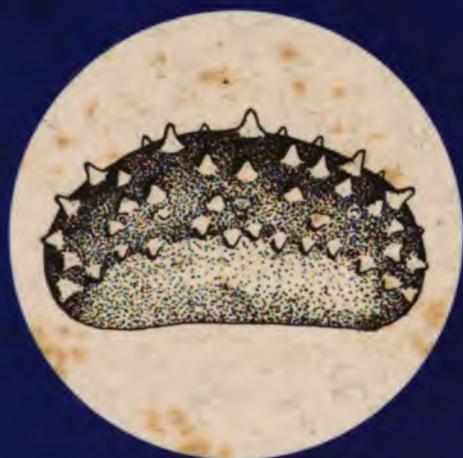




Publicación Miscelánea No. 94

MICOLOGIA,
HISTORIA
Y BIOLOGIA
DE LA ROYA
DEL CAFETO



R. W. Rayner, B. A. (Flore) A.I.C.T.A.

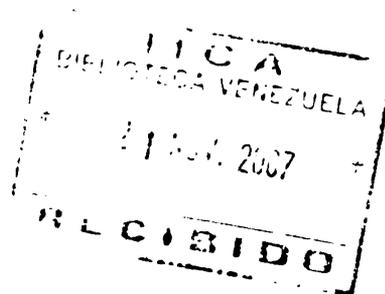
IICA



Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A.
Centro Tropical de Enseñanza e Investigación
Turrialba, Costa Rica

1972

Esoras del hongo (*Hemileia vastatrix* spp.) que muestran la ornamentación de la capa exospórica en forma de espinas.



MICOLOGIA, HISTORIA Y BIOLOGIA DE LA ROYA DEL CAFETO

por

R. W. Rayner, B. A. (Hons.) A.I.C.T.A.
Anteriormente de los Servicios de Investigación de Café de Kenya
y del "Commonwealth Mycological Institute"

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A.
Centro Tropical de Enseñanza e Investigación
Turrialba, Costa Rica

1972

00000241

CONTENIDO

	Pág. No.
INTRODUCCION	1
SINTOMATOLOGIA	2
EL HONGO	4
Presencia y papel de las teleutósporas	9
HONGOS EMPARENTADOS	11
HOSPEDANTES	14
RESUMEN HISTORICO	16
GERMINACION DE LAS ESPORAS	26
Tiempo requerido para la germinación	27
Efecto de la temperatura	28
Requerimiento de humedad	29
Efecto de la luz	31
Efecto del substrato	36
Efecto de disoluciones diluidas de fungicidas	36
Efecto de concentración	36
Germinación bajo condiciones de campo	36
VIABILIDAD DE ESPORAS	39
CRECIMIENTO DEL TUBO GERMINAL Y FORMACION DEL APRESORIO	42
INFECCION	43
PERIODO DE INCUBACION	49
LIBERACION DE ESPORAS Y DISPERSION	52
LITERATURA CITADA	65



**MICOLOGIA, HISTORIA Y BIOLOGIA
DE LA ROYA DEL CAFETO**

PROLOGO

La presencia de la roya del cafeto en Brasil, descubierta a principios del año 1970, despertó una gran inquietud en los países productores de café de América, ante el peligro de diseminación de esa seria enfermedad en este continente.

Como medida de prevención y de control de la roya, en diversas reuniones se subrayó la necesidad de un programa de información dirigido tanto a los técnicos como a los productores. El programa a nivel técnico debería aportar detalles sobre los varios aspectos de la enfermedad y de su agente causal. Esta preocupación dio origen a la presente publicación.

El señor R. W. Rayner, autoridad reconocida sobre la roya del cafeto, tenía en preparación un manuscrito sobre dicha enfermedad y gustosamente accedió inmediatamente a nuestra solicitud para publicar el trabajo en español. Apreciamos mucho este gesto del señor Rayner, que nos permite poner a la disposición de los profesionales de habla hispana el fruto de sus conocimientos en la materia.

El señor Rayner nació en Londres, en 1914; estudió en el Colegio de Latymer, Hammersmith y luego en el "King's College" de la Universidad de Cambridge donde obtuvo, "con honores", un diploma en botánica. Después de graduarse, consiguió una beca en patología vegetal y pasó un año en el "Imperial College of Tropical Agriculture" de Trinidad, donde le fue conferido otro grado académico. Desde 1940 hasta 1958 fue fitopatólogo y fitofisiólogo en los Servicios de Investigaciones de Café del Gobierno de Kenya en Africa Oriental. Por razones de salud regresó a Inglaterra a trabajar con el "Commonwealth Mycological Institute" en Kew. Sus labores incluyeron la supervisión del trabajo de un grupo de fitopatólogos de la Comunidad Británica. Era Vice-Presidente de la Sociedad Británica de Micología al jubilarse en 1968 por motivos de salud.

Agradecemos al Dr. Ludwig Müller, fitofisiólogo del IICA-CTEI, su dedicación y empeño en la traducción de esta obra del inglés al castellano. Apreciamos también la participación del Ing. Edilberto Camacho, horticultor, en la revisión final de la traducción.

Finalmente, reconocemos la gentileza de los doctores F. J. Nutman y Mary F. Roberts, que autorizaron la reproducción de siete ilustraciones tomadas de un artículo de ellos publicado en la Revista de la Sociedad Británica de Micología (Proceedings of British Mycological Society). Esta Sociedad debe compartir este reconocimiento por haber también autorizado la reproducción de las ilustraciones.

*Pierre G. Sylvain
Horticultor Emérito
Departamento de Cultivos y Suelos Tropicales
IICA-CTEI
Turrialba, Costa Rica*

INTRODUCCION

La roya, o herrumbre, es sin duda la enfermedad más seria del cafeto. No sólo es de muchísima importancia para el caficultor sino también la más conocida y de más mala reputación de todas las enfermedades de las plantas tropicales. Large (1940), en su bien conocido y ameno libro "The Advance of the Fungi" (El avance de los hongos), colocó la roya del cafeto entre las siete pestes y enfermedades más importantes de los últimos 100 años, a las que podría compararse con las plagas de los tiempos bíblicos de Egipto. Este hongo no solamente ha producido —y todavía produce— pérdidas económicas enormes sino que sus devastaciones servían para subrayar a los agrónomos de mediados del siglo pasado, la enorme importancia del estudio de las enfermedades de las plantas. Es en realidad una 'enfermedad clásica' y fue objeto de una de las primeras investigaciones científicas acerca de una enfermedad vegetal llevada a cabo por un fitopatólogo de renombre de su tiempo, Marshall Ward.

La investigación de Marshall Ward fue una de las que marcaron el inicio de una nueva era en la micología, ya que acababa de conocerse entonces que los hongos podrían constituir la causa de enfermedades de las plantas y no solamente una de las consecuencias. Este investigador tenía que subrayar continuamente este hecho ante los caficultores de Ceilán para quienes trabajaba. Para ellos una enfermedad era algo bastante misterioso, que se debía principalmente a factores ambientales, poco entendidos y a menudo vagamente caracterizados, o a procedimientos incorrectos en el cultivo de la planta. Así como el famoso tizón de la papa, responsable de la carestía de la papa irlandesa en los años 1845–1860, que se creyó era causado por tejidos vegetales acuosos debidos a lluvia excesiva, la roya del cafeto se atribuyó a fertilización incorrecta, a suelos no aptos o a métodos de cultivo inadecuados. Aún hoy día persisten estas ideas. Aunque es cierto que existen muchos casos en que un ambiente adverso facilita el ataque de un hongo, hay también muchos en los cuales los factores ambientales son óptimos para el cultivo de una planta útil, pero que al mismo tiempo son especialmente favorables para el desarrollo de enfermedades. Esto es definitivamente cierto tratándose de *Coffea arabica* y su roya.

Las investigaciones de Ward pusieron de manifiesto la necesidad de un control químico y aunque el tratamiento que él diseñó no fue suficientemente efectivo, sus ideas sirvieron de base para desarrollar el control químico eficaz de enfermedades de las plantas.

Los efectos tan graves de esta enfermedad pueden apreciarse rápidamente cuando tomamos en cuenta que antes de aparecer en Ceilán, alrededor de 1869, este país era uno de los principales países caficultores del mundo y que actualmente es difícil encontrar cafetos creciendo allí.

La importancia de la roya puede también desprenderse del volumen de su bibliografía, compilada por Stevenson y Beam* en 1963, la cual contiene aproximadamente 1000 entradas, y año tras año hay muchas nuevas adiciones a esta lista. Afortunadamente, el autor considera que solamente un número limitado de ellas merecen citarse en la presente publicación.

* Nota del traductor: Véase también: Royas del cafeto (*Hemileia vastatrix* spp.). Bibliografía. Biblioteca Conmemorativa Orton. Bibliografías No. 1. Suplemento Especial. 1970. 108 p. (Incluye más de 1200 citas bibliográficas).

La enfermedad ha recibido varios nombres en inglés, tales como 'coffee leaf disease' (enfermedad de la hoja del cafeto), 'coffee leaf rust' (roya de la hoja del cafeto), 'orange rust of coffee' (roya anaranjada del cafeto), 'common rust of coffee' (roya común del cafeto), 'oriental rust of coffee' (roya oriental del cafeto), '*Hemileia*' (*Hemileia*), 'red spot' (mancha rojiza), etc. Para simplificar, se utilizará el término 'roya del cafeto', y a la mucho menos frecuente enfermedad causada por *Hemileia coffeicola* se le designará 'roya gris del cafeto'.

Los nombres en otros idiomas son:

Francés:

Rouille des caféiers, rouille vraie des caféiers, maladie de l'*Hemileia*, *Hemileia*

Holandés:

Koffie—bladzichte

Alemán:

Blattfleckenkrankheit der Kaffeebäume, Kaffeblattkrankheit

Portugués:

Ferrugem alaranjado do cafeeiro

Español:

Herrumbre del café, roya del café

Italiano:

Ruggine del caffè

SINTOMATOLOGIA

La roya del cafeto es causada (Berkeley 1869, Ward 1882c) por *Hemileia vastatrix* B. & Br., un hongo que pertenece a la familia de las pucciniáceas de las uredinales, la cual incluye también las bien conocidas royas de los cereales. El hongo produce manchitas redondeadas, amarillo-anaranjadas y polvoriantas en el envés de las hojas. Al comienzo, el área afectada por una sola infección tiene un diámetro de unos 3 mm y es aproximadamente circular, pero gradualmente aumenta el tamaño hasta 2 cm o más y puede unirse con otras infecciones para formar una lesión más o menos irregular que a veces puede abarcar gran parte de la superficie foliar. Cuando la lesión se toca con el dedo, parte del polvo de esporas, de color amarillo-anaranjado, queda pegado en él. Si hay esporulación abundante, un ligero toque de la hoja puede hacer que una nube de esporas se desprenda. En los estados muy tempranos se nota sólo una mancha pálida, amarillenta, en el envés de la hoja. Esta mancha es translúcida y si se examina contra la luz pareciera deberse a aceite. Uno o dos días después de su primera aparición, la mancha toma un tinte anaranjado y la superficie se vuelve polvorianta y comienza la formación de esporas. Luego se hace visible gradualmente en el haz foliar como un área más amarillenta pero más pálida que en el envés, pero como no se producen esporas, su superficie no se vuelve polvorianta. Cuando las áreas de la hoja atacada por el hongo se hacen más viejas, su centro muere, se vuelve marrón oscuro y se seca. La formación de esporas en estas áreas muertas cesa y con frecuencia las esporas presentes tienden a volverse blancuzcas o grisáceas y pueden, en gran parte, desaparecer. Aún antes de que el tejido foliar se torne marrón, las esporas pueden aparecer más pálidas en la masa central de la lesión y pueden volverse hasta blancuzcas, sin tinte anaranjado. Nutman y Roberts (1963) han demostrado que el porcentaje de esporas con contenido hialino aumenta hacia el centro de la lesión y que la pérdida de color no se debe necesariamente al envejecimiento de las esporas *in situ*, pues al ser removidas puede producirse una nueva generación de esporas

hialinas. En tales áreas las fructificaciones de otros hongos, que estaban presentes en la hoja como infecciones latentes, pueden aparecer como manchas negras o pueden comenzar a desarrollar hongos saprofiticos. La pérdida del color amarillento—anaranjado típico de las esporas puede acelerarse con la presencia de un hongo blancuzco, parasítico, *Verticillium hemileiae* Bour. En etapas avanzadas del ataque, la mayor parte del área afectada muere y solamente de vez en cuando, cerca del margen, sobreviven áreas amarillento—anaranjadas portadoras de esporas.

La expansión lateral de la lesión la puede interrumpir completamente el nervio central (comúnmente) o una vena lateral (menos frecuentemente), pero a veces estas barreras apenas retardan la expansión de una lesión o tienen poco efecto. La apariencia exacta de una lesión puede variar de acuerdo con la variedad del cafeto, según su susceptibilidad. Tales variaciones pueden afectar el tamaño de las lesiones, la proporción del área que muere y el espesor de la capa de polvo formada por las esporas. A veces se puede apreciar una especie de zonificación circular de la parte amarillo—anaranjada de las lesiones.

Si la infección es fuerte, en los estados iniciales, la superficie entera de la hoja puede estar manchada por áreas pequeñas, amarillo—anaranjadas, sobrepuestas de diferentes maneras. Aun cuando haya solamente pocas infecciones, éstas pueden expandirse si la hoja sobrevive suficiente tiempo, hasta que gran parte de la hoja muere. Cuando hay áreas grandes de la hoja infectadas por la enfermedad, las áreas adyacentes, no atacadas, también pueden secarse y morir, afectando con frecuencia la hoja entera. En tales casos, poco tiempo antes de que las hojas se sequen por completo y se vuelvan color marrón, y también en las que se caen por cualquier otra razón, los bordes de las lesiones frecuentemente están rodeados por una orilla verdosa, deslindándolas de las regiones amarillentas o marrones circundantes, no atacadas.

Aun cuando sólo haya unas pocas lesiones, la vida de la hoja a menudo se reduce mucho y puede caerse a edad temprana. Como consecuencia de esto y de la abscisión de hojas muy atacadas, un árbol atacado severamente puede perder gran parte de su follaje, lo que a su vez puede conducir a un paloteo (“die-back”) más o menos pronunciado de sus ramas. Este efecto depende del clima reinante en ese momento, de la cosecha que produce el árbol y de la cantidad de sus reservas de carbohidratos. Si hubiera una reducción grande del crecimiento, gran parte de la cosecha quizás no podría madurar o los granos se tornarían más livianos o se volverían negros.

Según Morris (1879a), en Ceilán el primer ataque frecuentemente parecía ser el más fuerte, pero después los árboles producían hojas sanas y parecían recuperarse completamente. Sin embargo, unos pocos meses más tarde, los árboles volvían a ser atacados y el proceso se repetía hasta que el estado general resultaba seriamente afectado y su capacidad de producir nuevos crecimientos después de un ataque se reducía más y más cada vez. Los árboles se volvían más delgados, tenían un aspecto enfermo y se reducía seriamente su capacidad de producir madera nueva. Tales árboles estaban tan exhaustos que, aun cuando producían flores, había una falla parcial o total de la producción. Hoy día, el café se cultiva comúnmente en regiones donde la enfermedad es menos seria que en el caso de Ceilán y con poca frecuencia se ve un estado de agotamiento cada vez mayor.

