas al microscopio sobre el área total de cada una de las secciones y se obtuvo el promedio de fructificación por aislamiento y por temperatura.

### 3.5. Efecto de la luz, la temperatura y la humedad en la interacción patógeno: susceptible.

Para estos experimentos se emplearon plantas de cafeto var. Caturra, cultivadas en Tibacuy en la Granja del Comité de Cafeteros de Cundinamarca, donde no hay presencia de muerte descendente.

#### 3.5.1. Efecto de la luz.

La influencia de períodos diarios de luz (3, 6 y 9 horas) en el desarrollo de la enfermedad se estudió en tres cámaras de crecimiento de la Sherer Cillett Company Modelo CEL-34-7, calibradas a 22C, donde se instalaron dos cámaras húmedas y en éstas se colocaron 16 plantas de café de la variedad caturra de seis meses de edad. Como inóculo se usaron los aislamientos 100, 206 y 301, prove

nientes de las alturas descritas en la Tabla 1. Para la inoculación se empleó en cada caso el contenido de micelio y picnidias de una caja de Petri y se usó el método de aspersión. Dentro de cada cámara de crecimiento, además de las 16 plantas (cuatro inoculadas por piso térmico y cuatro testigos) se colocaron un higrotermógrafo y un termómetro de máxima y mínima para registrar las variaciones de temperatura y humedad. En todos los casos se tuvo humedad relativa de ciento por ciento, presencia de agua libre sobre las hojas y una intensidad lumínica sobre éstas de 850 bujías-pie.

Al cabo de 10 días se hizo una evaluación del área foliar necrosada. Para esto, se tomaron fotografías de cada hoja afectada y luego mediante un planímetro se determinó el porcentaje de área foliar enferma.

En este experimento se empleó un diseño completamente al azar en arreglo factorial de  $3 \times 3$  (tres aislamientos y tres períodos diarios de luz) con cuatro repeticiones.

### 3.5.2. Efecto de la temperatura.

Para determinar el efecto de la temperatura en el desarrollo de la interacción patógeno:susceptivo, plantas de cafeto de la variedad Caturra de seis meses de edad se inocularon con los mismos aislamientos empleados para el ensayo de luz. El método de inoculación usado fue el mismo. Las plantas inoculadas se colocaron

en cámaras húmedas dentro de las cámaras de crecimiento usadas y calibradas a temperaturas de 18, 22 y 26C. Para cada tratamiento se tuvieron períodos diarios de luz de tres horas con una intensidad lumínica de 850 bujías-pie, ciento por ciento de humedad relativa y presencia de agua libre sobre las hojas.

Después de 10 días, se hizo una evaluación del área foliar afectada de acuerdo con la metodología usada en el ensayo de luz.

En este ensayo, se empleó un diseño completamente al azar en arreglo factorial de 3 x 3 (tres aislamientos y tres temperaturas) con cuatro replicaciones.

Para los ensayos de luz y de temperatura, la luz se suministró mediante tubos fluorescentes marca Sylvania de referencia F 48T 112 XW/VHO. La intensidad lumínica a nivel de las hojas superiores de las plantas se calibró con el empleo de un fotómetro de la Weston Electrical Instrument Corp. modelo 756, provisto de un filtro de cuarzo.

Para los análisis de varianza, los datos de las áreas necrosadas correspondientes a los ensayos anteriores se transformaron mediante arco seno (porcentaje de área foliar afectada) sobre 100.

### 3.5.3. Efecto de la humedad.

Para estudiar el efecto de la humedad, se procedió a mantener las plantas

en condiciones de humedad relativa alta y presencia siempre de agua libre sobre las hojas.

Todos los estudios referentes al patógeno fueron realizados en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional en Bogotá y los relacionados con la interacción patógeno:susceptivo en el Centro de Investigaciones Agropecuarias "Tibaitatá" del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Aislamientos y patogenicidad.

De plantas de cafeto con síntomas de muerte descendente se aislaron Phoma sp., Colletotrichum sp., Fusarium sp. y Pestalotia sp., (Ver Tabla 2).

Por la literatura se conoce que algunos de los hongos aislados son patógenos de café, sin embargo, realizadas las pruebas de patogenicidad, solo se reprodujeron síntomas de muerte descendente con algunos de los aislamientos de Phoma sp.

Los aislamientos seleccionados para ser estudiados, se codificaron en serie y número de acuerdo a la altitud del lugar de procedencia, tal como se indicó en Materiales y Métodos en la Tabla 1.

### 4.2. Características de la enfermedad.

#### 4.2.1. Síntomas.

Los síntomas de la enfermedad muerte descendente observados en las pruebas de patogenicidad y causados por Phoma sp. se caracterizaron por manchas cloróticas circulares aparecidas tres días después de la inoculación. Al quinto día, estas manchas presentaban necrosis y luego las lesiones coalescieron hasta alcanzar un diámetro de dos a tres centímetros. Los cogollos tiernos, al octavo día presentaron una necrosis total de su área foliar.

TABLA 2. Hongos aislados de las distintas muestras de café con síntomas de muerte descendente.

Altitud (m. s. n. m)	Hongos aislados	Patogenicidad*
Menos de 1500 1500 - 1700	<u>Phoma</u> sp	+
	<u>Colletotrichum</u> sp	-
	<u>Fusarium</u> sp.	-
	<u>Pestalotia</u> sp.	-
	<u>Phoma</u> sp.	+
Más de 1700	<u>Colletotrichum</u> sp.	-
	<u>Fusarium</u> sp.	-
	<u>Pestalotia</u> sp.	-
	<u>Phoma</u> sp.	+

\* Producción de síntomas de muerte descendente (+), no producción de síntomas de muerte descendente (-).

En condiciones de campo la sintomatología observada es similar a la descrita anteriormente y coincide con la descripción hecha por Fernández (1961) para la muerte descendente del cafeto causada por especies de Phoma.

#### 4.2.2. Signos.

De las lesiones sobre hojas se aislaron picnidios oscuros, ostiolados y ovoides con dimensiones que variaron entre 100 y 450 micras de diámetro. Las estructuras observadas por Echandi (1957) y Fernández (1961) presentaron características parecidas.

Las conidias son ovoides, hialinas, uniceldadas, con dimensiones de 2 x 6 micras y son expulsadas de los picnidios en un cirrus cremoso.

El micelio, es hialino, septado y ramificado. La descripción anterior concuerda con la hecha por Echandi (1957) y Fernández (1961) para especies de Phoma.

#### 4.3. Características del patógeno.

##### 4.3.1. Crecimiento micelial.

Los aislamientos de Phoma sp. cultivados en jugo de legumbres V-8 e incubados a 19C en ausencia de luz, presentaron diferencias en cuanto a color y apariencia de la colonia. El color, inicialmente blanco, cuando cambió con la apa-

rición de picnidios lo hizo a café o marado. La apariencia de la colonia generalmente fue superficial al principio y luego erupente con abundante micelio algodonoso.

La Tabla 3 muestra algunas características de los aislamientos de Phoma incubados a 19C en ausencia de luz. El mayor crecimiento lo presentaron los aislamientos de la serie 300 y el menor los de la serie 100. En cuanto al color de la colonia éste fue más oscuro en los aislamientos que exhibieron un mayor crecimiento a una temprana aparición de picnidios.

#### 4.3.2. Producción de picnidios.

Como se observa en la Tabla 3, la producción de picnidios y la época en que éstos aparecen varía con la procedencia del aislamiento. Los aislamientos de la serie 300 produjeron el mayor número de estructuras por milímetro cuadrado y éstos aparecen más temprano en comparación con los aislamientos de las otras series.

En cuanto al tamaño de los picnidios, los provenientes de altitudes mayores, presentaron un tamaño un poco mayor que los originarios de zonas de menor altitud.

#### 4.4. Efecto de la temperatura sobre el patógeno.

##### 4.4.1. Germinación.

En la Tabla 4 y en la Figura 2 se presentan los resultados de germinación

TABLA 3. Características de aislamiento de Phoma sp. en medio de cultivo V-8 e incubados en oscuridad a 19C durante 10 días.

Aislamiento Número	Color de la colonia*	Crecimiento diametral (mm/día)	Producción de Picnidios	
			Número por mm <sup>2</sup> **	Aparición (días)*
100	Café	7.66	19.64	9
101	Blanco	6.50	5.17	11***
102	Café	6.56	10.77	10
103	Blanco	6.42	14.32	12***
204	Morado	8.50	14.97	5
205	Morado	7.32	12.73	10
206	Blanco	7.50	17.37	10
207	Café	7.10	13.70	10
300	Morado	8.82	23.78	5
301	Morado	8.74	21.77	6
302	Café	8.62	25.94	6
306	Morado	8.84	28.95	6

\* Promedio de cuatro replicaciones.

\*\* Promedio de cuatro replicaciones y cinco lecturas por replicación.

\*\*\* Aislamientos con fructificaciones después de 10 días.

TABLA 4. Efecto de la temperatura sobre la germinación de conidias del aislamiento 300 de Phoma sp. en presencia de agua libre, de acuerdo al promedio de 80 lecturas.