Zimmermann reportó en 1904, que en Java, frutos de *Coffea liberica* pueden ser atacados a veces. Dio ilustraciones claras de haustorios que sin duda estaban localizados en el fruto y describió e ilustró, en colores, lesiones de color marrón claro y oscuro en los frutos, sobre los cuales se produjo una capa de esporas anaranjadas típicas de *Hemileia*. Cramer (1908) reportó observaciones similares hechas en frutos jóvenes de *C. liberica* en los jardines botánicos de Buitenzorg, que resultaron en la caída de los frutos. Más recientemente, Thirumalacher y Narasimhan (1947) también observaron fructificaciones del hongo en frutos de *C. liberica* en Bangalore; en Kenya, Firman (Coffee Research Station Ruiru 1968) observó frutos atacados de la selección de Tanganyika F-83 y de un híbrido Laurina x

Maragogipe. Se inocularon también frutos artificialmente y en algunos casos hubo esporulación como 11 días después, o sea un período más corto que en las hojas. Gopalkrishnan (1951) reportó la incidencia de fructificaciones en los haces de hojas y en pecíolos, aunque no está claro si fue una observación personal o no. Thirumalacher y Naransimhan han observado esporulación abundante en los cotiledones de plántulas nacidas espontáneamente y sugirieron que éstas podrían constituir una fuente de reinfección al final de la estación seca. Delacroix y Maublanc (1911) constataron que a veces aparecen lesiones en retoños jóvenes. Sin embargo, puede decirse que las fructificaciones del hongo en partes distintas del envés de las hojas constituyen una excepción.

EL HONGO

El hongo fue descrito por primera vez por Berkeley en 1869 (véase página 17), con base en muestras enviadas desde Ceilán; algunas observaciones adicionales fueron hechas por Abbay en 1878. Ward publicó los resultados de sus investigaciones detalladas en Ceilán en 1882(b) y desde entonces ha habido pocas adiciones de importancia. La siguiente descripción se basa en varias fuentes, pero principalmente en Ward (1882b), Delacroix (1911) y Roger (1951).

El micelio se encuentra completamente dentro del mesofilo y está principalmente confinado a las áreas de la hoja, donde los tejidos están descoloridos y cloróticos. Consiste de hifas hialinas en abundancia, de aspecto tortuoso y frecuentemente ramificadas en forma muy irregular; el diámetro de las hifas es bastante uniforme y oscila entre 5 y 6 μ . Chevaugon (1956), sin embargo, describe las hifas de muestras examinadas en la Costa de Marfil, como irregulares en diámetro, variando desde 2, 8 a 7 μ . Existen tabiques de vez en cuando, pero éstos están separados a veces por intervalos grandes, especialmente en las hifas que se extienden rápidamente. A veces el contenido de las hifas tiene una coloración anaranjada-rojiza. Las hifas crecen entre las células del mesofilo y penetran en ellas mediante ramificaciones cortas, filiformes, que terminan en expansiones ovales, reniformes o un poco irregulares, 7 a 8, 4 x 4, 5 μ (Chevaugon 1956), que contienen citoplasma denso con uno o dos gránulos refringentes. Estas expansiones constituyen los haustorios y se presume que sirven como órganos que absorben los alimentos. Generalmente hay uno o dos haustorios en cada célula hospedante, pero a veces existen en número mayor. Estos haustorios se tñen fuertemente con azul de anilina y otros colorantes. El micelio es más abundante en el parénquima esponjoso de la hoja y en las especies y variedades más resistentes de café queda confinado a esta parte del mesofilo. En las variedades más susceptibles, el micelio tiende a penetrar al tejido de empalizada y hasta puede enviar haustorios a las células de la epidermis superior.

Cuando las células del hospedante son invadidas, los cloroplastos se tornan gradualmente amarillentos. El contenido de las células afectadas se contrae y coagula en forma de una masa, la que gradualmente se descolora y torna más y más marrón; esta descoloración también se extiende hasta cierto grado a las paredes celulares. A veces el citoplasma desaparece y es reemplazado primeramente por un líquido acuoso y posteriormente por aire (Delacroix 1911).

Las hifas forman masas entretejidas de micelio, de apariencia coralina, en las cavidades subestomáticas. De estas masas un fascículo de filamentos finos (llamados "esterigmas" por algunos autores) crecen a través del poro del estoma. El fascículo se hace más grueso, pero raras veces rompe la epidermis en la región del estoma. Los filamentos divergen y se

expanden un poco al llegar afuera. Las ramificaciones que formarán las uredósporas* están llenas de un citoplasma grisáceo, de granulación fina; al llegar al exterior de la hoja se expanden para formar un saco ovoide, o sea la espora joven. Sacos similares se forman por segmentación más abajo y de esta manera se forma un ramillete de esporas jóvenes. Se intercala un tabique en la base de cada espora, la que está unida por debajo del septo mediante un pedículo angosto o esterigma al filamento esporulante. Cuando la espora está madura se separa fácilmente del pedículo. Cada espora, al comienzo, representa un saco sencillo, liso y de pared delgada, relleno de un citoplasma finamente granulado, en el cual se observa con frecuencia un corpúsculo semejante a un núcleo. Luego la pared se coagula, se forman papilas en la cara de la pared orientada hacia afuera del grupo de esporas formado en cada fascículo de filamentos; luego aparece una coloración anaranjada. Cuando el fascículo se hace más viejo, los filamentos se adhieren fuertemente entre sí, formando una especie de pseudoparénquima (plecténquima). Las esporas se producen en el lado y el ápice del cuerpo compuesto de este modo, que se torna en una protuberancia ovalada, cubierta por sus lados de pedículos cortos y truncados, de los cuales ya se han caído las esporas. La formación del plecténquima puede extenderse hasta las hifas internas o sea subestomáticas, las que se aprecian, después de remover la epidermis de la hoja, como cuerpos redondeados, oscuros y globosos, fijados debajo del estoma. Algunos de los miembros exteriores del fascículo de filamentos quizás no produzcan esporas y se denominan pseudoparáfisis. Toda la masa pseudoparenquimatosa debajo y encima del estoma se llama corrientemente soro. El área foliar, sobre la cual el hongo fructifica, está de esta manera recubierta por un número elevado de soros individuales y no es correcto referirse al área entera de la hoja, en la cual tiene lugar la esporulación, como un solo soro, tal como lo han hecho algunos autores.

A los filamentos individuales de un soro se les ha llamado "hifas esporógenas". Thirumalacher y Narasimhan (1947) los llamaron "esporóforos". Consisten de dos o tres células, una más o menos isodiamétrica debajo del estoma, una célula terminal elongada o claviforme, la que eventualmente puede llevar un número elevado de pedículos "esterigmas"; a veces existe una célula angosta y corta entre estas dos. Thirumalacher y Narasimhan han demostrado que todas estas células contienen dos núcleos; los de la célula terminal se dividen simultáneamente y los núcleos hijos de cada división simultánea pasan a las uredósporas.

Rajendren (1967), sin embargo, comprobó que las células del micelio en este estado, lo mismo que las de las hifas esporógenas, contienen cada una un solo núcleo diploide y que sólo en las primeras fases de la infección contienen dos núcleos haploides; la fusión de estos últimos ocurre probablemente algún tiempo antes de la iniciación de la formación de uredósporas. En las primeras fases de la formación de uredósporas él reportó que ocurre una división reductora (meiosis) y que se observaron parejas meióticas bivalentes típicas de cromosomas con quiasmas. Sin embargo, no sigue —como sería lo normal— una segunda división (mitosis), de modo que queda entonces, cada uredóspora con dos núcleos (haploides). Por no tener lugar la meiosis en otras royas durante la formación de uredósporas, sino solamente durante la formación de teleutósporas, Rajendren designó las uredósporas de la *Hemileia* "teliósporas uredinoides"; cada tubo germinal produce un "pseudopromicelio". Este investigador consideró que la segunda división, que normalmente sigue a la meiosis, se atrasa hasta que se ha formado el apresorio y éste contiene, como consecuencia, cuatro núcleos. Rajendren describió esto como la producción de "una clavija bífida" de infección, entrando en cada ramificación dos núcleos. Se considera que cada ramificación penetra en estoma separado. El clasifica un ciclo de vida que muestra el comportamiento de los núcleos de esta naturaleza como "tipo Kamat".

* Las royas pueden formar varios tipos de esporas. Las que después de la germinación pueden infectar otra vez la misma especie hospedante, para producir el mismo estado del hongo, son conocidas como uredósporas.

La forma de las uredósporas maduras varía un poco, según la posibilidad en la cual se forman. Generalmente son angostas y triangular-redondeadas en un corte transversal. La pared más corta (que generalmente queda orientada hacia afuera del grupo) es convexa a través del ancho de la espora y también, en menor grado, a lo largo. Las dos paredes laterales, que normalmente están en contacto con aquéllas de otras esporas del grupo son casi planas, con excepción del ápice y base de la espora, que son redondeadas. La forma es pues, muy similar a la de una nuez de Brasil o un gajo de naranja, pero más redondeada. A veces las uredósporas tienden a tener una forma piramidal. La parte más redondeada de la espora está densamente ornamentada con espinas pequeñas y erectas, 3 a 4 μ de largo, que tienden a ser más cortas y escasas hacia la parte lisa, aunque en la línea de demarcación existe una zona donde están más densamente apretadas. Las espinas son excrescencias de la gruesa capa exospórica. La naturaleza media ornamentada, media lisa de la espora es el detalle característico que condujo al nombre del género, hemi=medio, y leios = liso. La forma exacta y el espaciamiento de las espinas es bastante difícil de distinguir, aún cuando en el microscopio se use el máximo de luz. Existe una variación considerable en la manera en que diferentes autores las han descrito. Como la naturaleza exacta de la ornamentación de las esporas es de algún interés para entender cómo se comportan las esporas, a petición del autor el Dr. J. Hirst tomó en 1968 fotomicrografías, con el microscopio electrónico, de una muestra de esporas de Kenia, en la estación experimental de Rothamsted, mediante la técnica de replicación con carbono. Estas fotografías mostraron que las espinas son más cortas, más anchas y menos filosas de como generalmente se les describe; además, están más distanciadas. Se encontró que dichas espinas son cónicas, solamente 1 a $\frac{1}{2}$ μ altas, con la misma dimensión a través de su base; las puntas son redondeadas. Su distanciamiento es de 1 a 4 μ de centro a centro (véase figura de la portada). Estos hechos están muy en desacuerdo con la mayoría de las ilustraciones publicadas, las que por lo general muestran las espinas mucho más elongadas, menos espaciadas y con ápices muy puntiagudos.

El contenido de las esporas es granular y generalmente anaranjado; a veces contiene gotitas aceitosas de color anaranjado-rojizo intenso, pero otras veces el contenido es gris lechoso. Las dimensiones de las esporas son 25 a 35 x 12 a 28 μ (largo por ancho), con pequeñas diferencias entre las muestras. Por eso, Roger (1951) citó 28 a 37 x 18 a 21 μ para una muestra de Madagascar y 33,0 x 21,4 (28,6 a 38,1 x 19,0 a 23,1) y 31,1 x 20,1 (28,1 a 38,1 x 15,0 a 27,2) μ para muestras de Tonquín y Annam, respectivamente; Chevaugéon (1956) dio valores de 26,7 x 18,4 (20,5 a 32,3 x 10,2 a 23,5) μ para esporas recogidas en la Costa de Marfil.

Esporas nuevas se producen debajo de las ya formadas cuando no son perturbadas, formándose columnas irregulares de un ancho de varias esporas. Estas columnas están en contacto con otras producidas por fascículos vecinales, a veces con una, a veces con otra, de modo que se forma un retículo irregular de filamentos de esporas o para dar lugar a una costra esponjosa en la superficie de la lesión. Esta costra es muy inestable y una ligera agitación mecánica, tal como un toque suave de la hoja, haría que la estructura completa se desintegre en agregados de esporas de varios tamaños, que se desprenden de la hoja como una nube polvorienta (Rayner 1961a).

El número de uredósporas producidas es muy elevado. Ward contó 150.000 en una instancia en una sola lesión. El autor (Rayner 1961a), al golpear una lesión a intervalos de 2 a 3 semanas, logró liberar al aire un total de 366.100 esporas durante tres meses, desde el comienzo de la producción. Al final de este tiempo la lesión tenía un área de unos 272 mm² y 18 mm en diámetro. Alrededor de 50.000 esporas podían removerse adicionalmente mediante un lavado vigoroso al final de este período, dando un total de unas 416.000 esporas. La lesión bajo observación tenía una vida corta, pues una lesión puede permanecer activa hasta 5 meses. Por lo tanto, es de esperar que frecuentemente se produzca un número mucho mayor de esporas que en el caso estudiado.

Después de permanecer en el agua por algunas horas, las esporas se llenan de vacúolos esféricos de igual o desigual tamaño y de número variable. La germinación puede tener lugar en agua pura. En el envés de una hoja mojada, la germinación puede comenzar tan solamente en una hora. Generalmente hay en dos y a veces en cinco puntos equidistantes en que se forman poros germinales por el adelgazamiento del exosporio; entonces un tubo delicado de forma de dedo, con un ápice redondeado, sale por cada uno de los poros, con una ligera constricción en el punto de salida. El tubo es de diámetro uniforme de unas 4 μ . Por algún tiempo el tubo permanece sin ramificarse, pasando en él el contenido anaranjado y granulado de la espora; con frecuencia se aprecia un movimiento citoplasmático. Es posible que aparezcan vacúolos y glóbulos oleosos. Después pueden formarse ramificaciones; algunas de éstas permanecen cortas, otras se extienden considerablemente, pero el crecimiento total que puede producirse es limitado. Eventualmente, si acaso alguna parte del tubo germinal ramificado hace contacto con un estoma, se forma un apresorio. Este consiste de una vesícula ovoide o piriforme, en forma de saco. Casi todo el contenido coloreado de la hifa pasa al interior del apresorio, el cual puede estar separado mediante un tabique. A veces, si una espora germina cerca de un estoma, la hifa puede crecer en el interior del estoma sin que se forme un apresorio. En el lado inferior del apresorio se forma una protuberancia penetrante, la cual crece en el interior de la cavidad subestomática a través del ostíolo.

En el haz foliar, o en un portaobjeto, el crecimiento de los tubos germinales es menos vigoroso, pero se extiende y ramifica más. Es posible que se forme en este caso un apresorio, que puede producir uno o más procesos y hasta se puede desarrollar un apresorio secundario. Eventualmente todo se muere sin haber ocurrido la penetración. Según Ward (1882b), cuando la germinación ocurre en el haz foliar, del cual se ha eliminado la epidermis, el tubo germinal crece en el interior del mesofilo. El autor ha notado que en hojas inoculadas en su envés, las fructificaciones frecuentemente ocurren predominantemente en los puntos donde las hojas han sido rayadas (para efectos de indicar en cuál lado ha sido hecha la inoculación), lo que sugiere que las heridas ayudan a la penetración.

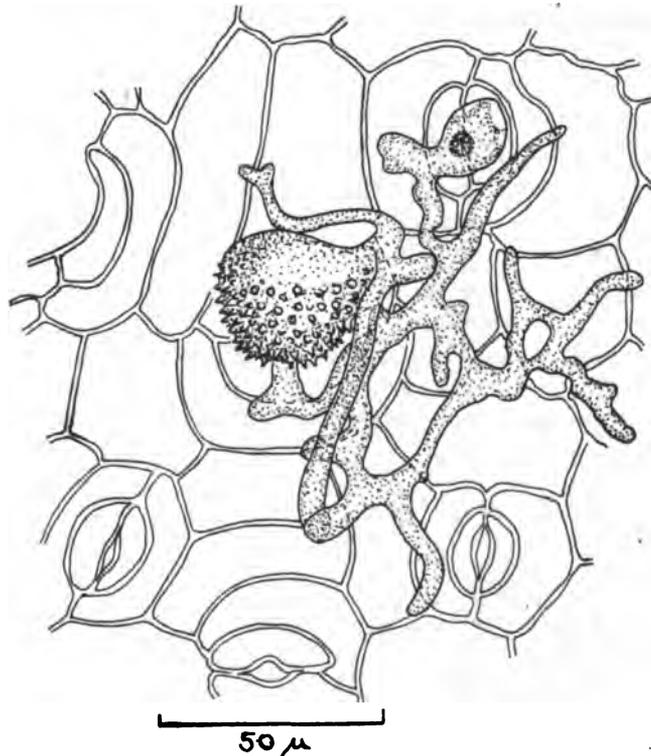


Figura 1. *Uredóspora germinando en el envés de una hoja de café, formando un apresorio sobre un estoma. La espora y la parte vieja del tubo germinal supuestamente fueron sostenidas originalmente por una gotita de agua, la que posteriormente desapareció,*

Una vez que la protuberancia penetrante ha llegado hasta la cavidad subestomática se produce un micelio ramificado. Las hifas son al principio muy delicadas, llenas de citoplasma finamente granulado, y un poco acortadas. Pronto se forman vacúolos, con una estructura más toscamente granulada; envían manojitos de ramificaciones cortas y gruesas hacia las células que limitan los espacios intercelulares; de uno a otro lugar salen hifas más rectas, de crecimiento más rápido, hacia diferentes direcciones. La ramificación es con frecuencia extremadamente regular. La fructificación comienza en el área donde comenzó la infección y la lesión se extiende centrífugamente desde este punto, formándose nuevos y recientes soros en el margen.

A veces hacia el final de la vida de un soro, y en consecuencia cerca del centro de una lesión vieja, se producen esporas de un segundo tipo, las teleutósporas o teliósporas. Estas son al principio similares a uredósporas jóvenes, pero se quedan más pequeñas y lisas, y toman una forma casi globosa. Este tipo de esporas tiene una forma bastante irregular cuando están completamente desarrolladas, pero generalmente tienden a ser esféricas, achatadas y hasta con forma de nabo, y tienen paredes gruesas. La parte central del extremo opuesto de una teleutóspora es un poco aplanado, de él sobresale frecuentemente una protuberancia redondeada. El contenido es granular y de un fuerte color anaranjado-rojizo. La teleutóspora está unida al soro mediante un pedículo corto; no hay poro germinal. Las esporas miden de 15 a 18 μ de longitud, incluyendo la protuberancia apical, y en su parte más ancha tienen un diámetro de 18 a 24 μ (Roger 1951). La germinación tiene lugar frecuentemente mientras la espora está todavía unida a su soporte, transformándose la protuberancia sobresaliente en un promicelio tubular, de seis a ocho veces el largo de la espora. El promicelio queda luego subdividido mediante tres, a veces cuatro tabiques transversales, para formar cuatro células casi iguales, recibiendo cada una de éstas parte del contenido anaranjado de la teleutóspora; por consiguiente, esta última se transforma en una cubierta vacía y transparente. Si se pone la teleutóspora a germinar debajo de un cubreobjeto en un portaobjeto, las células del promicelio pueden ser más elongadas y el promicelio encorvado y delicado; las células son aún más largas cuando germinan en sacarosa al 1 por ciento.

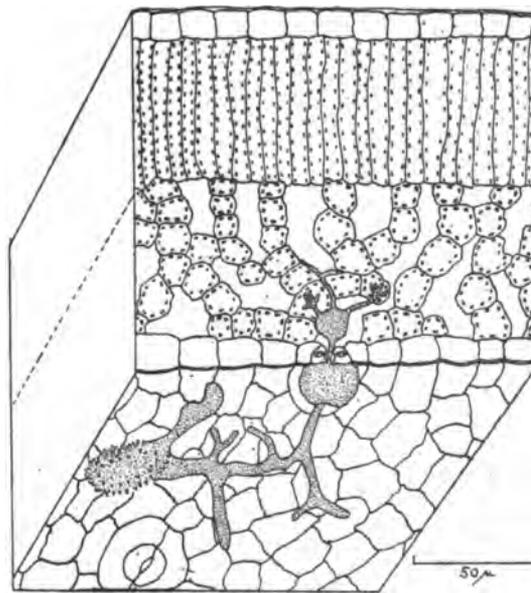


Figura 2. Una pequeña parte rectangular cortada de una hoja y vista como si estuviera inclinada hacia arriba para permitir ver tanto el frente (superficie cortada), como el envés. Se ilustra una uredóspora que germina y que forma un apresorio, del cual pasa una hifa de infección en el interior del mesofilo.

El promicelio queda subdividido por tabiques en menos de 18 horas desde el comienzo de la germinación, y completamente maduro entre 14 a 24 horas, cuando mide 65 a 80 x 8 a 10 μ si crece en su lugar original sobre la hoja, ó 125 a 195 x 8 a 10 μ en agua y 105 a 220 x 8 a 9 μ en sacarosa (Ragunathan 1924). Cada una de las células del promicelio emite normalmente un proceso sutil, el esterigma; el de la célula terminal representa una continuación de su ápice y los de las demás células se originan justamente por debajo del tabique. En cada ápice se produce un abultamiento pequeño, casi globular, la basidióspora; ésta recibe el contenido de la célula respectiva del promicelio. Los esterigmas son más largos cuando la germinación tiene lugar en agua o en sacarosa. Las basidiósporas se desprenden fácilmente de los esterigmas. Normalmente este tipo de esporas es de forma casi globular, pero pueden ser también de casi reniformes a globulares; están rellenas de citoplasma anaranjado-rojizo y granulado.

Thirumalacher y Narasimhan (1947) investigaron el comportamiento de los núcleos. Encontraron que se fusionan dos para formar un núcleo sencillo en la teleutóspora. Este núcleo se divide entonces dos veces, formándose cuatro núcleos hijos haploides, los que pasan, uno cada vez, en las cuatro basidiósporas. A veces éstas se tornan binucleadas después de otra división nuclear. Vishveshwara y Nag Raj (1960) han confirmado estos hechos; pero ellos observaron que las basidiósporas eran más frecuentemente binucleadas que uninucleadas y, a veces hasta plurinucleadas. La primera división del núcleo fusionado es una meiosis. Los autores citados observaron que frecuentemente ocurre una serie de anomalías durante el crecimiento del promicelio, tanto en la morfología como en las divisiones nucleares. Estas últimas fueron el resultado de divisiones nucleares tardías o la falta de sincronización de la formación de tabiques con la división, pudiéndose formar de tres a seis células por el promicelio. Algunas de estas células tienen en lugar de uno, dos o ningún núcleo. A veces se observaron células con un esterigma bifurcado o con dos. Basidiósporas binucleadas frecuentemente dieron lugar a tubos germinales binucleados. No se observó degeneración de núcleos como en algunas otras royas.

Las basidiósporas germinan prontamente en agua y a veces mientras están todavía unidas al promicelio. A veces se produce muy rápidamente un tubo largo, delicado, pero comúnmente se forma uno corto, obtuso, en forma de dedo, con un largo de unas cuatro veces el diámetro conídico. Este tipo de tubo luego se encoge y muere, ya sea que la germinación haya tenido lugar en un portaobjeto o en una hoja de café.

Presencia y Papel de las Teleutósporas

Las teleutósporas se producen solamente en raras ocasiones y no se conocen las circunstancias que dan origen a su formación. Estas esporas las observó por primera vez Abbay (1878) en material de Sumatra, pero él no entendió su naturaleza y fue Ward (1882b) quien por primera vez indicó su semejanza con las teleutósporas de las royas de los cereales. Ward las observó primero en marzo de 1880 en Ceilán y después en varias otras ocasiones. Desde entonces se han reportado teleutósporas en varios países: Java (Wurth 1910), Mysore, India (Mayne 1936), y en el Congo ex-Belga (Hendrickx 1939). El autor ha observado estas esporas en Kenia y están reproducidas en el libro de texto de Roger (1951), de material recogido en Madagascar. Ragunathan (1924) efectuó una intensa búsqueda de teleutósporas en Peradeniya, Ceilán, desde mayo de 1921 hasta abril de 1922, y confirmó su presencia en todos los meses, exceptuando agosto y octubre de 1921 y abril de 1922. Su ausencia en agosto y abril se debió al desarrollo de follaje nuevo, mientras que en octubre hubo lluvias fuertes. Aunque Ragunathan hizo anotaciones cuidadosas sobre precipitación pluvial y condiciones climáticas, no logró relacionar la formación de teleutósporas con ningún factor climático en particular; sin embargo, hizo hincapié en que como las teleutósporas se producen cuando hay un ataque fuerte de enfermedad y aparecen en fructificaciones viejas

de uredósporas, los meses en que abundan estas últimas determinan entonces cuándo será más probable encontrar teleutósporas; él las encontró en todas las especies de *Coffea* examinadas: *C. arabica*, *C. liberica* y *C. canephora*. Mayne (1936) indicó que comúnmente aparecen en lesiones viejas en Mysore (India) durante la estación seca. Thirumalacher y Narasimhan (1947) encontraron abundancia de teleutósporas en la misma región, principalmente de octubre a marzo. Hendrickx (1939) las encontró en Mulungu (Distrito de Kivu en el Congo ex-Belga) en lesiones viejas, de octubre a noviembre.

El papel de estas teleutósporas, si existe del todo, es desconocido. En otras royas que las tienen, las teleutósporas representan un medio ambiente en el cual el hongo puede persistir durante un período frío o seco, pues son más resistentes al frío o a la desecación que las uredósporas. Las teleutósporas producen basidiósporas tan pronto comienzan condiciones más favorables, y estas últimas pueden infectar de nuevo al hospedante. Más frecuentemente no es la misma especie de hospedante la que es infectada, sino una que no tiene parentesco y pertenece a otra familia o aun a otra clase. En este hospedante "alterno" se forma otro tipo de esporas, las ecidiósporas. Estas, a su vez, no pueden reinfectar a la especie de hospedante sobre el cual fueron producidas sino solamente a aquél en que se producen teleutósporas y uredósporas. En algunas royas el estado de ecidios produce otro tipo de esporas, la picnóspora. Así un máximo de cinco tipos de esporas y dos distintos hospedantes pueden estar incluidos en el ciclo de vida. En muchas especies de royas, puede ser que no se produzca ninguna de las distintas formas de esporas y la alteración de hospedantes puede o no tener lugar. Por lo tanto es posible que las basidiósporas (o aun las teleutósporas) de *Hemileia vastatrix* pueden estar capacitadas para reinfectar cafetos, aunque es más probable que sólo infecten algunas especies de hospedantes de otro parentesco. Es muy poco probable que sólo otro miembro de la misma familia (rubiáceas) sea infectado. Todas estas posibilidades han sido investigadas hasta cierto grado.

Ward (1882b) no pudo infectar *Coffea arabica* con basidiósporas en germinación: tampoco pudo infectar una serie de otras plantas incluyendo especies pertenecientes a los géneros *Hemileia*, *Tabernaemontana* y *Pavetta*, en los cuales se han observado fructificaciones de ecidios. Ecidiósporas provenientes de estos géneros tampoco infectaron *Coffea*. Ward sugirió pruebas adicionales con *Aecidium flavidum* y *A. pavettae* en *Pavetta indica* y *P. angustifolia*, puesto que estos últimos están muy relacionados con *Coffea*. Sydow y Butler (1906) describieron un ecidiomicete, *Aecidium nobile* Syd., en hojas vivas de *Coffea arabica* en Mysore (India) y sugirieron que éste podría ser un estado de *Hemileia vastatrix*. Sin embargo, este hongo nunca se volvió a encontrar y según Thirumalacher y Narasimhan (1947) la investigación del espécimen del herbario reveló que el hospedante era *Pavetta indica* y no *Coffea arabica*.

Mayne (1936) también intentó, sin éxito, infectar hojas de café con teleutósporas en germinación (las que naturalmente produjeron basidiósporas). Vishveshwara y Nag Raj (1960) mencionaron investigaciones similares hechas por Pole-Evans (1908) y Gyde (1932), pero el autor no ha podido encontrar mención de éstas en los trabajos originales. Razafindramamba (1958) reportó que una especie de *Ocimum* (labiadas), que se encuentra silvestre alrededor de cafetos (en Madagascar), está frecuentemente muy infectada con un ecidiomicete; pero intentos de provocar una infección (de café mediante ecidiósporas) resultaron negativos. Gopalkrishnan (1951) intentó infectar cafetos con los siguientes ecidiomicetes que aparecen en los hospedantes que se encuentran alrededor de cafetales, pero sin éxito: *Aecidium eleagni-latifoliae* y *A. sp.*, en *Randia dumetorum*, *Vangueria spinosa*, *V. infauta*, *Plectronia didyma*, *Pavetta indica*, *Dioscorea bulbifera*, *Tabernaemontana indica*, *Loranthus longiflorus*, *Strobilanthes dalhousianus*, *Selacia indica* y *Smilax sp.*

Como *Hemileia vastatrix* aparentemente se originó en Africa y probablemente en la región de Etiopía, sur de Sudán y Uganda, la búsqueda de un hospedante con ecidios tendría más oportunidades de éxito en Africa, especialmente en estas áreas. Según la ley de Tranzschel (ver entre otros Cummins 1969 y Tranzschel 1904) las teleutósporas de una especie microcíclica de un género simula el comportamiento del estado de ecidios de la especie macrocíclica de la cual se originó, y se encuentran en las plantas hospedantes con ecidios de la última. Como los hospedantes de las especies de *Hemileia* pueden agruparse en provenientes de rubiáceas y de orquidáceas, es posible que las últimas sean formas microcíclicas descendientes de padres macrocíclicos en rubiáceas; por lo tanto, si las últimas son realmente royas macrocíclicas no reconocidas, tendrían ecidios en las orquidáceas. Por eso debería emprenderse una búsqueda de hongos que producen ecidios en orquídeas en Africa y sus ecidiósporas deberían inocularse en *Coffea* spp., para verificar si son los estados ecídicos de *Hemileia vastatrix*. Sería interesante descubrir un estado ecídico que aunque probablemente no sea de mucha importancia para la epidemiología de la enfermedad (el hongo está capacitado para persistir, de año en año, en el estado de uredóspora), la existencia de un estado ecídico significaría una mayor capacidad de producir razas nuevas y se podría entender mejor la genética de la formación de nuevas razas. D'Oliveira (1954) indicó que en Mozambique, *H. vastatrix* ataca *Coffea racemosa* silvestre y que ésta es una especie decidua. Después de un período de defoliación se produce un nuevo brote de follaje, el cual quedará infectado con la roya en un estado muy temprano. Si no existiera otro hospedante en el cual el estado urédico pudiera persistir, esto significaría que la reinfección se debe a ecidios producidos en algún hospedante ecídico hasta ahora desconocido. Por eso recomienda la búsqueda de tal hospedante en este territorio.

Las investigaciones de Vishveshwara y Nag Raj (1962) sobre el comportamiento de los núcleos en el promicelio y basidiósporas, mostraron que sí ocurren anomalías y esto quizás podría indicar que las basidiósporas son de naturaleza degenerada y no son funcionales, habiéndose omitido el estado ecídico del ciclo de vida. Sea como fuere, lo cierto es que el hongo persiste normalmente de una estación a otra en el estado urédico, pues aunque su incidencia puede variar mucho de acuerdo con la estación, por lo general se pueden encontrar unas pocas fructificaciones en todo tiempo. Cuando éstas desaparecen completamente del área, la enfermedad podría tardar un tiempo considerable antes de reinvasar el área.

HONGOS EMPARENTADOS

El género *Hemileia* fue propuesto por Berkeley (1869) para la roya del cafeto, la cual le fue remitida por el Dr. Thwaites desde Ceilán. Este investigador citó como sus características más notables para su diferenciación, el modo de la esporulación estomática y las uredósporas característicamente reniformes, con la mitad verrugosa y la otra mitad lisa. El diagnóstico fue el siguiente:

“*Hemileia*, Berk. & Broome. Soros un poco circinados, hipofilos, desnudos; agregados diferenciados, no articulados, flexuosos. Esporas algo reniformes, al principio lisas, después granulado-verrugosas por un lado, unidas oblicuamente en la base mediante un punto pequeño, papiliforme”.