Conidias	T e m p e r a t u r a (°C)				
	10	15	20	25	30
Germinadas	12.6	19.9	51.0	14.0	3.8
No germinados	30.4	40.4	7.3	45.9	31.0
Total	43.0	60.3	58.3	59.9	34.8
% germinación	29.53	33.00	87.48	23.37	10.92

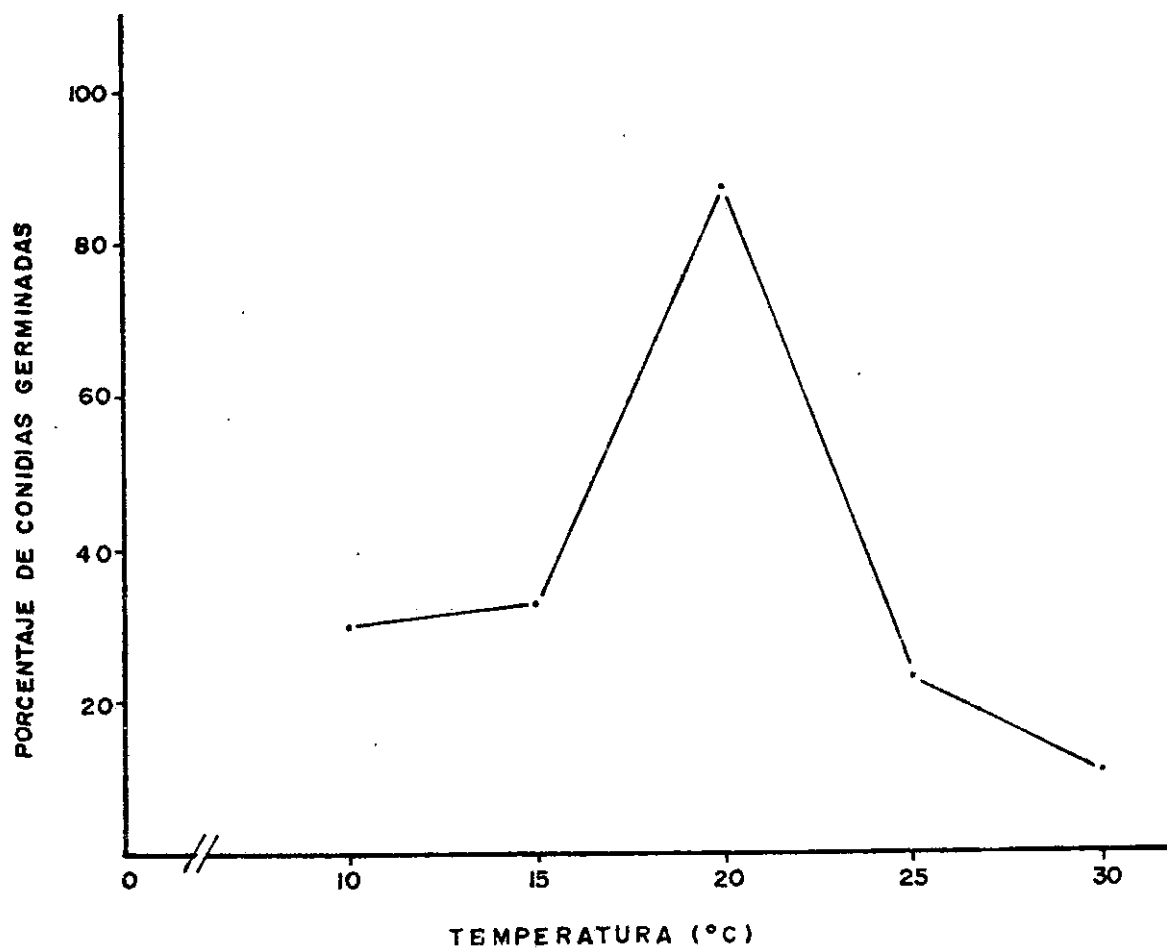


Figura 2. Efecto de la temperatura sobre la germinación de conidias de Phoma sp. del aislamiento 300, en presencia de agua libre.

de conidias de Phoma sp. provenientes del aislamiento 300 sometidas a temperaturas de 10 a 30C, con intervalos de 5C. Las conidias, germinan en presencia de agua libre a todas las temperaturas estudiadas. El máximo de germinación se obtuvo a los 20C.

#### 4.4.2. Crecimiento micelial.

El diámetro promedio de crecimiento micelial de los aislamientos de Phoma sp., medidos al décimo día se muestra en la Tabla 5. Los aislamientos tuvieron un crecimiento máximo a 22C, excepción hecha de la serie 100, cuyo crecimiento fue mayor a 25C. Un análisis de varianza para ver el efecto de la altura, la temperatura y la interacción altura por temperatura en el crecimiento micelial se muestra en el Apéndice 2. Hubo variaciones altamente significativas en el crecimiento por influencia de la altura, la temperatura y su interacción.

Los análisis de varianza para relacionar la influencia de aislamiento, temperatura e interacciones de aislamiento por temperatura en el desarrollo micelial de las tres series de aislamientos de Phoma sp. indicaron en todos los casos, que existen diferencias altamente significativas sobre el crecimiento (Apéndices 3, 4 y 5).

La tendencia de crecimiento de los aislamientos se observa en la Figura 3. Los aislamientos de la serie 100 presentan un rápido incremento del diámetro al

TABLA 5. Diámetro de aislamientos de Phoma sp. incubados en oscuridad durante 10 días y correspondientes al promedio de cuatro replicaciones.

Aislamiento	Temperatura (°C)			
	16	19	22	25
100	37.25	74.50	74.25	80.25
101	33.25	65.00	65.75	80.00
102	28.50	65.75	63.50	56.75
103	42.50	64.25	70.50	75.25
204	58.75	80.00	88.75	66.75
205	40.00	71.25	66.75	63.75
206	41.25	76.50	80.00	72.50
207	43.00	71.00	76.25	75.25
300	79,75	88.25	90.00	60.00
301	78.75	87.50	90.00	87.50
302	75.75	86.25	90.00	90.00
306	83.75	88.50	88.50	70.00

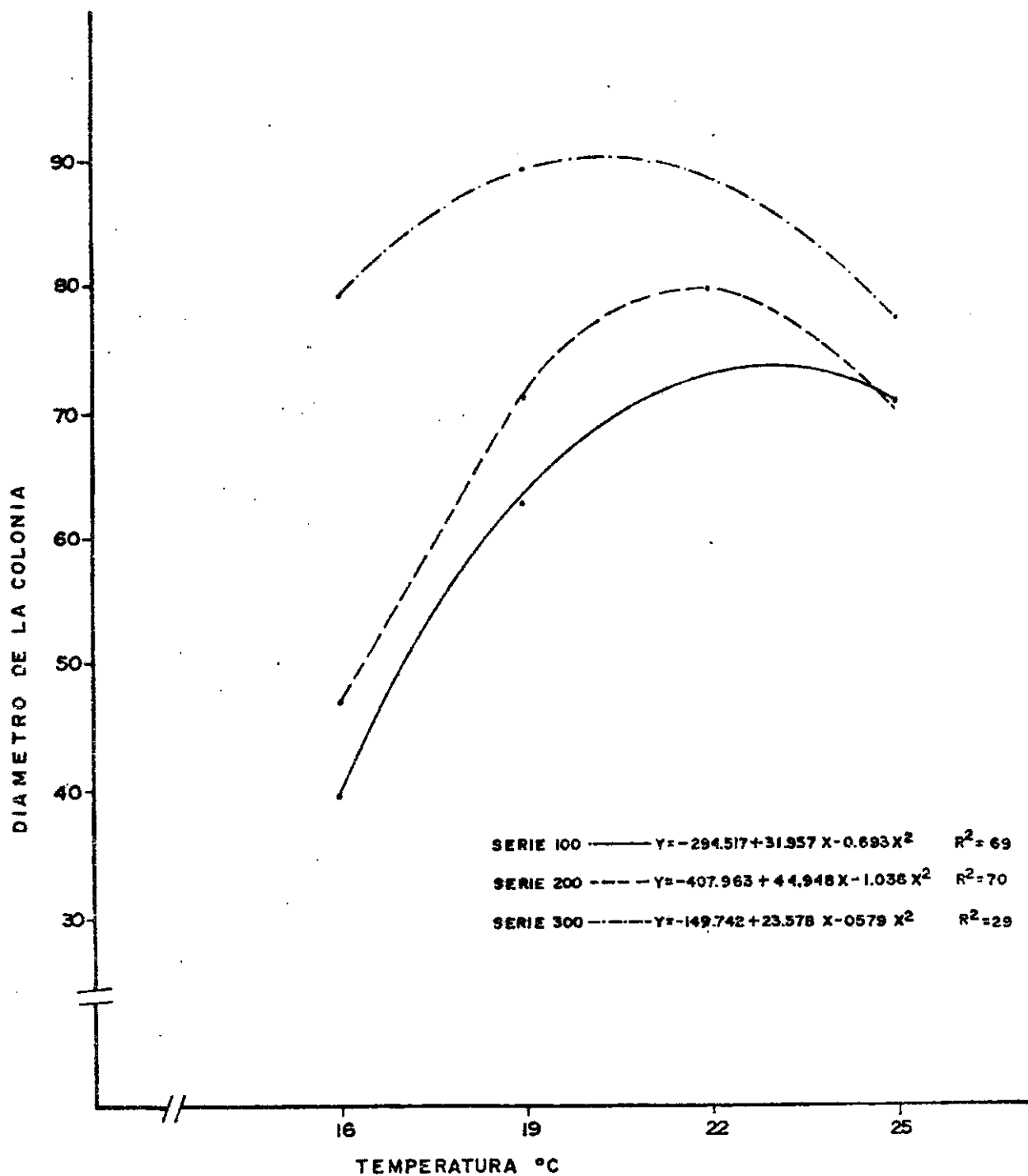


Figura 3. Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de aislamientos de *Phoma* sp., en medio de cultivo V-B.

augmentar la temperatura hasta 23C, a partir de la cual, el crecimiento disminuye. La tendencia de crecimiento de la serie 200 es similar a la anterior, pero con un máximo hacia los 22C. El crecimiento de la serie 300 fue el mayor, y la temperatura óptima para su crecimiento fue 21C.