El diagnóstico más reciente es el de Cummins (1959):

“Espermatogonios y ecidios desconocidos. Uredios subepidermales en su origen, típicamente supraestomáticos, raras veces irrupentes; uredósporas nacen individuales en pedículos, en grupos sobre células basales; son típicamente asimétricas, con un lado plano o cóncavo y generalmente liso. Telios parecidos a los uredios de la especie; las teliósporas se

forman individualmente en pedículos, son unicelulares, generalmente más anchas, frecuentemente angulares o lobadas; de pared uniformemente delgada, poro germinal quizás no diferenciado, pared pálida; la germinación tiene lugar sin período de reposo; basidio externo”.

Géneros emparentados son: *Gerwasia*, *Zaghouania* (incluye *Cystopsora*) y *Blastospora*. Todos tienen soros parecidos, supraestomáticos, pero difieren debido a las uredósporas de forma simétrica. En *Gerwasia* sólo un filamento esporógeno pasa a través del estoma. Se han descrito más de 40 especies de *Hemileia*; pero el último estudio taxonómico de este género por Sydows (1912–15) identifica solamente a veintitrés. Todas son tropicales, mayormente de Africa o Asia; sólo de aproximadamente la mitad de éstas se han descrito las teleutósporas. En ningún caso se ha descubierto un estado ecídico. La mayoría de las especies de *Hemileia* atacan rubiáceas, cierto número de apocimáceas, unas pocas asclepiadáceas, oleáceas y orquidáceas; caparidáceas, euforbiáceas, araliáceas, verbenáceas, hipericáceas y dioscoreáceas son atacadas por una especie en cada caso (Gopalkrishnan 1951).

En la mayoría de los casos, las fructificaciones se forman en el envés del follaje del hospedante. Las diferencias morfológicas entre las especies descritas son frecuentemente muy pequeñas y podrían limitarse al tamaño de las esporas, o se refieren casi exclusivamente a diferencias entre hospedantes. Gopalkrishnan anotó:

“Frecuentemente lo que podría ser solamente un nuevo hallazgo para un área o una especie diferente de hospedante, se da como rango específico”. Después de ofrecer ejemplos, concluye: —“Estos incidentes indican que se ha dado un rango específico a lo que posiblemente sean razas fisiológicas, tal como se conocen en el caso de *H. vastatrix*”.

En tales circunstancias no sorprende que en el pasado existiera alguna confusión en relación a los límites específicos de *H. vastatrix*. Masee (1906) incluyó las formas en *Gardenia* y *Vangueria* en esta especie y sugirió que la aparición de *Hemileia* en *Vangueria infausta* y *V. latifolia* en Transvaal, Africa del Sur, constituiría una amenaza para la caficultura de esta área (Burt-Davy 1905). En pruebas de inoculación cruzada se encontró que formas del hongo de hospedantes de la familia de las rubiáceas, con excepción de *Coffea*, no atacaban al último género y viceversa. Pole-Evans (1908) encontró que *H. woodii* Kaler et Cooke en *Vangueria infausta* y *V. latifolia* y una especie en *Fadogia zeyheri* (*H. fadogiae* Syd.?) no atacaban *Coffea arabica*, como tampoco la roya del cafeto atacaba *Vangueria* spp. Una comunicación en el Kew Bulletin (1913) indicó que la identificación por Hennings de una roya en *Coffea ibo* como *H. woodii* fue un error, siendo la especie *H. vastatrix*. Gyde (1932) obtuvo resultados similares en el caso de *Vangueria infausta*, *V. pygmaea* y *Gardenia* sp., aunque en la última hubo sólo un caso bastante dudoso de una inoculación cruzada con éxito aparente.

Ward (1881) reportó que esporas de *H. vastatrix* de *Coffea* germinan en, y penetran, las hojas de *Canthium campanulatum*, pero aparentemente no continuó sus observaciones por un período suficiente largo como para determinar si ocurría o no esporulación. También intentó infectar café con la roya que ataca *C. campanulatum* (*H. canthii*), pero sin éxito.

Thomas (1924) reportó los resultados de pruebas de inoculaciones cruzadas con royas que atacan *Canthium* sp., *Vangueria spinosa* y *Randia uliginosa* como “no concluyentes”. Thirumalacher y Narasimhan (1947) llevaron a cabo pruebas con especies de *Hemileia* en *Gardenia thunbergiae* (*H. gardeniae-thunbergiae*, Maubl. & Roger), *Randia uliginosa* (*H. thomasi* Thirumalacher & Narasimhan), *Vangueria spinosa* (*H. woodii* Kaler & Cooke), *Plectronia parviflora* y *P. rheedii* (*H. canthii* Berk & Br.). Ninguna de estas *Hemileias* infectaba *Coffea*. Resultados similares fueron obtenidos por Gopalkrishnan (1951) con varias especies de *Hemileia* en hospedantes de rubiáceas en los alrededores de haciendas de café en Mysore, India.

El Centro de Investigaciones de las Royas del Cafeto en Oeiras, Portugal, reportó (1965) que pruebas de inoculación cruzada, llevadas a cabo en este Centro, demostraron que ninguna roya que ataca *Coffea* puede atacar otros hospedantes de rubiáceas fuera de *Psilanthopsis kapakata* Hirsch, una planta que es considerada por algunos autores como una especie del género *Coffea* (*C. kapakata* Hirsch). Tampoco se encontró que ninguna de las royas de estos hospedantes atacara *Coffea*. Por eso las formas en rubiáceas, con excepción de *Coffea*, deben considerarse patológicamente distintas de las últimas, aunque está en debate si éstas debieran considerarse especies distintas o solamente "Formas especiales". Thirumalacher y Narasimhan constataron que mientras que las teleutósporas de *H. vastatrix*, *H. woodii*, *H. canthii* y *H. gardeniae-thunbergiae* son principalmente casi de globosas a esféricas, en *H. vastatrix* hay también abundancia de esporas con forma de nabo. Esta última forma nunca se encuentra en las otras especies, siendo algunas de las esporas crestadas llamadas falcadas, triangulares o triangulares-tridentadas. *H. gardeniae-thunbergiae* difiere de *H. vastatrix* porque la infección es de un tipo de avance difuso, apareciendo los soros al mismo tiempo por todo el envés de la hoja, o sea que no comienza como una lesión redonda, pequeña, que gradualmente aumenta de tamaño, tal como sucede en la última especie. Además, los filamentos esporógenos "esporóforos" son más largos y las esporas más pequeñas (26 a 30 x 18 a 24 μ). *H. woodii* produce el mismo tipo de infección que *H. gardeniae-thunbergiae*. Los filamentos esporógenos son mucho más largos que en las otras especies (35 a 60 μ). Después de envejecer las células del micelio en la cámara subestomática tienden a aumentar de tamaño, a redondearse y pueden transformarse en uredósporas. En *H. canthii* esta tendencia es muy marcada y ambas, uredósporas y teleutósporas pueden encontrarse. En vista de estas diferencias morfológicas y la limitación a distintos hospedantes. Thirumalacher y Naransimhan consideraron que los tres taxones constituyen especies distintas de *H. vastatrix*. Además ellos describieron como especie nueva *H. thomasi* que se encuentra en *Randia uliginosa*.

Debe hacerse hincapié en que varios autores han incluido bajo *H. vastatrix* taxones que se encuentran en otros hospedantes de rubiáceas; *H. canthii* fue incluida por Masee (1906), *H. gardeniae-thunbergiae* por Masee (idem), Sydow (1912-1915). Hendricks (1948) y Doidge (1926 y 1950), y *H. gardeniae-floridae* por Sydow (1912-1915) y Yoshinaga (1913). Gopalkrishnan (1951) investigó la morfología de los soros que aparecen en este género y distinguió tres tipos:

1. El tipo subepidérmico, tipificado por *H. evansii* Syd. Fascículos de hifas forman una capa basal de células angulares en la cavidad subestomática. Esto empuja la epidermis hacia arriba, destruyendo las células oclusivas y algunas adyacentes. Los filamentos se ramifican y producen uredósporas.
2. El tipo supraestomático A, tipificado por *H. vastatrix*. Uno o más filamentos de hifas crecen a través del ostíolo y producen uredósporas fuera del hospedante; las células oclusivas no son destruidas. En *H. woodii* y *H. canthii* eventualmente células dentro de la cámara subestomática pueden hincharse y producir uredósporas dentro del hospedante.
3. El tipo supraestomático B, tipificado por *H. jasmini* K. & R. No existe una masa entrelazada de hifas desarrollada en el espacio subestomático como en los dos tipos anteriores. En su lugar crece desde el micelio intercelular en contacto con las células de hospedante una sola hifa (a veces más), hacia cada cavidad subestomática, donde forma una estructura bulbosa grande con un contenido denso que puede ser tejido intensamente. Esta estructura desarrolla un manojo de hifas verticales, que atraviesan el ostíolo y producen esporas en sus ápices; o se forman "células basales" especializadas, que llevan numerosas esporas. Además, los haustorios son en este grupo mucho más ramificados y llenan las células del hospedante completamente.

Algunas especies tienen soros que son intermedios entre los tipos subepidérmicos y supraestomático. También existen tres tipos de infecciones:

1. Un tipo que se extiende difusamente, en cuyo caso toda la hoja queda invadida por el micelio antes de que tenga lugar la esporulación. Como resultado, toda la superficie inferior queda entonces recubierta de soros individuales, lo que proporciona un aspecto polvoriento. Este tipo es típico, pero no confinado, al grupo supraestomático "B". Lo muestran *H. jasmini* K. & R., *H. hansfordii* Syd., *H. scheffleri* Syd., y *H. coffeicola* Maubl. & Roger.
2. Un tipo con pústulas compuestas de soros no coalescentes, comparativamente grandes, y de color ocre, es representado por *H. mysorensis* Thirum. & Gopal, y *H. evansii* Syd.
3. El tipo que presenta *H. vastatrix*, en el cual un número elevado de pústulas se juntan para formar una mancha circular que aumenta centrífugamente con la aparición de soros jóvenes en el borde y muriendo la parte central.

Solamente en el último tipo se aprecia mucho la infección en el haz foliar, haciéndose notoria un área amarilla marcada, la que corresponde al lugar de la infección.

Una segunda especie de *Hemileia* que ataca *Coffea*, o sea *H. coffeicola* Maublanc & Roger, fue reportada de Camerún, Africa Occidental, en 1934 y desde entonces se ha encontrado que existe más extensamente. Difiere de *H. vastatrix* en una serie de características. Las diferencias principales son: el soro se forma de manera diferente (véase anteriormente), los haustorios tienen forma distinta, las uredósporas son más cortas y más anchas con una mayor parte de su superficie recubierta de protuberancias y la infección es del tipo que se extiende difusamente. Es claramente distinta de *H. vastatrix*.

HOSPEDANTES

Como algunos autores han incluido bajo *H. vastatrix* especies (o formas) que atacan géneros de rubiáceas distintas de *Coffea*, éstas han aparecido a veces en la lista de hospedantes que se han publicado para este hongo. Sin embargo, por no existir evidencia alguna de que estas especies atacan también *Coffea*, es conveniente, por lo menos para el presente trabajo, considerarlas como especies distintas.

Todas las especies cultivadas de café son atacadas en mayor o menor grado. Además, un número de especies silvestres de *Coffea* también es atacada en condiciones naturales. La lista siguiente se ha compilado mediante un estudio de la literatura. Se han incluido referencias sólo en relación a las especies menos estudiadas y solamente uno o dos cuando hay varias disponibles.

- C. abeokutae* Cramer. D'Oliveira 1954-57.
- C. arabica* L.
- C. bengalensis* Roxb. Trimen 1893, Petch y Bisby 1950.
- C. canephora* Pierre ex Froehner (incluye *C. robusta* Linden).
- C. congensis* Froehner. Sydow 1912-15.
- C. dewevrei*. De Wild (incluye *C. excelsa* A. Chev.) Tharin 1913.
- C. eugenioides* S. Moore. Hansford 1937.
- C. excelsa* A. Chev (incluido por algunos autores bajo *C. dewevrei* De Wild). Sydow 1912-15. Hansford 1937.
- C. ibo* Froehner. Sydow 1912-15.

- C. laurentii* De Wild (sin *C. canephora* Pierre ex-Frohner) Hendricks 1948.
- C. laurina* Hort. (= ? *C. arabica* x *C. mauritiana* Lamark). Sydow 1912-15.
- C. liberica* Bull. ex-Hiern.
- C. madurensis* Cramer 1908.
- C. myrtifolia* Hendricks 1948.
- C. racemosa* Lour. D'Oliveira 1954-57.
- C. robusta* Linden (incluido bajo *C. canephora* Pierre ex-Broehner).
- C. stenophylla* G. Don. Sydow 1912-15, D'Oliveira 1954-57.
- C. travancorensis* Wight. et Arn. Sydow 1912-15. Narasimhaswamy *et al* 1963 (pero pareció ser una raza a la cual *C. arabica* no era susceptible).
- C. wightiana* Wall. Narasimhaswamy *et al* 1963 (raza I de D'Oliveira).

El Centro de Investigaciones de la Roya del Cafeto en Oeiras (Portugal) ha probado la resistencia de un número considerable de especies a inoculaciones artificiales bajo condiciones de invernadero. Sus resultados se resumen a continuación de acuerdo con el Informe de Progreso (Coffee Rust Research Center, 1965). La susceptibilidad a una serie de razas fisiológicas frecuentemente se probó en más de una planta de la misma especie, pero de diferentes variedades u orígenes:

- C. abeokutae* Cramer. Se encontró que existen tantos clones susceptibles como inmunes.
 - C. arabica* L. Todos los clones mostraron susceptibilidad a ciertas razas.
 - C. canephora* Pierre ex Froehner. Se encontró tanto clones susceptibles como inmunes.
 - C. congensis* Froehner. Incluyó clones susceptibles como inmunes.
 - C. dewevrei* De Wild (incluye *C. excelsa* A. Chev.). Incluyó clones inmunes como susceptibles.
 - C. eugenioides* S. Moore. Comprendió clones inmunes y susceptibles.
 - C. excelsa* A. Chev. Véase bajo *C. dewevrei*.
 - C. kivuensis* Lebrun. Clones susceptibles y resistentes.
 - C. liberica* Hiern. Algunos clones fueron variadamente susceptibles a diferentes razas y algunos fueron inmunes.
 - C. racemosa* Lour. Susceptible a todas las razas.
 - C. robusta* Linden. Véase bajo *C. canephora*.
- Narasimhaswamy *et al.* (1963) encontraron que *C. bengalensis*, *C. travancorensis* y *C. wightiana* son susceptibles a las razas I y VIII de D'Oliveira.

Como puede apreciarse en estas listas, las principales especies cultivadas de café han sido reportadas todas como susceptibles de ataque en el campo, pero que existen al mismo tiempo en todas, menos en *C. arabica*, clones resistentes al ataque de todas las razas del hongo que tenía a su disposición en ese momento D'Oliveira. A pesar de que todas las especies pueden ser infectadas en el campo, la severidad del ataque varía considerablemente. Es bien sabido que *Coffea arabica* sufre mucho más que las otras especies, aunque a grandes alturas esta especie sufre muy poco. Con un descenso de altura y un aumento de la humedad atmosférica el ataque se hace más y más severo, hasta que al faltar medidas de control el árbol apenas puede sobrevivir y difícilmente dar cosecha. Desde hace tiempo se ha observado que bajo condiciones en que *Coffea arabica* es muy atacado, *C. liberica*, *C. dewevrei* y los Robustas, aunque frecuentemente contraen la enfermedad, son afectados mucho menos seriamente. Según David (1928) en las Filipinas *C. arabica* sufrió muy severamente, *C. liberica* mucho menos, mientras que *C. canephora* se mantuvo intermedio. En Uganda el café Robusta sufre mucho menos cuando es atacado por la roya que el arábigo, hasta el punto de que actualmente *C. arabica* sólo se cultiva en pocas localidades, donde el ataque de la enfermedad es menos severo. Snowden (1922) reportó que algunas variedades de café Robusta son considerablemente afectadas por la enfermedad. *Coffea congensis* var. *chalottii* mostró una resistencia apreciable. Tanto *C. liberica* como *C. excelsa* fueron muy resistentes. En Coorg, India del Sur, Thomas (1929) anotó que mientras que la forma de *C. arabica* comúnmente cultivada ahí fue muy susceptible, el café Robusta fue casi inmune y el café

Liberica muy resistente. Venkátarayan (1946) señaló *C. liberica* como menos severamente atacado que café Robusta y *C. congensis* como resistente. En Java, en Buitenzorg, Cramer (1908) reportó que aunque *C. arabica* era atacado muy severamente, *C. liberica* sufría mucho menos. Sin embargo, existía una variación considerable, siendo algunos árboles de *C. liberica* tan severamente atacados que estaban prácticamente defoliados. El Café Robusta era atacado con regularidad, pero parecía no sufrir.