#### 4.4.3. Producción de picnidios.

La producción por milímetro cuadrado de picnidios se relaciona en la Tabla 6. Se observa gran variabilidad en la capacidad de fructificación de los aislamientos, destacándose la serie 300 como la de mayor densidad de picnidios por unidad de área.

Factores como altura, temperatura y su interacción influyeron de manera altamente significativa en la producción de picnidios (Apéndice 6). La tendencia de fructificación por unidad de área de las series de aislamientos se ven en la Figura 4. La temperatura óptima encontrada para la fructificación del hongo varió con la procedencia del aislamiento: los de las series 100 y 200 fructificaron mejor a 19 y 25C, en tanto que los de la serie 300 lo hicieron a 22C.

En una misma serie, tanto el aislamiento como la temperatura influyen altamente en la capacidad de fructificación (Apéndices 7, 8 y 9).

TABLA 6. Número de picnidios de Phoma sp. por milímetros cuadrado correspondientes al promedio de 80 lecturas.

Aislamiento	Temperatura (°C)			
	16	19	22	25
100	17.70	19.65	9.53	19.95
101	12.24	5.17	5.56	8.22
102	7.68	10.77	7.41	10.88
103	11.50	14.32	7.10	13.43
204	12.12	14.97	11.23	16.48
205	12.89	12.73	11.89	19.49
206	8.10	17.37	4.48	5.63
207	6.41	13.70	9.07	8.41
300	18.37	23.78	23.23	23.08
301	13.93	21.77	31.72	31.65
302	13.51	25.94	32.38	28.75
306	25.94	28.95	28.95	21.69

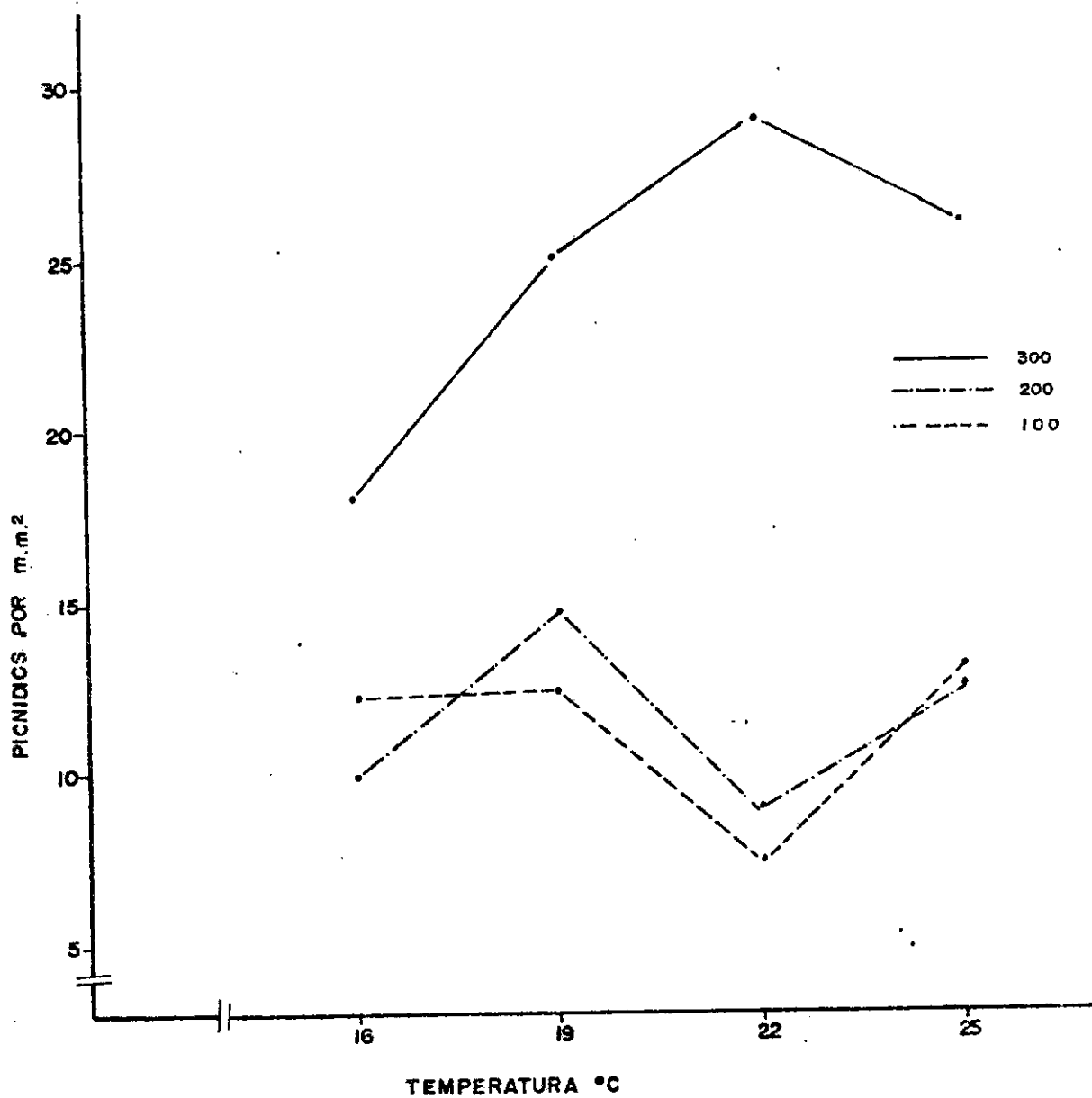


Figura 4. Efecto de la temperatura en la capacidad de producción de picnidos de aislamientos de *Phoma* sp. provenientes de tres altitudes, en medios de cultivo V-B.

#### 4.4.4. Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios.

Las Figuras 5, 6 y 7 muestran una posible relación entre el crecimiento micelial y la capacidad de fructificación. Los aislamientos de las series 100 y 200 fructificaron menos a la temperatura de máximo crecimiento. La serie 300 presentó una tendencia de fructificación paralela a la de crecimiento.

Los coeficientes de correlación entre crecimiento micelial y fructificación fueron muy bajos para las tres series: 0.04 para la serie 100; 0.05 para la serie 200 y 0.4 para la serie 300.

#### 4.5. Efecto de la luz, la temperatura y la humedad sobre la interacción: Patógeno: Susceptivo.

##### 4.5.1. Efecto de la luz.

En la Tabla 7 se presenta el efecto de distintos períodos de luz en el desarrollo de la muerte descendente del cafeto, expresada en porcentaje de área foliar necrosada de plantas de cafeto Var.Caturra.

Un análisis de varianza de los datos transformados para medir la influencia de períodos diarios de 3, 6 y 9 horas de luz en la interacción patógeno: susceptible se muestra en el Apéndice 9. Este análisis permite ver que hubo diferencias alta -

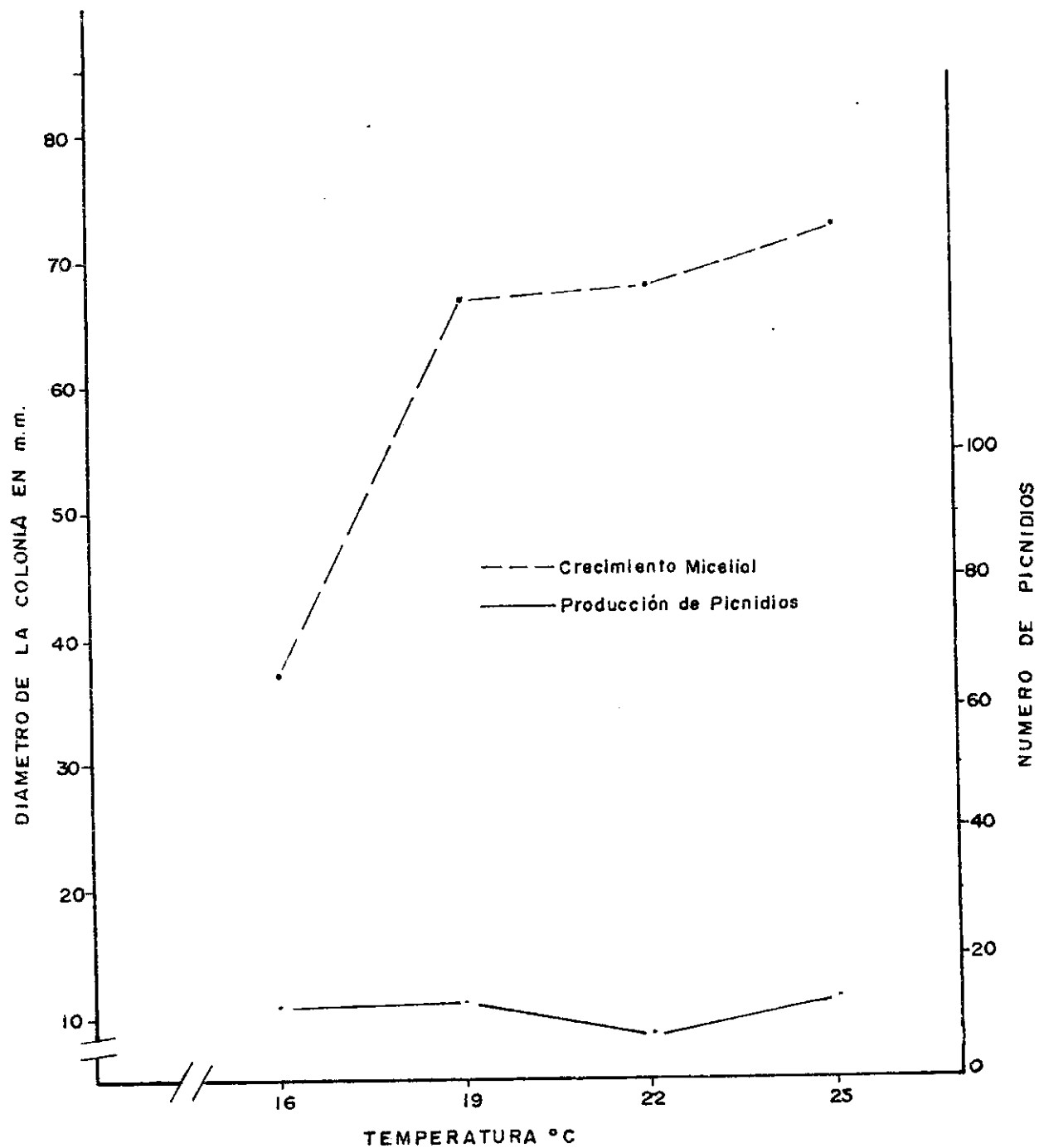


Figura 5. Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamiento de Phoma sp. de la serie 100

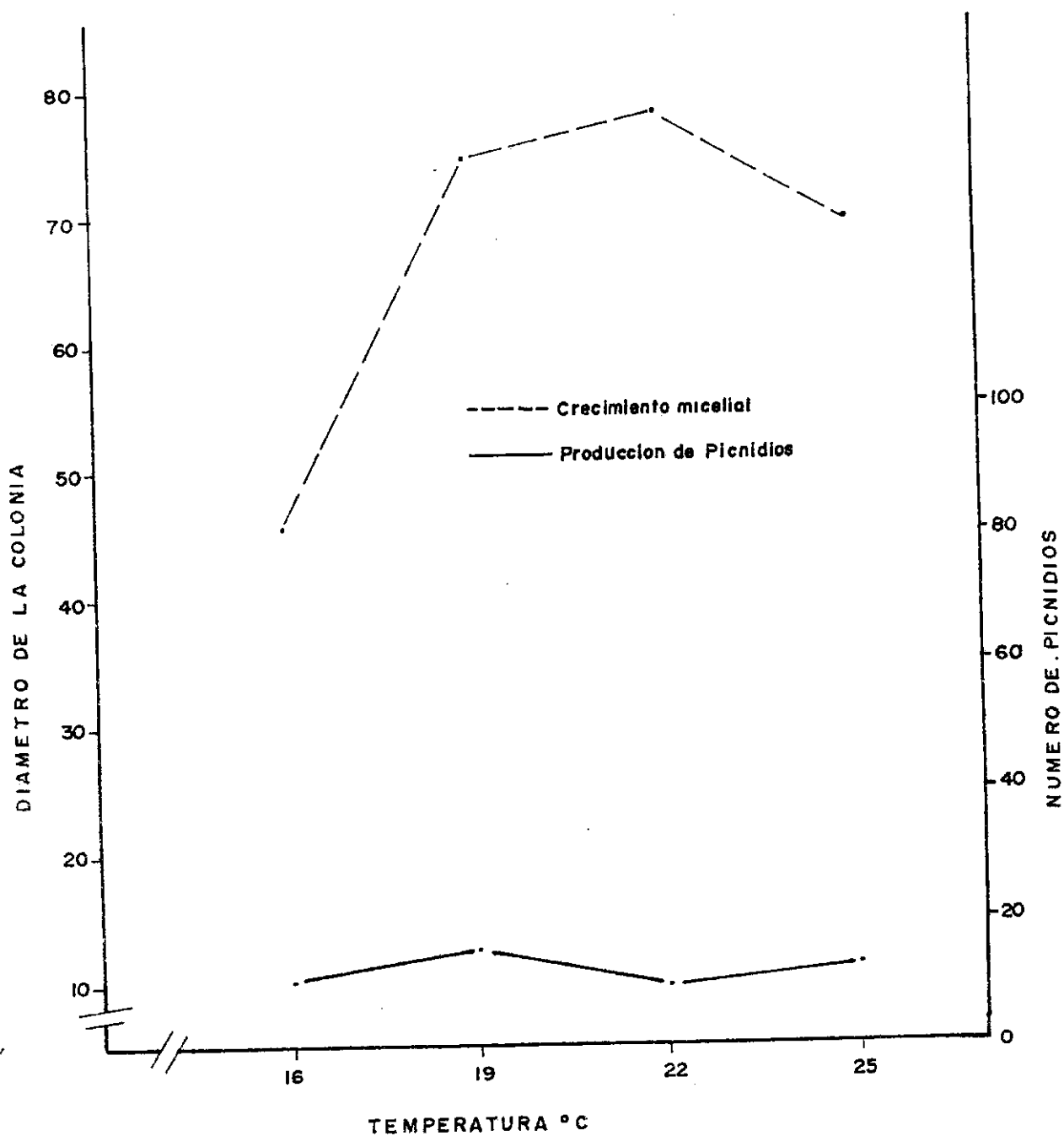


Figura 6. Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamientos de Phoma sp de la serie 200