C. abeokutae estaba casi libre de la roya y árboles adyacentes a los cafetos severamente atacados de tipo Libérica crecieron sin la enfermedad. *C. stenophylla* también estaba casi libre de la roya y *C. congensis* completamente. *C. excelsa* era severamente atacada, igual que *C. bengalensis* y *C. madurensis*.

RESUMEN HISTORICO

La historia del ataque de la roya del cafeto en Ceilán en 1869 constituye una de las páginas más importantes y significativas de la historia, tanto de la patología vegetal como de la agricultura tropical en general. Mucho se ha escrito al respecto, pero indudablemente la exposición de Large en su libro "The Advance of the Fungi" es una de las más amenas de leer y el autor reconoce con agradecimiento esta fuente de información.

El café había sido introducido en Ceilán por los árabes en el siglo trece y nuevamente por los portugueses poco antes de 1600. Los holandeses comenzaron cultivos serios de esta planta alrededor de 1658. En 1690 las plantaciones prosperaron y con el tiempo Ceilán se convirtió en el mayor productor del mundo.

No existe ningún registro confiable de ataques de *Hemileia vastatrix* antes del año 1869, aunque se había recolectado intensivamente la flora fungosa de Ceilán y se habían anotado más de mil especies. En mayo de este año se observó una roya (Abbay 1878, Morris 1879a) en unos pocos árboles de una hacienda en Madulsima, un distrito cafetalero recientemente abierto en la esquina sureste de la zona montañosa de Ceilán, lindando con terreno de bajura. En julio fueron atacados de dos a tres acres.

John Ferguson en "Uva revisited", descripción de la inauguración de la provincia de Uva, informó por primera vez del brote de roya, con base en una conversación larga con Donald Reid, quien era entonces supervisor de la hacienda de Galoola, propiedad de Keith MacLennan:

"Fue aquí en Galoola donde a comienzos de 1869 Reid notó por primera vez las hojas amarillentas y polvorientas en su café. Envío algunas de esas hojas en una carta al Sr. MacLennan, pidiendo su opinión sobre lo que le parecía un enemigo nuevo y problemático. Las hojas fueron enviadas al Sr. Thwaites (q.d.d.g.) de Peradeniya, quien de inmediato señaló que positivamente se trataba de un enemigo peligroso — un hongo nuevo, el cual, si se descuidaba se extendería con seguridad a todo el café del país, y sugirió medidas rápidas como recolecta y quema de todas las hojas afectadas. Estas instrucciones se siguieron en Galoola durante algunas semanas, hasta que el Sr. Reid informó a su propietario que a menos que estuviera dispuesto a duplicar el grupo de peones y mantener sus árboles permanentemente despojados de hojas, sería inútil el tratar de mantener al enemigo bajo control".

La infección se extendió con notoria velocidad a otros distritos, atacando árboles jóvenes y viejos por igual, hasta que en 1873 ya casi no existía una hacienda libre de la enfermedad. Si se puede confiar en las observaciones de un caficultor, G. F. Halliley (1883), la enfermedad ya estaba presente poco antes de 1869; indicó haberla visto en una hacienda cerca de Gampola, poco antes de la Navidad de (1963), y nuevamente en la hacienda de Gelgodde en 1866, cuando ocurrió un ataque relativamente severo, pero del cual el café se recuperó rápidamente. El no volvió a notarla hasta agosto de 1869, cuando se presentó la enfermedad en unos cafetos abandonados en la hacienda Hope. Al principio se creía que era solamente una enfermedad pasajera debido a alguna peculiaridad del clima y esta creencia fue respaldada por su desaparición hacia el comienzo del monzón lluvioso; pero reapareció al iniciarse otra vez el tiempo seco. En algunos distritos todos los vestigios desaparecieron a veces y la defoliación que había causado fue prontamente compensada por un vigoroso follaje nuevo. Pero a su debido tiempo regresaría la roya y, al continuar los ataques, los árboles se volvieron más y más débiles, haciéndose la subsiguiente producción de follaje nuevo menos y menos vigoroso; comenzó el paloteo y las cosechas se volvieron más y más pobres. El tratamiento con abonos sirvió para favorecer la producción de follaje nuevo, pero después de varios ataques su efecto se hizo menos y menos notorio.

El Dr. Thwaites, quien era director del Jardín Botánico Real en Peradeniya, Ceilán, envió material de este hongo al Reverendo M. J. Berkeley, un micólogo taxónomo de renombre, quien estaba bien versado sobre los hongos de Ceilán, quien lo reportó como algo bastante nuevo, a tal grado que hasta el género le fue desconocido, habiendo creado uno nuevo para acomodarlo. En noviembre de 1869 él publicó una descripción del hongo en "The Gardner's Chronicle" junto con ilustraciones por el Sr. Broome, La descripción es la siguiente:

"*Hemileia vastatrix* Berk y Br., forma manchitas pequeñas blanquecinas y orbiculares en el envés de la hoja que consisten en ramilletes diminutos de hilos flexuosos, llevando en sus extremos una sola espora, casi reniforme, fijada oblicuamente en su base; por afuera la espora es áspera debido a papilas verrugosas, bastante lisa por el lado más cercano a los agregados. La parte superior de la hoja, sobre las manchas, parece como quemada."

Su descripción del nuevo género ya ha sido reproducida anteriormente (véase p. 11); él pensaba que era intermedio con respecto a su posición entre los mohos y los mildews. Refiriéndose al micelio dentro del tejido foliar, él creía que la enfermedad sería difícil de controlar y sugirió espolvoreamientos con azufre o aspersiones con soluciones azufradas, tal como se usaban en esos tiempos en los jardines de lúpulo contra el mildew.

Al principio se prestó muy poca atención a la enfermedad, y los caficultores creían que debido a su desaparición periódica, era solamente una visita pasajera que podría desaparecer tan misteriosamente como había llegado. Sin embargo, gradualmente se hizo obvio que el promedio del rendimiento decrecería. Abbay (1878) presentó promedios trianuales, lo que demostraban que la cosecha decrecía marcadamente:

1866-68	4,28 cwt/acre (537 kg/ha)
1869-71	4,54 cwt/acre (570 kg/ha)
1872-74	2,93 cwt/acre (368 kg/ha)
1875-77	2,98 cwt/acre (374 kg/ha)

La pérdida anual fue estimada en 2.000.000.

En 1869-70, antes de generalizarse la roya, se exportaron 1.009.206 cwt (aproximadamente 513.000 toneladas métricas) de café, mientras que en 1876-77, cuando unas 52.000 acres (21.000) ha) adicionales de café comenzaban a dar cosecha, sólo 797.763 cwt (aproximadamente 405.000 toneladas métricas) fueron exportadas (Morris 1879a).

La primera investigación científica de la enfermedad la llevó a cabo el Reverendo R. Abbay durante su residencia de varios años en Ceilán y el Dr. Thwaites también efectuó algunas investigaciones en esta época. Thwaites pensó primeramente (Morris 1879a) que el hongo estaba presente dentro del tejido hospedante en forma difusa y sugirió que la materia infecciosa era absorbida por las raíces de los cafetos y luego pasaba a través de la planta hasta llegar a las hojas. Esta idea la concibió al observar que un árbol defoliado y espolvoreado con azufre y cal, producía nuevas hojas que prontamente mostraban síntomas de la roya (Thwaites 1874). Sin embargo, experimentos hechos durante los años 1873 y 1874 por Thwaites y Abbay le indujeron a abandonar este punto de vista. Ellos encontraron que masas de esporas, cuando se cultivan sobre carbón vegetal mantenido constantemente húmedo, daban como resultado filamentos ramificados que producían cadenas de esporas secundarias que se asemejaban a las de *Aspergillus*. Esta fue una de las primeras ocasiones para la observación errónea, seguida por muchas otras, que oscurecieron la verdadera naturaleza de la enfermedad y aún hoy día tenemos que desechar algo de esto. Los filamentos que ellos observaron, en su mayor parte debieron haber pertenecido a algún hongo de contaminación, probablemente a un moho que produjo sus esporas en cadenas, pero que no tenía nada que ver con la roya.

Abbay publicó sus resultados en 1879. Evidentemente él estuvo fuertemente influenciado por los trabajos nuevos sobre mildews, especialmente sobre *Phytophthora infestans* que causa el tizón de la papa. Por esa razón él interpretó las uredósporas de la roya del cafeto como “esporangios” que contenían las esporas en su interior. Estas “esporas” eran probablemente los glóbulos aceitosos dentro de las uredósporas, que salen cuando se rompen las paredes de las esporas mediante presión sobre el cubreobjeto, bajo el cual fueron colocadas para su observación. Él aun observó germinación de sus “esporas” muy probablemente otra vez debido a una confusión con el crecimiento del hongo que produjo la contaminación. Pero él indicó que a veces germinaron *in situ* y esto podría haber sido una verdadera germinación. Él encontró que la cavidad subestomática contenía un cuerpo oscuro, redondeado, del cual un crecimiento delgado pasaba por el estoma para producir esporas sobre la superficie exterior de la hoja; aparentemente él no podía discernir su estructura, aunque observó hilos de micelio irradiando de él hacia el interior de la hoja. El “cuerpo oscuro” de Abbay probablemente era la parte basal del soro.

Tanto Abbay como Thiselton Dyer, quien era director de los jardines botánicos reales de Kew en esta época, consideraron la enfermedad como muy seria, probablemente conduciendo hacia el fin de la caficultura en Ceilán. Esta idea fue confirmada con sorprendente prontitud por el curso de los eventos, aunque fue muy impopular entre los caficultores de Ceilán en esa época. Tan tarde como 1878 la Cámara de Comercio protestó vigorosamente contra esta opinión (Alexander 1878).

La enfermedad fue encontrada en la India por primera vez un poco más tarde en el mismo año en que fue descubierta en Ceilán. En 1876 apareció en Sumatra y Java, en 1878 en Natal, Africa del Sur, y en 1879 en las Islas Fidji. Cada vez se tornó más seria y el Gobierno de Ceilán, muy inquieto por esta tendencia, instaló una comisión de investigación en 1879 y apeló a los jardines botánicos reales de Kew para que investigadores entrenados estudiaran la enfermedad. Era demasiado tarde, y los investigadores llegaron justamente a tiempo para asistir al *post mortem* de la caficultura, la principal industria de la Isla. David Morris llegó primeramente, pero desafortunadamente fue despistado por los trabajos anteriores de Abbay y Thwaites. Él examinó la superficie de cafetos y encontró que había hilos de micelio en todas partes. Habiendo observado que los hilos similares tenían su origen en masas de esporas, mantenidas húmedas, sobre la superficie foliar, él se imaginó que representaban una fase vegetativa del hongo que se extendió ampliamente sobre la superficie de la planta. Morris concluyó que este retículo crecía encima de los árboles durante el tiempo caliente y húmedo de las lluvias del monzón, obteniendo los nutrimentos al enviar hifas a través de los estomas al interior del mesofilo. Al comenzar la estación seca y adversa, se imaginó que este

evento inducía a la fructificación del hongo, siendo las esporas (o esporangios como Morris las llamó) producidas en los lugares en que el micelio había penetrado la hoja. Como él consideró que este micelio se mantenía completamente superficial durante diciembre y los primeros meses del año, insistió que ésta era la época para aplicar tratamientos químicos. El siguió la sugerencia de Berkeley y experimentó con espolvoramientos con una parte de azufre sublimado y dos de cal. Al observar el retículo del micelio después del tratamiento con el polvo, se alegró verlo quebrantado, desintegrado y muriéndose. Estos aspectos están detalladamente ilustrados en un artículo de Thiselton Dyer (1880). Pruebas del tratamiento de Morris en diversas haciendas parecieron proporcionar un control útil de la enfermedad; Morris continuó abogando fuertemente por su uso hasta su salida de Ceilán, después de ser nombrado director de los jardines botánicos de Jamaica. Su salida en julio de 1879 provocó una ola de protesta entre los caficultores, que le alabaron mucho por cuanto el consenso general era que él había encontrado la curación de la enfermedad y ellos querían que él continuara sus investigaciones. Trabajos posteriores no confirmaron sus resultados en cuanto que el azufre provee un buen control aunque podía tener algún efecto, especialmente como en su caso, él había escogido, como resultado de un razonamiento erróneo, una época para la aplicación que investigaciones posteriores comprobaron que era particularmente propicia.

Morris (1879d) editó una compilación de reportes y cartas, las que aparecieron en el "Ceylon Observer", dando a la obra el título de "The campaign of 1879 against coffee leaf disease" (La campaña del año 1879 contra la enfermedad foliar del cafeto), con un lugar destacado para el tratamiento de azufre-cal. El también escribió un libro "The coffee leaf disease of Ceylon and Southern India" (La enfermedad foliar del cafeto en Ceilán e India del Sur), del cual existe una copia en la biblioteca del Instituto Micológico del Commonwealth, pero que según Stevenson y Beam (1953) nunca fue realmente publicado. Como el libro contiene numerosas correcciones a mano, podría constituir una copia encuadernada de las pruebas de impresión y posiblemente fue retirado de la publicación debido a los resultados posteriores de Ward, radicalmente diferentes.

Morris fue reemplazado al comienzo de 1880 por Marshall Ward, quien era entonces un hombre joven, llegado directamente de sus estudios en Cambridge (Inglaterra), donde prestó especial atención a los hongos. En Ceilán él estudió las esporas que fueron atrapadas sobre portaobjetos suspendidos en los cafetos, encontrando una variación entre estas esporas y también en las de *Hemileia vastatrix*. Sin embargo, al germinar, las esporas de los otros hongos producían el mismo tipo de retículo micelial que Morris había observado, pero Ward concluyó que no tenía nada que ver con las esporas de la roya. Él observó la germinación de éstas cuando se las colocó sobre hojas de café y verificó que el tubo germinal producido creció hacia y a través de las estomas. Él infectó hojas de café mediante colocación de algunas esporas en una gota de agua en el envés de la hoja de café. Además colocó sobre la superficie foliar un pedazo de papel absorbente humedecido, con una perforación en su centro, de tal manera que la gota de agua quedaba en el centro del hueco; lo cubrió todo con un anillo de vidrio tapado con un cubreobjeto. El papel absorbente se mantenía húmedo mediante un pequeño chorrito de agua de un sifón que atravesaba la parte del papel que sobresalía del anillo de vidrio. De esta manera él demostró claramente que la producción de esporas tenía lugar solamente donde él había inoculado la hoja; él seguía el crecimiento del micelio en el interior de la hoja mediante cortes. La única parte del ciclo vital que se desarrolló externamente, fue el tubo germinal relativamente corto. Además Ward siguió el desarrollo de la enfermedad en el campo y mostró que concordaba con lo que él había encontrado en el laboratorio. Durante enero a marzo había tiempo seco y caliente y sólo pocas lesiones de roya se apreciaban. En abril comenzó la estación lluviosa y algunas lesiones aparecieron aquí y allá, principalmente en las hojas viejas. Con la continuación de las lluvias se produjeron lesiones jóvenes, aumentando su número al pasar los meses, hasta alcanzar un valor máximo en julio; en agosto tuvo lugar una defoliación fuerte debido al ataque. Esto explicó por qué la enfermedad llegaba a su desenvolvimiento máximo al final del período lluvioso. Ward investigó muchos aspectos de la biología de *Hemileia vastatrix* y sus estudios

meticulosos se han convertido en clásicos en las investigaciones en patología vegetal; muchas de sus conclusiones han resistido la prueba del tiempo. El descubrió la teleutóspora y descubrió su germinación y la producción de basidiósporas, pero no logró reinfectar café con estas últimas. De sus estudios de atrapar esporas con portaobjetos recubiertos de vaselina, él concluyó que la dispersión de las esporas era mediante el aire, una opinión que sólo recientemente fue seriamente puesta en duda. Sus conceptos sin embargo, eran aparentemente respaldados por el efecto aparente del viento, siendo la enfermedad menos severa en lugares donde los cafetos estaban protegidos de los vientos. Esto le indujo a sugerir la siembra de rompevientos como una medida de mejoramiento. Con respecto al problema de la resistencia, él encontró que podía infectar todos los clones y especies de café que le eran accesibles. Ward concluyó que éstas no varían en resistencia, un concepto erróneo, al cual hacen llegar los estudios de laboratorio a los investigadores aún hoy día. Afortunadamente Ward estaba errado con respecto a este punto, ya que la mayor resistencia de los cafés Robusta, Libérica, y otros, ha permitido la continuación de la producción de café en áreas de baja altura y húmedas, donde el *Coffea arabica* hubiera sido muy atacado por la roya.