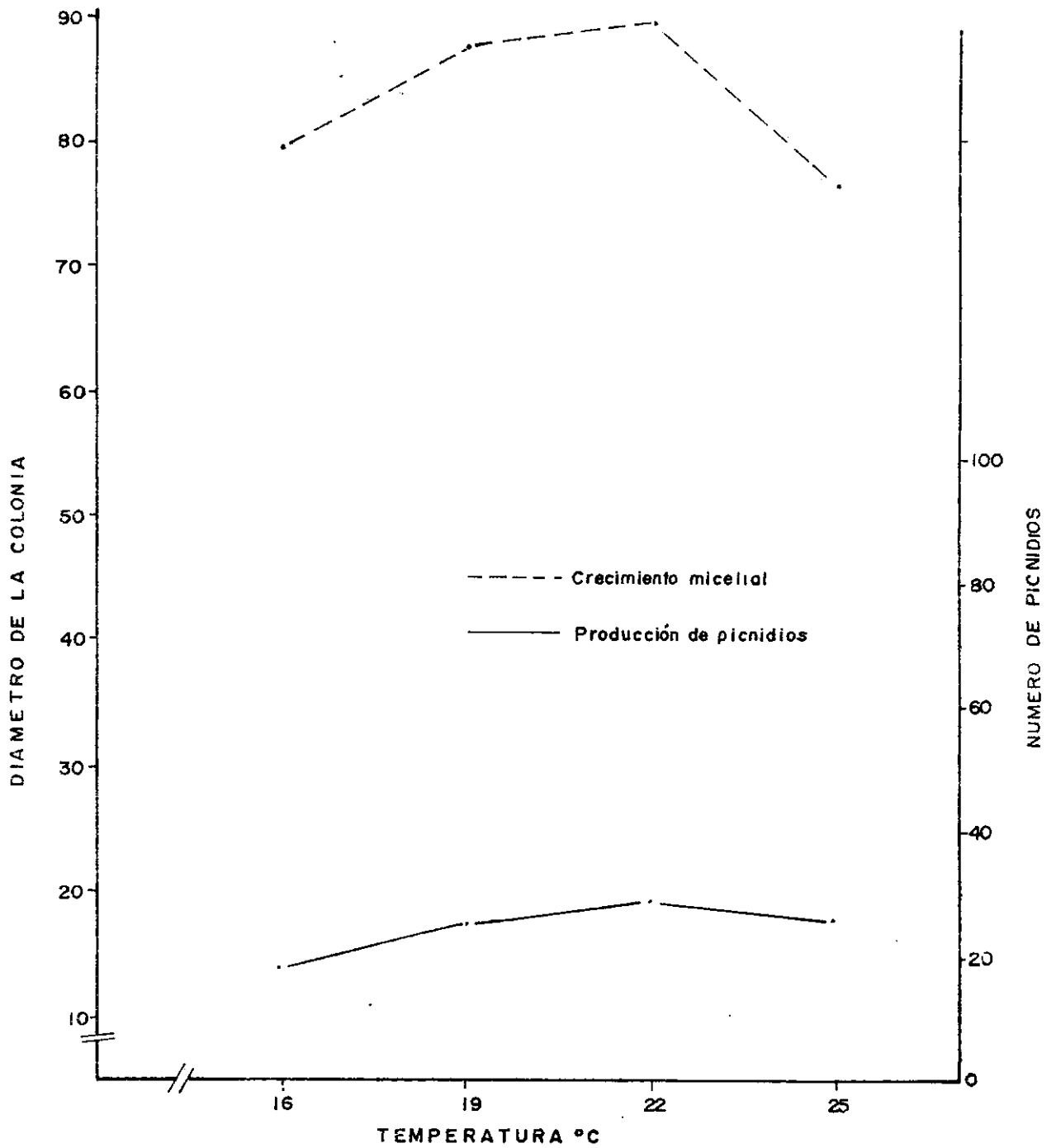


Figura 7. Relación entre crecimiento micelial y producción de picnidios de aislamientos de *Phoma* sp de la serie 300

TABLA 7. Porcentaje de área foliar necrosada de plantas de cafeto Var. Caturra, inoculadas con aislamientos de Phoma sp. , provenientes de 3 alturas, sometidas a períodos diarios de 3, 6 y 9 horas de luz y correspondiente al promedio de cuatro replicaciones.

Aislamiento	Horas de luz diarias		
	3	6	9
100	26.75	31.43	0
206	65.40	18.96	0
301	57.42	0	0

mente significativas entre tratamientos por efecto de la luz; la interacción luz por aislamiento arrojó un nivel de significancia muy próximo al cinco por ciento.

La enfermedad no se manifestó con períodos diarios de nueve horas; la máxima expresión se observó con tres horas de luz diaria.

Una tendencia del comportamiento de la enfermedad, según el tratamiento se observa en la Figura 8.

#### 4.5.2. Efecto de la temperatura.

El porcentaje de área foliar necrosada por efecto de la temperatura en la interacción estudiada se presenta en la Tabla 8.

El análisis de varianza de los datos transformados para medir el efecto de distintas temperaturas (18, 22 y 26C) y de las interacciones altura x temperatura en la expresión de la enfermedad se detallan en el Apéndice 10. De este análisis se concluyó que los factores estudiados inciden de manera altamente significativa en la expresión de la enfermedad.

La enfermedad se manifestó a todas las temperaturas estudiadas, con un óptimo de 22C y su tendencia es variable (Figura 9).

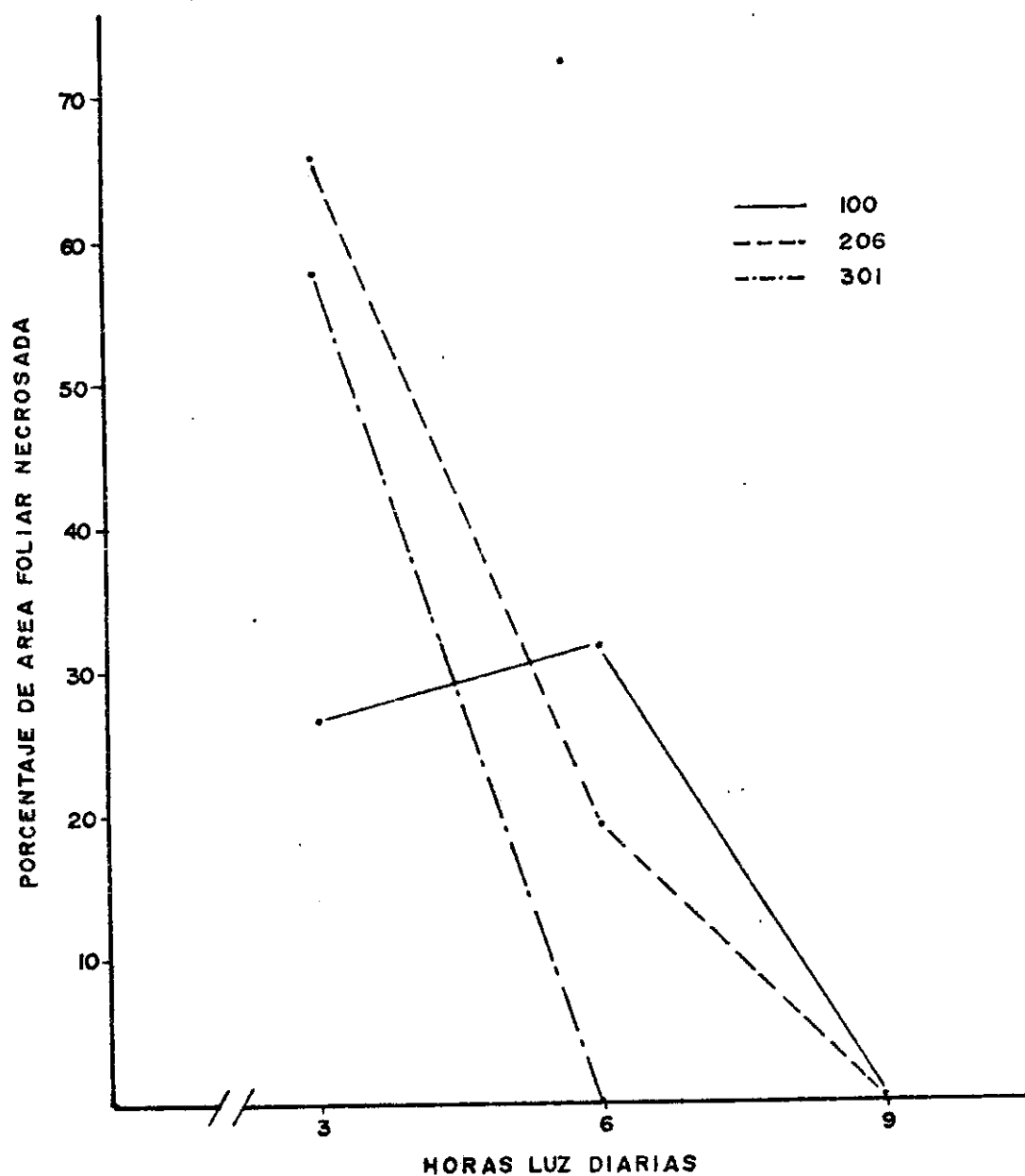


Figura 8. Influencia de periodos de luz en el desarrollo de la muerte descendente en cafetos de la variedad Caturra, cuando se inocularon con aislamientos de *Phoma* sp., provenientes de tres altitudes.

TABLA 8. Porcentaje de área foliar necrosada de plantas de café Var. Caturra, inoculadas con aislamientos de Phoma sp., provenientes de 3 alturas sometidas a temperaturas de 18, 22 y 26°C y correspondiente al promedio de cuatro repeticiones.

Aislamiento	Temperatura (°C)		
	18	22	26
100	8.5	25.0	32.5
206	22.0	80.0	14.3
301	37.5	39.0	15.5

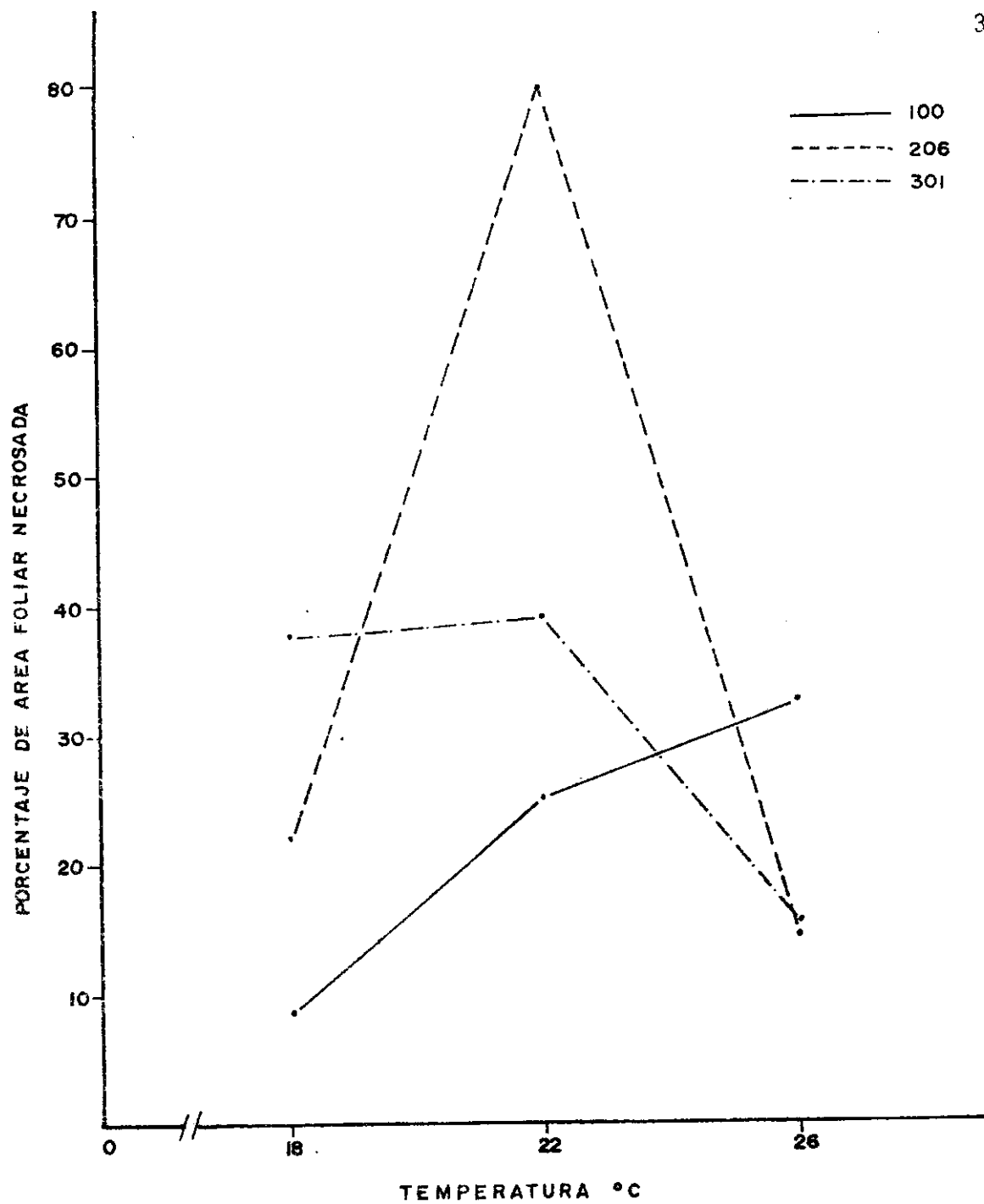


Figura 9. Influencia de la temperatura en el desarrollo de la muerte descendente en cafetos de la variedad Caturra, cuando se inocularon con aislamientos de *Phoma* sp., provenientes de tres altitudes.

#### 4.5.3. Efecto de la humedad.

Solo se produjeron síntomas de la enfermedad, cuando se mantuvo presencia de agua libre sobre las hojas durante todo el período de incubación. El avance de la enfermedad cesa cuando no hay agua libre.

Cuando las plantas inoculadas se sometieron a humedades relativas de ciento por ciento, sin condensación de agua, la enfermedad no se presentó.

## 5. DISCUSION

Realizadas las pruebas de patogenicidad con los hongos aislados de plantas de cafeto con síntomas de muerte descendente, solo los aislamientos de Phoma sp. causaron la enfermedad. Esto corrobora los resultados obtenidos por Fernández (1961) en Colombia y por Echandi (1957) y Hernández-Paz (1975) en Centro América.

Los otros microorganismos (Colletotrichum, Fusarium, Pestalotia) pueden ser considerados patógenos secundarios en el desarrollo de la muerte descendente del cafeto.

El crecimiento micelial, la apariencia de la colonia, la morfología y dimensiones de las estructuras de Phoma sp., hacen suponer que se trata de una especie o de especies parecidas a las descritas por Echandi (1957) en Costa Rica y por Fernández (1961) en Colombia.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, en cuanto a diferencias morfológicas, de crecimiento y de fructificación de aislamientos de Phoma sp, procedentes de diferentes lugares, concuerdan con los encontrados por Echandi (1957) en Costa Rica.

Las características de color, crecimiento, producción de picnidios y tiempo en que éstos aparecen guardan relación con la procedencia de los mismos. Es así

como los aislamientos de zonas superiores a los 1700 m.s.n.m. se pueden tipificar por colores oscuros, especialmente morado, mayor crecimiento, mayor producción de picnidios por unidad de área y aparición temprana de éstos. A medida que decrece la altura, los colores de las colonias son más claros, el crecimiento disminuye, así como la densidad de fructificación, duplicándose el período de aparición de éstas. Si estas características se conservaran en la relación patógeno: susceptible indicarían una mayor agresividad de los aislamientos de la serie 300.

La temperatura influyó notoriamente sobre la germinación del patógeno. Conidias de un aislamiento de Phoma sp. colectado en Cundinamarca, proveniente de lugares con temperatura media de 19C y altitud de 1700 m.s.n.m., presentaron su máximo de germinación (87%) a 20C, temperatura muy próxima a la del lugar de procedencia. Fernández (1961) encontró una germinación del ciento por ciento a 20C, para conidias de Phoma sp., obtenidas de muestras colectadas en la zona cafetera del Cauca y Caldas. Es importante resaltar que para conseguir el óptimo de germinación en Phoma sp. es necesario asegurar la presencia de una película de agua alrededor de las conidias; lo mismo sucede con conidias de Phyllosticta populorum Sacc. et Roum (Kobayashi et al, 1974).

El crecimiento micelial de cada uno de los aislamientos presentó diferencias debidas a las temperaturas estudiadas. Un efecto similar fue registrado por Echandi (1957) y por Fernández (1961).

Los aislamientos provenientes de zonas bajas (menos de 1500 m.s.n.m.) tienen un máximo crecimiento hacia los 25C, en tanto que los provenientes de zonas altas (más de 1700 m.s.n.m.) tienen su temperatura óptima hacia los 22C. Fernández (1961) obtuvo, para aislamientos provenientes de zonas altas del Cauca y Caldas, un crecimiento micelial máximo hacia los 20C. Las diferencias entre los óptimos de crecimiento se pueden explicar por la procedencia de los aislamientos o por el medio de cultivo empleado.

De acuerdo a Brancato et al (1953), la temperatura es uno de los factores determinantes en el desarrollo micelial de muchos hongos. La acción de la temperatura está relacionada con las actividades celulares y enzimáticas (Deverall, 1965) y en especial con el metabolismo de los carbohidratos (Ellingboe, 1959).

La capacidad de fructificación por unidad de área de los aislamientos de Phoma sp. , también fue influenciada por la temperatura. Resultados similares fueron observados por Chung y Wilcoxson (1966) en aislamientos de Phoma herbarum Var. medicaginis.

Los aislamientos provenientes de alturas mayores de 1700 m.s.n.m. mostraron la mayor capacidad de producción de picnidios por unidad de área, la cual explica en parte el por qué la enfermedad conocida como muerte descendente incide más en los cultivos ubicados sobre los 1700 m.s.n.m. Llevado esto a la interacción pató -

geno: susceptible, posiblemente pueda significar una mayor virulencia o agresividad de este grupo, razón por la cual sería aconsejable en el proceso de selección, emplear aislamientos de esta altura.

En los procesos biológicos de acuerdo al sustrato y al aislamiento existen diferentes correlaciones entre el crecimiento micelial y la capacidad de fructificación (Stakman, 1957). Las series 100 y 200 presentaron coeficientes de correlación de 0.04 y 0.05 respectivamente, para las cuatro temperaturas estudiadas. La serie 300 por su parte tuvo una correlación del 0.40, indicando las ventajas de esta serie en medios de cultivo para las características anotadas.

El desarrollo de la enfermedad fue mayor con tres horas de luz, resultado que está de acuerdo con las informaciones dadas para las épocas de mayor incidencia de la enfermedad, donde las horas de brillo solar diario son alrededor de cuatro en promedio (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 1974).

Debe tenerse en cuenta que la planta de cafeto tiene su máxima actividad fotosintética a niveles de intensidad lumínica de 2000 bujías-pie (Tió, 1962) y que en este ensayo la intensidad fue solo de 850 bujías-pie. Sin embargo, en las épocas en que se presenta la enfermedad con mayor severidad, la intensidad lumínica es alrededor de 1000 bujías-pie (observaciones del autor).

La enfermedad se desarrolló en el rango de temperaturas entre 18 y 26C, lo

cual explica por qué ésta se presenta en cultivos de cafeto ubicados en altitudes entre 1400 y 1900 m.s.n.m. con temperaturas promedio de 20 y 17C respectivamente. Por su parte Renfro y Kernkamp (1963) encontraron que la enfermedad de la alfalfa, causada por Phoma herbarum Var. medicaginis se desarrolla mejor a temperaturas entre 18 y 24C. El óptimo encontrado en el presente trabajo fue de 22C, valor éste, superior al rango de temperatura promedio obtenido bajo condiciones de campo. El empleo de una temperatura constante en el experimento, puede considerarse como la causa para el desplazamiento del óptimo de temperatura. El comportamiento de los aislamientos in vitro, aunque arrojan diferencias en su respuesta a varias temperaturas, éstas son más marcadas in vivo, situación que se puede explicar por la dependencia del patógeno en la compleja interacción susceptible:patógeno:ambiente.