Ward no consideró que un abonamiento tuviera efecto directo sobre la enfermedad, sino que simplemente estimulaba al árbol para producir follaje nuevo y así balancear hasta cierto punto el daño de la enfermedad. Este concepto debían haberlo tenido en mente muchos, antes de confiar en tratamientos con abono.

Igual que investigadores anteriores, Ward pensó que las hojas caídas, cubiertas de esporas, constituían una fuente de infección, puesto que el viento soplaba las esporas de su superficie a los árboles; él aconsejó la recolección de estas hojas y su destrucción mediante fuego o entierro. Tal consejo ha sido repetido durante toda la larga historia de la enfermedad, y a veces se ofrece todavía, aún hoy día, sin que exista un respaldo válido de observaciones efectuadas para apoyar su eficacia. Aún en la época de Ward, los agricultores señalaban frecuentemente lo impráctico de esa operación, y muchas veces la criticaron bastante.

Ward meditó sobre las posibilidades de controlar la enfermedad mediante agentes químicos. Sus investigaciones pusieron de manifiesto que no podía compartir el optimismo de Morris con respecto a la eficiencia de los espolvoramientos con azufre y cal, puesto que, contrariamente al concepto de Morris, el hongo vive fuera de la hoja un tiempo demasiado corto para que este método tenga bastante efecto. El señaló que el fungicida debiera encontrarse ya sobre las hojas antes de que las esporas germinaran, pues solamente en el período corto entre germinación y penetración era el hongo vulnerable al ataque químico. De este modo él estableció los requisitos para la atomización protectora con fungicidas. No fue sino hasta que Millardet descubrió el caldo bordelés algunos años más tarde, que se tuvo al alcance para este fin un material satisfactorio. Aunque Ward hubiera sabido de la mezcla de Bordeaux, es poco probable que hubiera cambiado mucho la historia de la caficultura en Ceilán. Estudios posteriores han demostrado que el clima en esta isla era especialmente favorable al ataque de la enfermedad. Por esta razón las atomizaciones con fungicida habrían tenido que repetirse con demasiada frecuencia y continuadas demasiado tiempo a través del año, para que fueran eficientes.

Aunque los estudios de Ward fueron muy apreciados por quienes eran capaces de entenderlos, no parece que él fuera muy popular entre los caficultores, que lo consideraron frecuentemente como demasiado académico en sus métodos y sin suficiente interés en encontrar cura al mal. Quizás inspirado por esta actitud y antes de marcharse en 1882, después de tres años de investigaciones, él llevó a cabo algunas pruebas de campo sobre el uso del polvo compuesto de azufre y cal, del cual Morris había informado tan entusiastamente con anterioridad. La técnica de la experimentación en el campo ni siquiera había sido considerada en estos días, y realmente sólo unos 50 años más tarde se dispuso de técnicas satisfactorias. Por esa razón, los métodos de Ward dejaron mucho que desear y no se

entendió completamente la variabilidad del ataque de la roya. La técnica de muestreo y de estimar la enfermedad también era completamente desconocida. Por esa razón no existía un método adecuado de medir los efectos de los tratamientos. Parcelas grandes de café fueron tratadas a la vez, lo que hizo factible comparar a lo sumo una parcela de cafetos tratados con otra adyacente, no tratada, parcela que podría haber sido diferente en otros aspectos además del de tratamiento. Frecuentemente sólo un área distinta, en alguna distancia, o aun café en otra hacienda, estaba disponible para fines de comparación. Ward concluyó de sus pruebas, que el ataque de la roya era a veces reducido por el tratamiento, pero el efecto no era lo suficientemente grande como para considerarlo de valor práctico.

Los caficultores también criticaron su concepto de que todos los cafetos estaban igualmente predispuestos a la enfermedad. Ellos pensaban que esto no estaba de acuerdo con la experiencia de campo, que mostraba que existía una variación considerable en el grado del ataque, aun entre árboles individuales en el mismo campo. Para los caficultores la enfermedad era algo bastante misterioso y debida a factores desconocidos del ambiente o a métodos de cultivo de la planta. La roya no era la causa de la enfermedad, sino su resultado; la causa estaba escondida bien adentro de la planta y estaba relacionada con la composición de la savia, la que podía ser modificada por el tipo de suelo, los abonos aplicados y la manera de cultivar el suelo, el método de poda y muchos otros factores. La pregunta era cómo modificar estos factores para corregir la condición de la enfermedad, lo que era necesario descubrir para poder curar la enfermedad. Por eso se puso mucho énfasis en el abonamiento y la poda. Una casa comercial hasta puso en el mercado un fertilizante anti-vastatrix.

Las páginas del "Tropical Agriculturist" entre los años 1880 y 1886 están llenas de teorías sobre las razones del ataque de la enfermedad y de pretensiones de haber hallado remedios milagrosos. A pesar de los cuidadosos estudios de Ward, muchos aficionados expresaron teorías sobre la naturaleza de la enfermedad. Dos observadores, notando la presencia de larvas de una mosquilla (*Cecidomyiidae*) entre las esporas, concluyeron que el problema no se debía del todo al hongo sino al insecto, el cual, así pensaron ellos, se alimentaba de la hoja. El señor Oliver W. Jones, un superintendente asistente de la escuela de medicina en Dindigul, Madras (India) al no encontrar ni núcleos en las esporas ni órganos sexuales, argumentó que no podían ser "esporidios reproductores". Como él vio excreciones anaranjadas parecidas, producidas por las larvas, consideró que lo que se había llamado esporas eran simplemente excrementos y que las larvas se alimentaban de las hojas, lo que constituía la causa del daño. Independientemente un caficultor en Uva, Ceilán, llegó en 1885 a conclusiones similares, introduciendo sus argumentos en el comentario crítico siguiente:

"De que el gusano o larva es producido de zoósporas no cabe duda alguna. Por eso la pregunta es entonces: ¿qué relación tienen las zoósporas vivientes o germinales, huevos o desoves, con las esporas del supuesto hongo? Pues uno no existe sin el otro, y sólo después de que la larva se ha desarrollado las hojas cambian su color, ennegrecen y mueren".

Este caficultor describió la forma en que las larvas empujan su probóscide muy profundamente al interior del mesófilo. Rastreó su desarrollo hasta una mosquilla (quimónido) adulta, la que según él perforó las hojas en el punto de la inserción de los nervios secundarios principales con el nervio central, evidentemente confundiendo los domacios que existen en este punto, como si fueran perforaciones producidas por la mosquilla. Se imaginó que los insectos entraban en los tejidos de la hoja a través de estos huecos, haciendo túneles debajo de la superficie, consideró las esporas de la roya como "espermatozoides" o "espermogonios" de los insectos machos, que habían emergido de la hoja a través de los poros, depositando luego la hembra sus huevos entre ellos, abriéndolos para inducir la fertilización.

Otra teoría fantástica fue la de “apogestación”, propuesta por A. Stephen Wilson de Aberdeen, Escocia (1882), quien la desarrolló para acomodar ciertos aspectos del comportamiento del tizón de la papa; estaba convencido de que esta teoría tenía una aplicación muy amplia, y postuló fases separadas, la parasítica y la no-parasítica del ciclo vital del hongo:

“Pero como estos conidios (= uredósporas) pueden germinar en todas partes, son independientes de cualquier hospedante y por eso son completamente no-parasíticos. El micelio no-parasítico tiene un carácter enteramente distinto del parasítico; existe por cierto la probabilidad de que el sistema, ahora parasítico, pueda reproducirse no-parasíticamente y sin fructificación sobre el suelo o las ramas del árbol, o en cualquier otro lugar. Pero este micelio no-parasítico es de dos tipos. El producido directamente de los conidios o de sus zoósporas es delgado y hialino o transparente, y produce esporas pequeñas en reposo. Estas esporas latentes, o pedacitos equivalentes del plasmodio en el interior de los conidios arrugados, produce un micelio secundario o latente, de una coloración marrón y de estructura torulosa o articulada. Y dentro de estas esporas se produce un plasma granular y esporulas diminutas, las que en parte salen a la superficie exterior donde se adhieren flojamente a la superficie o forman pequeñas masas flotantes alrededor de las líneas de crecimiento joven. Y solamente cuando de este micelio se desprende una masa de gránulos mucosos, que brotan las yemas jóvenes de las plantas de café, inoculando sus estomas con plasma fungoso, es que el hongo otra vez vuelve a la condición parasítica y después de una gestación alcanza su estado perfecto en la fructificación”.

Todo esto, como se notará, fue observado en unas pocas hojas secas con lesiones de roya, que él examinó en Aberdeen. La teoría presentaba algo de semejanza con la anterior, o sea la teoría “filamentosa” de Morris.

Aunque muchos aceptaron el informe de Ward sobre el ciclo vital del hongo, todavía lo consideraban más como el resultado en lugar de la causa de la enfermedad, y esta última había de buscarse en otro lugar. Holmes consideró que plantas que habían estado por mucho tiempo bajo cultivo, estaban debilitadas de alguna manera y eran propensas al ataque de la enfermedad. Anderson (1882), un caficultor de Mysore, estaba convencido de que la dificultad se originaba en una deterioración de la constitución de los cafetos, debido a la continua propagación del mismo material parental, y que debían probarse nuevas fuentes de semillas. El también consideró (1879) la infección como sistémica, entrando por las raíces. G. F. Halliley, entre muchos otros, confió en abonamiento: “El único remedio para la enfermedad foliar es abonamiento adecuado, debidamente aplicado, y después tratamiento apropiado de los árboles y entonces tendremos cosechas apropiadas”. Para él la dificultad radicaba en la savia:

“Antes de que un cafeto sufra un ataque de la enfermedad los bordes de las hojas se tornan de un color amarillento blancuzco sucio, entre más ancha se haga esta área es más fuertemente atacado el árbol por la enfermedad foliar; por eso no puede existir duda alguna que la savia es primeramente desorganizada y que después contrae la enfermedad a través de alguna acción de la atmósfera sobre las hojas; de otro modo, ¿cómo podríamos explicar que parcelas lejos de cualquier enfermedad sean afectadas repentinamente?

Entre otros factores involucrados como causa de un ataque de la roya se citaron los vapores de la vegetación en descomposición, y en Java se creyó que el culpable era el árbol “dadap” (*Erythrina indica*) usado para sombra.

La defoliación constante que la roya causaba, conducía a un agotamiento de las reservas del árbol y a la incapacidad de producir flores o de madurar la cosecha de cualquier flor producida. Muchos caficultores no comprendían la lógica de este proceso y había mucha discusión de por qué los rendimientos decrecían continuamente, en forma tan marcada.

Algunos caficultores llegaron hasta considerar que no tenía nada que ver con la enfermedad. Por ejemplo "W" argumentó que como se había demostrado que el hongo ataca sólo el tejido foliar y no estaba presente en la savia, la falta de cosecha no podía deberse a su ataque, sino que debía buscarse alguna otra causa.

Cuando los estragos de la enfermedad se hicieron más serios, mayor fue la demanda porque se buscara un remedio. Los caficultores pidieron al gobierno que ofreciera una recompensa de 250.000 rupias a cualquier persona que pudiera ofrecer un remedio barato y práctico. El gobierno acogió al principio favorablemente esta idea, pero se retractó, debido a los consejos de Thiselton Dyer, quien señaló el embrollo tan grande que podría resultar del ofrecimiento de una recompensa, debido a las múltiples demandas que podían hacer los excéntricos y a la inmensa dificultad de comprobar los numerosos esquemas que sin duda se propondrían. Con tales dificultades se había tropezado cuando se ofreció una recompensa para un remedio contra la infección con *Phylloxera* en la vid – y de todos modos no se descubrió un tratamiento satisfactorio.

Aun sin la recompensa fueron propuestos numerosos y variados remedios para la enfermedad de la roya del cafeto. Un señor Cummins escribió desde Cornwall (Inglaterra) y señaló las propiedades antisépticas del timol y sugirió que el cultivo de tomillo silvestre entre los cafetos podría controlar la roya. Un señor de apellido Wall encontró que el riego de los cafetos con una disolución diluida de ácido sulfúrico controlaba la enfermedad satisfactoriamente. En Java un inspector del gobierno recomendó cultivar el suelo alrededor de árboles infectados con una azada hasta unos 15 cm de profundidad, no desintegrando los terrones. Deberán excavarse en cada segunda hilera huecos con una profundidad de 45 cm y distribuirse el suelo sacado. Este tratamiento debía suplementarse con el entierro de abono a una distancia de 30 cm del tronco. El Sr. G. H. Kearny sugirió eliminar todas las hojas cuando aparecieran por primera vez "manchitas diminutas" de la roya. Un señor Smith y un señor Ball tenían el remedio perfecto. Primeramente debían quitarse todas las hojas de los árboles, después se raspaba toda la corteza. Un líquido especial proporcionado por ellos debía mezclarse con estiércol descompuesto hasta producirse una consistencia de melaza, para ser frotado sobre toda la superficie del árbol. En este caso el remedio fue peor que la enfermedad.

De muchos de estos supuestos remedios no se escuchó nada más; pero dos métodos de tratamientos, ambos basados en el uso del ácido carbónico (fenol), fueron el tópico de una correspondencia larga en las columnas del "Tropical Agriculturist" durante varios años. El primer método se debía a un químico alemán, el señor E. C. Schrottky (1881), quien por casualidad visitó Ceilán cuando la roya era muy seria. Allí se quedó por un año, intentando perfeccionar su método de control. Primeramente aplicaba una disolución del antiséptico directamente sobre la corteza del árbol, con la esperanza de que fuera absorbida y que atacara al hongo dentro del tejido del hospedante; pero cuando no se tenía control (aunque él reportó una ligera y pasajera reducción de la enfermedad) y se había removido la corteza del árbol, él inventó una forma mediante la cual los vapores del ácido carbónico podrían hacer contacto estrecho con el follaje. El probó aspersiones con una disolución de 1-1/4 por ciento, pero no podía obtener una cobertura adecuada de las hojas. Por eso fabricó un polvo fino a base de una mezcla de cal y fenol, que contenía 3-3/4 por ciento del último, siendo la mezcla distribuida mediante dispersión a mano sobre los cafetos. Este método estuvo en gran boga y se aplicó en muchas haciendas. Un caficultor describe la escena en una hacienda de la manera siguiente:

"Cualquiera hubiera pensado que había caído nieve durante la noche. Una parte de la hacienda tenía un aspecto bastante blanco. La causa de esto de pronto se hizo aparente, pues a lo largo de las hileras de café se levantaban bocanadas grandes de humo, como si nuestra artillería hubiera entrado en acción para extirpar los muy sufridos cultivos. Al acercarme, sin embargo, vi que los cultivos mismos estaban lanzando hacia el viento puñados de

un polvo rosado—blancuzco, tan fino y liviano, que la menor brisa lo llevaba en nubes rodantes, envolviendo completamente árboles, culís y superintendentes. El efecto sobre los árboles pareció como nieve y cada hoja estaba recubierta con polvo de igual manera que las lilas y laureles a lo largo del Camino de Clapham lo están con polvo en la noche del día del Derby”.

Schrottky puso su método a prueba en la hacienda de Gangapitiya en el Valle de Dumbara, comenzando en abril de 1881. El sitio lo visitaron el Presidente de la Asociación de los Caficultores, junto con otros dos caficultores en diciembre y dieron un informe muy favorable (Shipton 1882). Desafortunadamente, como sucedió con muchas pruebas de medidas de control que se llevaron a cabo en esta época, se trató toda la hacienda y se hicieron comparaciones sólo con haciendas vecinas.

Ward, sin embargo, quien estaba por terminar sus estudios en esta época, dudaba mucho de los resultados; pero aparentemente basó sus conclusiones principalmente en consideraciones teóricas, sin llevar a cabo jamás pruebas de campo. Schrottky pensó que el fenol se vaporizaba y era absorbido por las plantas; esta opinión fue la que Ward atacó, mostrando que esporas producidas en una planta mantenida en una caja de Ward y sujetas a vapores de fenol mediante pintura de las paredes con una disolución fuerte de fenol, germinaban perfectamente bien. Curiosamente él no parecía haber probado el efecto del vapor sobre los tubos germinales, ni el efecto del contacto del polvo con las esporas, falla que Schrottky señaló prontamente. Ward también consideró que la acumulación de fenol en el suelo tendría un efecto adverso sobre las plantas, pues el regar una plántula de café con una disolución de fenol hacía que se enfermase bastante.

En 1882 se llevó a cabo una prueba grande en otra hacienda, la cual fue evaluada por un comité de caficultores el cual concluyó que, aunque existía alguna evidencia de que se obtenían buenos resultados, el tiempo había sido particularmente favorable. Si no hubiera sido así, como era frecuentemente el caso en otras partes, no se justificarían los gastos. Ellos consideraron que sería más económico gastar el dinero en poda y abono que en cualquier tratamiento que hasta entonces se había propuesto. En resumen, las haciendas de café habían sido manejadas entonces por tanto tiempo con pérdida, que no existía ya posibilidad alguna de emplear medidas puramente paliativas: sólo un “remedio” completo y barato habría encontrado una respuesta favorable entre los agricultores.

El segundo tratamiento, que dependía del ácido carbólico, se debía a Jacob P. Stork, caficultor de Fidji, donde la enfermedad llegó en 1879. El era alemán y había sido asistente del botánico Dr. Seeman. El estaba completamente convencido de que había encontrado un remedio maravilloso y sencillo para la enfermedad y escribió carta tras carta al “Tropical Agriculturist”, exaltando sus virtudes y ofreciendo viajar a Ceilán para demostrarlo. Al principio fue muy reservado sobre su naturaleza, esperando quizás hacerse rico patentando la fórmula. Sin embargo, se divulgó que las leyes de patentes de Fidji no eran aplicables a este tipo de invención y el método fue publicado en “Planter’s Chronicle” (Stork 1882). Resultó ser un método de vaporización permanente de ácido carbólico. Igual que Schrottky, Stork insistía en que los vapores eran suficientes para inducir el cese de la esporulación y el secamiento de las lesiones. Una mezcla acuosa, conteniendo de 3 a 10 por ciento de ácido carbólico (Calvert No. 5) se colocaba en latas cilíndricas de medio litro de capacidad y 10 cm de diámetro, provistas de tapas para evitar la entrada de lluvia. Estas latas eran colocadas sobre palos distribuidos a razón de 36 por acre en los cafetales. El nivel del líquido se mantenía mediante adiciones periódicas. Un grupo de caficultores de Ceilán probó el

método sin éxito, pero Stork tercamente persistió en su idea, argumentando que los caficultores no habían seguido sus instrucciones debidamente; según él se podían obtener mejores resultados con un aumento de la concentración de fenol, diferentes diseños de los recipientes y la provisión de mechas cilíndricas para aumentar la vaporización. Nadie jamás corroboró las pretensiones de Stork y su visita a Ceilán, prometida por tanto tiempo, nunca se llevó a cabo.

Muchas de las aseveraciones con respecto a los efectos de varios factores, abonos, tratamientos, etc., y que circulaban en esta época, ciertamente se debían a una apreciación insuficiente de la variación del ataque de la roya de árbol a árbol, localidad a localidad y mes a mes, y a la falta de conocimiento de las técnicas experimentales requeridas para enfrentarlos. Es una lástima que no se prestó más atención a la observación de un caficultor ("G. W." en el "Tropical Agriculturist" 2:243), quien sembró algunos cafetos jóvenes muy atacados en macetas: al estar listos para experimentar con ellos, encontró que la enfermedad había desaparecido; él insinuó que si hubiera aplicado un tratamiento en lugar de esperar para que crecieran bien, él habría creído haber encontrado un remedio de mucha eficacia.

Ya hacia 1886 la caficultura en Ceilán estaba por terminarse. Los árboles se volvían más y más débiles por la pérdida continua de follaje y no podían mejorarse mediante abonamiento, poda o métodos de cultivos mejorados. Aun la roya parecía haber decaído un poco, según algunos informes, probablemente debido al agotamiento de los árboles. Esto dio origen a una esperanza patética entre algunos de que la enfermedad al fin había acabado y hubo algunas manifestaciones sorprendentes de optimismo. Porejemplo, la señorita Gordon Cummings, al escribir en los años 1890-91 en los 'Two Happy Years in Ceylon' y comparando condiciones con las de veinte años atrás, dijo:

"En esta época (1871) el Rey Café tenía la supremacía y cada pedacito de terreno disponible estaba dedicado a este cultivo único, produciendo en la mayoría de los distritos un efecto de mucha monotonía. Desde entonces ha pasado por muy malos días, y en los distritos grandes ha sido reemplazado por té y otros cultivos; pero es agradable saber que en este distrito (Haputale) donde era tan preeminentemente exuberante, una gran parte se ha recuperado, teniendo el cafeto otra vez un lugar primordial en la provincia de Uva".

Y en otra ocasión agregó:

"Afortunadamente se decidió en muchas haciendas no arrancar los cafetos enfermos, sino darles una oportunidad de recuperarse, mientras se sembraban arbustos de té por todas partes; esto estuvo bien hecho, ya que en muchos casos, en haciendas que habían sido abandonadas con la esperanza perdida, los arbustos defoliados, los que aparentemente estaban muertos, se recuperaron como de un trance y brotaron de nuevo, dando cosechas aceptables de cerezas, no obstante que estaban luchando por su existencia entre las exuberantes malas hierbas y arbustos, que crecían por el abandono. En haciendas en donde el café se atendió nuevamente, se han obtenido rendimientos excelentes. Existe una vez más, buena esperanza para el futuro del café".

Este optimismo, desafortunadamente no se justificaba y el cultivo de café se volvió menos y menos productivo, las haciendas ya no podían mantenerse adecuadamente y muchos caficultores se arruinaron. Existía desconfianza general y alarma, se presentaron dificultades financieras, y el Banco Oriental quebró. La enfermedad continuó extendiéndose hacia el este, y el centro de la caficultura mundial se desplazó en consecuencia hacia el Nuevo Mundo, donde la roya estaba ausente. En Ceilán se arrancó el café y se sembraron otros cultivos, siendo el té el de mayor importancia. Como el Imperio Británico dejó de ser un productor importante de café, el té se convirtió en su principal cultivo y bebida. El tomar

café perdió su popularidad en Gran Bretaña y el té se convirtió en bebida nacional, cambio que debe atribuirse principalmente al hongo que produce la roya del cafeto, con quién sabe qué consecuencias para la historia del mundo.

GERMINACION DE LAS ESPORAS

Ya se ha descrito la germinación de teleutósporas y de basidiósporas (pp. 8 y 9). Aparentemente no se ha hecho ningún trabajo con respecto a los efectos ambientales sobre la germinación en ninguno de los dos casos.

Observaciones en relación con la germinación de uredósporas fueron anotadas primeramente por Thwaites (1874). El informó que no era difícil inducir germinación. Las esporas maduras, colocadas sobre carbón vegetal humedecido, germinaban en pocos días. Primeramente éstas aumentaban un poco de tamaño y su contenido se convertía en una o más masas globulares traslúcidas. De cada una de éstas se desarrollaba un filamento, que crecía rápidamente y se hacía más o menos ramificado. En algunos de los extremos de las ramificaciones, se formaban esporas secundarias, como cordones irradiando en forma de collares de pequeños corpúsculos esféricos de tamaño uniforme; éstos eran muy parecidos a las fructificaciones de *Aspergillus*.

Un poco más tarde Abbay (1878) describió la germinación en detalle y publicó ilustraciones. El consideró que las uredósporas eran "esporangios" y al exponerlas a presión, se liberaban las verdaderas esporas como pequeños corpúsculos globulares, indicando que la germinación tenía lugar 40 a 80 horas después de que los "esporangios" eran colocados en agua o en la solución de Pasteur a 32°C. La germinación era directa, mientras que las "esporas" estaban todavía dentro de los "esporangios", o tenía lugar después de que habían sido expulsados de los "esporangios". El tubo germinal fue descrito como abundantemente septado y frecuentemente conteniendo células de forma de barril. Cuando se cultivaba el micelio resultante sobre portaobjetos, se observaban conidios catenulados.

Es evidente que tanto Thwaites como Abbay erróneamente malinterpretaron las apariciones producidas por el crecimiento de mohos o quizás de hifomicetes parásitos en las esporas con la germinación. Es dudoso que ellos realmente observaran también la verdadera germinación, aunque una de las ilustraciones de Abbay sugiere que quizás lo lograron.

Morris (1880) dio en su libro una descripción detallada de la germinación. Pareciera que él cometió los mismos errores que sus predecesores, pues las ilustraciones que acompañan su descripción muestran claramente que un gran porcentaje de los "tubos germinales" reproducidos, aunque probablemente no todos, no pertenecían a *Hemileia vastatrix*. Debido a estas observaciones erróneas él concluyó que una redcilla filamentosa extensa se desarrollaba sobre la superficie de las plantas como resultado de la germinación de las esporas sobre sus superficies, y que eran sólo los últimos estados del desarrollo del hongo los que se encontraban dentro de sus tejidos. Esto le condujo a una idea errónea sobre la facilidad con que la enfermedad podría controlarse mediante espolvoramiento con fungicidas.

Morris reportó que la germinación ocurría dentro de 24 horas cuando los "esporangios" eran colocados sobre papel absorbente o carbón vegetal húmedos. Su descripción de las primeras etapas, cuando al referirse a los "esporangios" él escribió: "Hubo abultamiento de los lados en varios puntos y cuerpos en forma de sacos salieron hacia afuera", sugiere que él, por lo menos en parte, observó la verdadera germinación.

Ward (1882 a y b) estudió la germinación con mucho cuidado y demostró que la teoría de filamentos de Morris estaba equivocada; además de que no se producían esporas secundarias por el tubo germinal, el que desarrollaba sólo un crecimiento limitado en la parte exterior de la planta antes de tener lugar la invasión del tejido del hospedante. El demostró que las llamadas esporas secundarias pertenecían en realidad a hongos bastante distintos. Hasta hoy día no se ha podido agregar nada de importancia a sus descripciones e ilustraciones de las esporas en germinación. El encontró que las esporas germinaban libremente a 24°C, cuando eran colocadas en contacto con agua, pero no lo hacían cuando se les mantenía secas. La germinación tenía lugar, cuando el substrato era vidrio, hojas de café, suelo o los hilos de una tela de lona colocada en el campo. El no investigó los efectos de diferentes niveles de temperatura sobre la germinación, ni si era suficiente una alta humedad relativa del aire para inducirlo. Las referencias en la literatura que sugerían que él había encontrado que 24°C era el óptimo, no son correctas. Según él las esporas que se habían formado al comienzo de la estación seca, y habían pasado por ella, necesitaban varios días para germinar al ser colocadas en agua, mientras que las esporas que eran producidas en la atmósfera húmeda del monzón del suroeste, germinaban dentro de 12 a 24 horas, período a cuyo final se había completado normalmente todo el proceso, incluyendo la formación de un apresorio. La capacidad para germinar se mantenía, si las esporas se guardaban por 6 semanas en una botella bien tapada en un lugar fresco. Si se exponían abiertamente a la luz sobre una superficie fresca, se perdía la viabilidad.

Tiempo Necesario para la Germinación

Algunos años más tarde Bürk (1889) condujo en Java investigaciones detalladas sobre el efecto de varios factores sobre la germinación, pero investigadores posteriores frecuentemente parecieron ignorar sus resultados. El encontró que bajo condiciones apropiadas, la germinación podía detectarse primeramente después de un período tan corto como 2 a 2½ horas. Pero hasta hace muy poco, frecuentemente se ha indicado que se requieren de 12 a 24 horas, probablemente con base en los resultados de Ward. Sin embargo, al leer estos últimos cuidadosamente, se va a encontrar que él simplemente afirmó que el proceso hasta la formación de un apresorio, normalmente se completaba en ese período de tiempo.

George (1956) anotó recientemente que la germinación comenzaba en 1½ a 2 horas, siempre que existieran las condiciones favorables necesarias, pero no presenta detalle. Después de eso, Rayner (1961c) reportó estudios sobre el progreso de la germinación en el envés de hojas de café húmedas, mantenidas en la oscuridad a 23°C. El expuso gráficamente el porcentaje de esporas que mostraron síntomas visibles de germinación (el comienzo del abultamiento de la pared de la espora en preparación para la salida del tubo germinal), con varios intervalos de tiempo. Las curvas resultantes fueron sigmoides, con la parte superior prolongada e indicación de una parte basal muy corta. El tiempo promedio de germinación en tres ensayos reportados fue 2.5, 3.7, y 4, horas respectivamente, y en uno se observó un poco de germinación después de sólo una hora. Se concluyó que el proceso debe comenzar casi tan pronto como se mojan las esporas, y quedar concluido después de 7 a 10 horas. Cuando se expresó en forma de un gráfico una transformación de probit de la germinación expresada como porcentaje de la germinación total observada, aún se mantenía una curvatura ascendente clara, indicando una distribución de frecuencia de la germinación como función del tiempo un poco asimétrica. Investigaciones subsiguientes (no publicadas) indicaron que esta curva se ratifica, si se traza la curva contra el recíproco del tiempo de germinación; de este modo concuerda con las observaciones de Wellman y McCallan (1942) en una serie de otros hongos.

Nutman y Roberts (1963) han publicado gráficos basados en observaciones de la germinación en dos superficies, hoja y agar nutritivo, de 1000 esporas por punto. Ellos indicaron que el porcentaje de germinación aumentaba linealmente con el tiempo y que esto fue demostrado por Clarke en un apéndice de la publicación de ellos. Este apéndice, sin embargo, no contiene una demostración estadística de la naturaleza lineal de la curva. Además, como el porcentaje de germinación no puede concebiblemente exceder del 100 por ciento, la regresión debe eventualmente doblarse más o menos abruptamente hacia un valor asintótico. No hay duda de que ellos realmente mostraron una curva de esta naturaleza en su publicación (véase p. 36), pero no comentaron su forma. Pareciera que el informe de Nutman y Roberts requiere que se explique que sólo es aplicable a la región de la curva que trata de porcentajes de germinación un poco menores del máximo. Para esta parte de la curva, los resultados del autor (Rayner) también demostraron una relación aproximadamente lineal, aunque existía la indicación de una pequeña parte inicial curva.