El efecto de la humedad en forma de agua libre, en la interacción: Phoma sp. Coffea arabica, parece ser decisivo, pues la enfermedad solo se manifestó cuando hubo condensación de agua sobre las hojas. Fournet (1971) encontró que períodos sucesivos de llovizna mostraron efectos aditivos en el ataque de Phoma destructiva Plowr, sobre hojas de tomate; en este caso las infecciones no fueron severas con períodos de alta humedad. Corroboran esta afirmación, los trabajos de Hosford Jr. (1975), quien afirma que Phoma glomerata requiere períodos largos de agua libre para causar enfermedad en trigo y triticales.

Los hechos anteriores, indican una vez más, la necesidad de la presencia de agua libre. Una de estas formas es el rocío que según Trewartha (1954) se presenta bajo condiciones de alta humedad relativa, poco viento y noches largas, características éstas, comunes en la zona cafetera colombiana en la época de mayor incidencia de la enfermedad, y que coincide además con un alto régimen de lluvias.

## 6. CONCLUSIONES

1. La enfermedad del cafeto conocida en Colombia como muerte descendente es producida por el hongo Phoma sp.
2. Para la germinación y penetración de Phoma sp. es necesaria la presencia de agua libre.
3. El hongo Phoma sp. crece y fructifica bien en un medio de cultivo a base de jugo de legumbres (V-8).
4. Las colonias de aislamientos en medios de cultivo presentan diferencias en morfología, crecimiento y fructificación de acuerdo al lugar de procedencia.
5. Los aislamientos provenientes de zonas de mayor altitud tienen un crecimiento micelial, una mayor capacidad y precocidad de producir picnidios que los provenientes de zonas más bajas.
6. La infección fue mayor con períodos diarios de luz de tres y seis horas, con óptimo de tres horas. Períodos de luz superiores a seis horas inhiben la expresión de síntomas.
7. La afección fue mayor cuando las plantas inoculadas se sometieron a temperaturas de 18 y 22C.

8. Hubo diferencias en la severidad del daño, según la procedencia del aislamiento.

## 7. RECOMENDACIONES

El presente trabajo permite recomendar:

1. La caracterización de un mayor número de aislamientos de Phoma sp. para determinar si éstos pertenecen a una o a varias especies.
2. La prueba de los distintos aislamientos de Phoma sp. sobre las variedades comerciales de café, para establecer niveles de virulencia y agresividad que permitan relacionarlas a las características observadas en cultivo artificial.
3. El estudio de las posibles interacciones entre Phoma y los demás patógenos aislados de plantas de cafeto con síntomas de muerte descendente.
4. La realización de estudios tendientes a relacionar períodos de agua libre con niveles de infección.
5. Observaciones de campo para relacionar la permanencia de agua sobre la planta con la intensidad de la enfermedad.

## 8. RESUMEN

En la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional en Bogotá y en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias "Tibaitatá" del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se realizó el presente trabajo con el fin de estudiar la influencia de factores ambientales sobre el agente causal (Phoma sp.) y sobre la interacción patógeno:susceptivo en la enfermedad conocida como muerte descendente del cafeto.

En la parte inicial del trabajo se realizó una colección de muestras provenientes de plantas afectadas, localizadas en la zona cafetera comprendida entre 1400 y 1700 m.s.n.m. Doce aislamientos representativos de diferentes pisos térmicos, producidos cada uno a partir de un picnidio sobre un medio de cultivo a base de legumbres (V-8), mostraron una amplia variabilidad en sus características morfológicas y de reproducción. Los aislamientos procedentes de zonas altas tienden a presentar colores oscuros, aparición temprana de picnidios y una mayor densidad por unidad de área; en contraste con los representativos de zonas más bajas que exhiben colores claros, un tiempo mayor para la aparición de fructificaciones y una menor densidad.

La altitud, la temperatura y la interacción altitud por temperatura influyen significativamente en el crecimiento micelial y en la producción de picnidios. Las temperaturas óptimas promedio para crecimiento y fructificación del hongo Phoma sp.

fueron 22 y 19C, respectivamente. Sin embargo, los aislamientos de diferentes pisos térmicos se favorecieron en su desarrollo por temperaturas similares a las del lugar de su procedencia.

Las conidias del hongo solo germinan bien en presencia de agua libre, en un rango de temperaturas de 10 a 30C con óptimo a los 20C. Esta condición es también necesaria para la penetración del patógeno y posterior presencia y desarrollo de la enfermedad.

Experimentos realizados en cámaras de crecimiento con cafetos de la variedad Caturra, inoculados con tres aislamientos representativos de tres pisos térmicos, y sometidos a regímenes de luz y de temperatura que oscilaron entre tres y nueve horas de luz diarias y 18 y 26C respectivamente, indicaron que para los tres aislamientos usados, el óptimo de infección se encontró a las tres horas de luz, no presentándose síntomas en las plantas expuestas a nueve horas. En las plantas sometidas a tres horas de luz y a temperaturas que oscilaron entre 18 y 26C se observó que el máximo de infección se obtuvo a 18 y 22C. En este ensayo al igual que en el de luz, se presentaron diferencias en la severidad de ataque debidas a los aislamientos.

Los resultados obtenidos en cuanto al período de luz óptimo guardan relación con las horas de brillo solar promedio en épocas de mayor incidencia de la enfer-

medad y tanto este factor como el estudio de los períodos de formación de rocío son parámetros a estudiar en experimentaciones de campo con el fin de formular las medidas de control más adecuadas.

## 9. SUMMARY

Studies on the coffee die-back disease, confirmed this is caused by Phoma sp. Collections of the pathogen were obtained from the coffee grown area ranging from 1400 meters to more than 1700 meters above the sea level. Twelve single picnidial isolates from those collections were selected to be studied on V-8 juice media. They showed extreme variability in cultural morphology, color, picnidial formation and time of picnidia appearance. Dark color of colonies, early picnidial formation and high picnidial yield were characteristics of isolates coming from 1700 meters zone. By contrast, isolates from lower places showed a light colony color, a longer picnidial formation period and a low density of picnidia.

Altitude, temperature and the interaction altitude x temperature had a highly significant influence on the growth and reproduction of Phoma sp. The best average temperature were 22C for colonies growth and 19C for reproduction.

The fungus conidia germination process needed a free water film around structures and a temperature range from 10 a 30C. The optimum temperature was 20C. Similar conditions were essential for pathogen penetration and infection period.

Growth chamber studies indicated that plants of Caturra variety were affected by three Phoma sp. isolates in a temperature range from 18 to 26C. Twenty-two degrees centigrades was the optimum temperature for disease expression. Symptoms

were visible at 26C. Severity differences were observed among isolates.

As important as temperature was the light period. Three hours light was the optimum for disease expression of the tested isolates. Disease development was inhibited by nine hours light period. This finding kept a close relation with the sun-light data available for periods of high incidence of this disease.

## BIBLIOGRAFIA

1. BIANCHINI, C. Síntomas, prevención y combate de las principales enfermedades del café en Costa Rica. *Suelo Tico* 11 (4): 41-42. 1959.
2. BRANCATO, F.P. and GOLDING, N.S. The diameter of the mold colony as a reliable measure of growth. *Mycology* 45: 848-864. 1953.
3. BURDEQUIN, D.A. Observations on unknown die-back of coffee prior to and during 1961. *Res. Rep. Coffee Res. Stat. Lyamungu, Tanganyika* 1961. pp. 50-52. 1962 (Res. en Trop. Abs. 18 (1): K61-1963).
4. CASTAÑO, J.J. Una afección nueva en Coffea liberica. *Agric. Trop. (Colombia)*. 9 (1): 29-31. 1953.
5. \_\_\_\_\_. Muerte descendente (die-back) en cafetos de toda edad en varias regiones del Departamento del Cauca. *Rev. Cafetera de Colombia*. 12 (126): 4245-4253. 1954.
6. CLOWES, M.S.J. Physiological die-back of coffee. *Rhodesia Agric. Jour.* 70 (4): 85-86,89. 1973. (Res. en Trop. Agr. 1 (3): 750 1484. 1975).
7. CHUNG, H.S. and WILCOXSON, R.D. Effect of temperature and light and formation of pycnidia and conidia by Phoma herbarum var medicaginis *Ann. Abs.* p. 873. 1966.
8. DEVERALL, B.J. The Physical Environment for Fungal Growth. 1. Temperature In: G.C. Ainsworth and A.S. Sussman, ed. *The fungi. An advance treatise.* New York, Academic Press. 1965. V 1. p. 748.
9. D'SOUZA, G.I. Studies on a die-back of Arabica coffee in South India role a pests and parasites. *Turrialba (Costa Rica)* 21 (2): 146-148. 1971.
10. ECHANDI, E. La quema de los cafetos causados por Phoma costarricensis n. sp. *Rev. Bio. Trop. (Costa Rica)* 5 (1): 81-102. 1957.
11. ELLINGBOE, A.H. Studies on the growth of Phoma herbarum var. medicaginis in culture. *Phytopathology*. 49: 773-776. 1959.

12. FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. Anuario Meteorológico, 1973. Chinchiná, Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. 1974. 277 p.
13. FERNANDEZ, J.M. El "derrite" del cafeto, su control y algunos aspectos de su biología. San José, Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Departamento de Fitopatología. Dirección General de Investigaciones. 1968. 12 p.
14. FERNANDEZ, O. Muerte descendente de los brotes del cafeto causado por especies de Phoma y Colletotrichum. Cenicafé. 12 (3): 127-140. 1961.
15. FIRMAN, I.D. Elgon die-back. Kenya Coffee, 28 (325): 9-14. 1963. (Res. en Trop. Abs. 18 (5): K 1062. 1963).
16. \_\_\_\_\_. Some investigations on a disease of Coffea arabica caused by Ascochyta tarda, Trans. Brit. Mycol. Soc. 48 (2): 161-166. 1965.
17. FOURNET, J. Etudes sur les conditions d'infection des feuilles de tomate par le Phoma destructiva Plowr. Ann. Phytopathol. 3 (2): 215-231. (Res. en Abs. of Mycol. 6 (11): 57159. 1972).
18. FRANKEL, W. Unknown die-back in Tanganyika. Kenya Coffee 28 (325): 21-24. 1963. (Res. en Trop. Abs. 18 (5): K 1059. 1963).
19. GOPAL, N.H. and RAMAIAH, P.K. Studies on die-back in Indian coffee (Coffea arabica L.): some biochemical constituents in the new foliage of the affected and healthy plant and observations on the "after effects" of new malady. Café (Perú) 9 (3): 20-27. 1968.
20. HASTINGS DE GUTIERREZ, L. Muerte descendente causada por Colletotrichum en las plantas de café en el almácigo y su combate por medio de aspersiones en Turrialba, Costa Rica. Turrialba, 4 (4): 119-124. 1954.
21. HERNANDEZ-PAZ, M. Phoma Rev. Cafetalera. Anacafé. (Guatemala). 74: 33-34. 1967.
22. \_\_\_\_\_. El café: sus enfermedades. Rev. Cafetalera (Guatemala). 143: 9-20. 1975.

23. HOSFORD, JUNIOR, R.M. Phoma glomerata, a new pathogen of wheat and triticales, cultivar resistance related to wet period. *Phytopathology*. 65 (11): 1236-1239. 1975.
24. INSTITUTO BRASILEIRO DEL CAFE (IBC). Mort dos ponteiros do cafeiro. *Informativo* 2 (2): 1972.
25. KOBAYASHI, T. and CHIBA, O. Ring spot of poplars caused by Phyllosticta populorum Sacc. et Roum. *Bull. Gov. For. Exp. Sta. No. 268*. 1974.
26. MITOV, N. Investigaciones sobre las enfermedades del cafeto en Cuba. *Rev. Agr., Cuba* 4 (2): 5-31. 1971.
27. MONTOYA, L. y UMAÑA, R. Efecto de tres intensidades de luz y tres niveles de nitrógeno (úrea) sobre la incidencia del die-back. *Servicios Técnicos de Café y Cacao*, 3 (8): 1-8. IICA. 1961.
28. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Plant Disease development and control. Washington D.C. National Academy of Sciences. 1968. 208 p. (Principles of Plant and Animal Pest Control, v 1).
29. RAMAIAH, P.K. and CHOKKANNA, N.G. Observations on "die-back" of coffee. I. Percentage incidence of "die-back" in different liaison zones. *Indian Coffee* 28 (9): 195-204. (Res. en Trop. Abs. 20 (3): n 537. 1965).
30. RENFRO, B.L. and KERNKAMP, M.F. Fungi isolated from Black Stem of Alfalfa and the influence of temperature on lesion formation and disease severity. *Phytopathology* 53: 774-777. 1963.
31. SIDDIQI, M.A. and CORBETT, D.C.M. *Fusarium* bark disease of coffee; a report on research carried out in Malawi. *E. Afr. Agr. Forestry J.* 31 (1): 11-15. 1965. (Res. en Trop. Abs. 21 (3); p. 549. 1966).
32. STAKMAN, E.C. and HARRAR, J.G. Principles of Plant Pathology. New York, the Ronald Press, 1957. p. 581.
33. TIO, M.A. Effect of light intensity on the rate of apparent Photosynthesis in coffee leaves. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*. 46 (3): 159-166. 1962.

34. TREWARTHA, G.T. An introduction to climate. 3 ed. New York, Mc Graw-Hill, 1954. p. 395.
35. TUIE, J. Plant Pathological Methods. Fungi and bacteria. Minneapolis, Burgess. 1969. p. 239

**A P E N D I C E**

APENDICE 1. Análisis de varianza para el diámetro de doce aislamientos de Phoma sp. sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C, en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F
Replicaciones	3	466.35	155.45	
Altura	2	16396.70	8198.35	119.37**
Temperatura	3	17796.44	5932.15	86.37**
Altura x Temperatura	6	6626.34	1104.39	16.08**
Error	177	12156.65	68.68	
Total	191	53.442.48		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 2. Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de Phoma sp. de la serie 100, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C, en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicación	3	139.42	46.47	1.02
Aislamiento	3	915.92	305.31	6.75**
Temperatura	3	12402.92	4134.31	91.45**
Aislamiento x Temperatura	9	1294.76	143.86	3.18**
Error	45	2034.33	45.21	
Total	63	16787.36		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 3. Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de Phoma sp. de la serie 200, sometidos a temperaturas de 18, 19, 22 y 25C., en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicación	3	47.67	15.89	0.45
Aislamiento	3	1389.42	463.14	13.11**
Temperatura	3	10189.67	3396.56	96.18**
Aislamiento x Temperatura	9	1085.14	120.57	3.41**
Error	45	1589.08	35.31	
Total	63	14300.98		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 4. Análisis de varianza para el diámetro de cuatro aislamientos de Phoma sp. de la serie 300, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicación	3	21.19	7.06	0.21
Aislamiento	3	425.06	141.69	4.29**
Temperatura	3	1830.19	610.06	18.46**
Aislamiento x Temperatura	9	2193.69	243.74	7.37**
Error	45	1487.31	33.05	
Total	63	5957.44		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 5. Análisis de varianza para la producción de picnidos de doce aislamientos de Phoma sp. so -  
 metidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicaciones	3	1615.21	538.40	
Altura	2	49358.47	24679.23	82.71**
Temperatura	3	3571.17	1190.39	3.09**
Altura x Temperatura	6	7954.67	1325.78	4.43**
Error	177	52811.23	298.37	
Total	191	115310.75		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 6. Análisis de varianza para la producción de picotido de cuatro aislamientos de Phoma sp., de la serie 100 sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicaciones	3	333.95	111.31	0.84
Aislamientos	3	4951.66	1650.55	12.48**
Temperatura	3	2241.05	747.02	5.65**
Aislamiento x Temperatura	9	1657.79	184.20	1.30**
Error	45	5950.72	132.24	
Total	63	15135.17		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 7. Análisis de varianza para la producción de picnido de cuatro aislamientos de Phoma sp. de la serie 200, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicaciones	3	47.67	15.89	0.45
Aislamientos	3	1389.42	463.14	13.11**
Temperatura	3	10189.67	3396.56	96.18**
Aislamiento x Temperatura	9	1085.14	120.57	3.41**
Error	45	1589.08	35.31	
Total	63	14300.98		

\*\* Nivel de significancia al 1%.

APENDICE 8. Análisis de varianza para la producción de picnidio de cuatro aislamientos de Phoma sp. de la serie 300, sometidos a temperaturas de 16, 19, 22 y 25C en ausencia de luz y durante 10 días.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicaciones	3	779.73	259.91	0.76
Aislamientos	3	1021.68	340.56	0.99
Temperatura	3	7212.71	2404.24	7.03**
Aislamiento x Temperatura	9	5507.62	611.96	1.79
Error	45	15373.87	341.64	
Total	63	29895.61		

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 9. Análisis de varianza de datos transformados de área foliar necrosada para medir el efecto de períodos de luz diaria de 3, 6 y 9 horas en el desarrollo de la muerte descendente del café.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicaciones	3	0.10	0.06	
Aislamiento	2	0.29	0.15	2.14
Luz	2	1.82	0.91	13.27**
Aislamiento x Luz	4	0.73	0.18	2.64*
Error	24	1.65	0.07	
Total	35	4.68		

\* Nivel de significancia al 5% .

\*\* Nivel de significancia al 1% .

APENDICE 10. Análisis de varianza de datos transformados de área foliar necrosada para medir la influencia de la temperatura (18, 22 y 26C) en el desarrollo de la muerte descendente del café.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Replicación	3	0.069	0.023	0.620
Aislamiento	2	0.597	0.299	8.061**
Temperatura	2	0.631	0.315	8.517**
Altura x Aislamiento	4	1.731	0.433	11.684**
Error	24	0.889	0.037	
Total	35	3.917		

\*\* Nivel de significancia al 1% .