Con la excepción del único caso mencionado anteriormente en sus diversos estudios sobre germinación, los que se describirán más adelante. Nutman y Roberts parecen haber limitado su atención a las tasas de germinación como existen al comienzo del proceso de germinación, y de no haber prolongado los estudios hasta alcanzar valores asintóticos. Esto debe tenerse en mente al considerar sus resultados y debe reconocerse la posibilidad de que factores que producían diferencias en niveles de germinación después del mismo lapso de tiempo (debido a un efecto sobre la tasa inicial de germinación), quizás no se hubieran comportado de esa manera, si se hubiera concedido suficiente tiempo para que se pudiera completar el proceso en cada caso.

Aunque Nutman y Roberts no citaron un período mínimo para los primeros síntomas visibles de la germinación, mediante extrapolación de sus regresiones publicadas, pareciera que ello ocurre alrededor de 2 a 3 horas.

Gyde (1952) reportó que se requirieron 6 días para la germinación en agua o en una disolución al ½% de sacarosa, resultado que con seguridad es erróneo.

Efecto de la Temperatura

Nutman y Roberts hicieron un estudio detallado del efecto de la temperatura sobre la germinación bajo condiciones de laboratorio. Encontraron, suponiendo una relación lineal entre porcentaje de germinación y tiempo transcurrido, que la tasa de incremento en el porcentaje de germinación con el tiempo era afectado por la temperatura. Cuando la germinación tenía lugar a temperatura constante sobre capas de agar nutritivo, se observaba la tasa máxima a 22°C. La relación con la temperatura podría estar expresada por una curva, a la cual se dio un polinomio cuadrático:

$$\gamma = - 927.398 + 92.547 x - 2.120 x^2$$

donde:

$$\gamma = \text{tasa de germinación} \quad x = \text{temperatura en } ^\circ\text{C}.$$

La germinación no tuvo lugar a 15,5°C o menos, ni de 28°C o más. Sin embargo, sobre discos u hojas, esta curva mostró dos picos, uno en 21°C y un segundo en 25,5°C, separados por una depresión marcada.

Exposición previa, bajo condiciones húmedas a temperaturas alrededor o ligeramente bajo el mínimo para la germinación (se ensayó con 15°C, 16°C, 17°C y 17,5°C), aumentó la tasa de germinación, al transferir las esporas a una temperatura más alta, más allá del valor de la tasa observada cuando se comenzó la exposición en condiciones húmedas a esa temperatura más alta. Por ejemplo, un lote de esporas expuesta a la humedad a 22°C, mostró un 10 por ciento de germinación después de 9 horas y el porcentaje aumentó a razón del 1,3 por ciento para cada hora adicional. Un lote similar, mantenido húmedo a una temperatura de 15°C por 3½ horas (tiempo durante el cual no tuvo lugar germinación), al ser transferido a 22°C, dio 14,6 por ciento de germinación después de 2 horas y el porcentaje aumentó a razón de 7,3 por ciento por cada hora adicional. El nivel del estímulo estaba relacionado con la duración del tiempo de la exposición en condiciones frescas.

En sus investigaciones Nutman y Roberts utilizaron por lo general suspensiones de esporas, las que fueron atomizadas sobre películas de agar o superficies foliares mediante un lápiz "aerógrafo" con altas presiones, un método que tiene la ventaja de producir un esparcimiento bastante uniforme de las esporas, facilitando así los recuentos de germinación. El método puede criticarse, pues ha sido demostrado que el comportamiento con respecto a la germinación de esporas en suspensión es diferente a cuando flotan sobre una película de agua (véase p. 30). En algunas de sus investigaciones el autor (1961c), empleó un método (originalmente debido a Morgan) para obtener un depósito bastante parejo, principalmente de esporas individuales, que supera esta dificultad. Se produjo un vacío dentro de un frasco tipo campana sobre una mesa para vacío; luego este vacío fue disipado mediante un tubo, en cuyos extremos se fijó una boquilla que fue pasada al mismo tiempo sobre una lesión de roya. Las esporas fueron chupadas al interior del frasco, donde formaron una nube, la que se permitió que se sedimentara sobre el envés de hojas de café. A continuación se atomizó esta superficie con una llovizna de agua y se observó la germinación.

Requerimiento de Humedad

La presencia de agua líquida es esencial para la germinación. Ward llegó primeramente a esta conclusión, pero en realidad no comprobó el efecto de la humedad alta del aire por sí solo.

Bürk (1889) encontró que aun en una atmósfera saturada, la germinación no tenía lugar cuando no había agua líquida en contacto con las esporas. Mayne (1932b) llegó a una conclusión similar, pero no dio detalles experimentales.

Que las humedades relativas altas del aire son inadecuadas para estimular la germinación, aun sobre superficies foliares, fue comprobado por el autor (Rayner 1961c), quien probó los efectos de humedades relativas del 95 y 98 por ciento, obtenidas mediante el uso de disoluciones saturadas de ciertas sales. Aun en una atmósfera saturada, nunca se observó germinación, si no se condensaba agua líquida sobre la hoja o superficie del vidrio que sostenían las esporas. Nutman y Roberts (1963) han confirmado que el agua líquida es esencial.

Aunque se requiere agua líquida para la germinación es difícil mojar las esporas, ya que la mayor parte de ellas, al colocarlas sobre una gota de agua, flotan en su superficie. Raras veces se menciona este hecho, y aparentemente lo anotó por primera vez Zimmermann (1904), aunque debiera ser de común conocimiento de todos los que han trabajado con esporas de este hongo. Nutman, Roberts y Bock (1960) describieron de nuevo este comportamiento y llamaron la atención al hecho de que mientras estén en estado seco, las esporas están agrupadas en manojos de diferentes tamaños. Al hacer contacto con una gotita de agua, se deshace instantáneamente la adhesión mutua entre las esporas en los manojos y las uredosporas se extienden sobre la superficie como una capa de esporas individuales.

Zimmermann notó que las pocas esporas que se hundían no germinaban, mientras que von Faber (1910) notó que la sumersión en agua bajó la germinación, hecho que recientemente fue confirmado por George (1956). Mayne afirmó (comunicación privada), que la comparación se efectuó entre esporas agitadas en agua para formar una suspensión y que flotaban sobre la superficie de gotitas de agua. En este caso aun las esporas que normalmente flotan, al ser hundidas, también muestran luego una capacidad reducida de germinación. En la misma comunicación Mayne hizo notar que los tubos germinales producidos por esporas que germinaban en la superficie de una gotita de agua, raras veces crecían en el interior del líquido, sino más bien a lo largo de su superficie o hacia el aire, un fenómeno que ha sido también observado por el autor y por Hislop (comunicación privada). En vista del diferente comportamiento de las esporas en forma de suspensión de agua, las observaciones hechas al emplear tales suspensiones deben aceptarse con precaución, especialmente al hacer deducciones de ellas sobre lo que podría ocurrir en condiciones de campo. A pesar de que existe actualmente una evidencia poderosa de que, por lo menos en los estados finales, la dispersión de esporas hacia el envés foliar ocurre principalmente mediante salpicaduras de lluvia, la mayoría de tales esporas todavía flotaría sobre la superficie de las gotitas de agua y no se hundirían. Lo ideal sería efectuar los estudios sobre el efecto de factores ambientales, tales como temperatura, luz, etc., con esporas que flotaran sobre gotitas de agua y no con esporas en suspensión, si es que se quiere hacer deducciones dignas de confianza sobre el comportamiento en el campo.

Von Faber (1910) reportó que si la germinación ocurre sobre gotitas de agua relativamente grandes, colocadas sobre una hoja en una atmósfera no saturada y se mantiene el tamaño de las gotitas mediante adiciones, se forman tubos germinales largos y delicados, sin apresorios y no ocurre penetración de la hoja. Si no se mantiene el tamaño de la gotita, sino que se le permite decrecer debido a evaporación, los tubos germinales son más gruesos, se forman apresorios y hay penetración.

Ya se han descrito las investigaciones de Nutman y Roberts sobre los efectos de exposición de las esporas a la humedad a temperaturas demasiado bajas para su germinación. Ellos no mencionaron si la exposición tuvo lugar en la luz o en la oscuridad, aunque Bürk (1889) había demostrado que esto afecta severamente la germinación. El encontró que cuando las esporas estaban flotando sobre agua, colocada en un portaobjeto, eran así expuestas delante de una ventana pero no a la luz directa, y a temperaturas bajo las cuales la germinación hubiera tenido lugar en la oscuridad, la germinación se inhibía por completo. Si la exposición era de 1-1/4 a 1-3/4 de hora y después se colocaban los portaobjetos en la oscuridad, no había germinación. El efecto inhibitorio se debía a la parte azul del espectro, ya que se producía al colocar un filtro azul sobre el portaobjeto, pero no cuando se usaba un filtro rojo. Esta inhibición de la germinación subsiguiente en la oscuridad, debida a exposición previa a la luz a temperaturas que permiten la germinación en presencia de agua líquida, es reverso del efecto de inhibición por temperatura baja. Por eso sería interesante saber cuál sería el efecto combinado de exposición a la luz y a temperatura baja. Un factor de complicación sería que la exposición a la luz por períodos cortos podría tener un efecto estimulante (véase p. 31).

El efecto de mojar las esporas seguido por secamiento antes de que la germinación hubiera comenzado, fue estudiado por Nutman y Roberts (1963). Una vez que las esporas habían sido mojadas, aun por el período mínimo posible o sea 6 minutos (tiempo necesario para que se secan otra vez), aunque después se dejaron secas por sólo 5 minutos, se tenía una reducción muy marcada en el porcentaje de germinación, siendo ésta de 37,1 a 5,4 por ciento en el ejemplo citado. Estos valores eran de la misma magnitud, ya fuera que se utilizaran períodos húmedos más largos (hasta una hora) o períodos secos más largos (hasta 15 minutos). Existía evidencia que esto se debía a la interrupción de la germinación y no a

la inhibición, pues al prepararse una suspensión densa de esporas en agua se inhibe la germinación. Cuando las esporas se precipitaban en tal suspensión mediante centrifugación, y se secaba la masa resultante, se resuspendía y se atomizaba sobre discos de hojas, el porcentaje de germinación era similar al obtenido al asperjar la suspensión original.

Efecto de la Luz

La luz es un factor importante que influye en la germinación. Este hecho fue demostrado por primera vez por Bürk (1889). Él encontró que en un portaobjeto, aunque expuesto a la luz difusa en un laboratorio a una distancia considerable de la ventana, la germinación era completamente inhibida. No era necesaria la oscuridad absoluta. Desafortunadamente, no ofreció datos que permitan deducir con alguna exactitud las intensidades de luz con que él trabajó. Como ya se mencionó antes, él encontró que una exposición a la luz por 1-1/4 a 1-3/4 de hora, cuando las esporas se mojan por primera vez, evitaba por completo la germinación subsiguiente en la oscuridad. Sin embargo, cuando las esporas estaban secas y todavía unidas a las lesiones de la hoja, la exposición a la luz fuerte del sol por varias horas, aun hasta cuando la hoja se había secado completamente, carecía de efecto apreciable sobre la capacidad para una germinación subsiguiente.

Von Faber (1910), al estudiar la germinación sobre superficies foliares de *Coffea liberica* en Java, utilizando gotitas mantenidas mediante suministro de agua, obtuvo efectos similares a los de Bürk en cuanto a la exposición a la luz, pero encontró que había germinación con luz débil. Tampoco en este caso es posible deducir con exactitud las intensidades de luz que él utilizó. Mientras que él estaba de acuerdo con Bürk, en que la exposición a luz fuerte por una hora o más inhibía la subsiguiente germinación, él encontró que exposiciones más cortas podían estimularla. Esto también era aplicable cuando las esporas se mantenían en la oscuridad por tres horas y luego eran expuestas a la luz y devueltas nuevamente a la oscuridad. El efecto máximo ocurrió a los 30 minutos de exposición, tal como se muestra en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Porcentaje de germinación de uredósporas en gotitas de agua en hojas mantenidas por tres horas en la oscuridad, después expuestas a la luz fuerte por períodos diferentes y luego devueltas a la oscuridad.

Exposición a luz fuerte (minutos)	Porcentaje de germinación
0	9 - 14
10	- 22
20	25 - 28
30	26 - 32
40	18 - 22
50	7 - 15
60	8 - 10

Debe hacerse hincapié en que después del período preliminar de 3 horas en la oscuridad, ya había tenido lugar una germinación del 7 al 15 por ciento, lo cual indica que hubo poca o ninguna germinación adicional si no había exposición a la luz o cuando ésta excedía 50 minutos.

Resultados similares se obtuvieron cuando se utilizó luz débil, de intensidad insuficiente para inhibir la germinación, y se interrumpió por luz fuerte, pero el estímulo fue menor, siendo máximo con una exposición de 20 a 30 minutos. Los resultados presentados en el Cuadro 2 se obtuvieron cuando la exposición tuvo lugar inmediatamente después de colocar las esporas en la gotita de agua, seguida por un período en la oscuridad.

CUADRO 2. Porcentaje de germinación de uredósporas en gotitas de agua en hojas mantenidas por tres horas en luz difusa de intensidad insuficiente para inhibir la germinación; después expuestas a luz fuerte por períodos diferentes y finalmente colocadas en la oscuridad.

Exposición a luz fuerte (minutos)	Porcentaje de germinación
0	10 - 15
10	7 - 10
20	6 - 12
30	9 - 14
40	8 - 15
50	4 - 7
60	1 - 3

Por lo tanto, las exposiciones de hasta 40 minutos no afectaron apreciablemente la germinación, pero más allá de esto la redujeron marcadamente.

Experimentos con filtros fabricados con disoluciones de dicromato de calcio o cobre amoniacal demostraron que fue el extremo azul violeta del espectro el que resultó efectivo, confirmando las observaciones de Bürk. Esto también era aplicable al efecto estimulador.

Mayne (1932b) encontró que luz de una ventana hacia el norte en la India del Sur inhibió completa o casi completamente la germinación, tanto en gotitas de agua sobre un portaobjeto como en la superficie foliar. El consideró que esto enfocaba la atención hacia la noche como el período de la germinación de las esporas. Pero él insinuó que cierta evidencia de experimentos con inoculaciones indicaba que la luz difusa no tenía el mismo efecto inhibitorio. El también encontró que la luz débil no tenía el mismo efecto inhibitorio que la luz fuerte. George (1956) confirmó que la luz fuerte inhibía la germinación, la que era máxima en oscuridad completa.

Las propias investigaciones del autor (Rayner 1961c y también resultados sin publicar) confirmaron el efecto inhibitorio de luz relativamente fuerte, pero también mostraron que cierta germinación podía ocurrir en el envés de hojas expuestas a luz difusa en el laboratorio. En vista de esto, se llevaron a cabo observaciones al descubierto para ver si la germinación podía ocurrir bajo condiciones de campo durante las horas del día. En todos los casos se experimentó mucha dificultad en evitar que las gotitas de agua que contenían las esporas se evaporaran aún cuando no hubiera sol. Aunque las hojas inoculadas se encerraran en

bolsas de polietileno, metiendo toda la rama en una manga y luego se introdujera lentamente en un extremo de la bolsa aire, burbujeándolo a través de un recipiente con agua, las gotitas de agua atomizadas sobre las hojas se evaporaban rápidamente cuando brillaba el sol. También se llevaron a cabo en el campo inoculaciones en hojas, aún fijas en el árbol, durante una llovizna o cuando había un rocío suave sobre los haces foliares. En todos los casos las gotitas de agua se evaporaban antes de haber pasado suficiente tiempo para que la germinación tuviera lugar. La germinación a la luz del día en el campo es pues no sólo adversamente afectada por la luz misma, sino también por la evaporación de las gotitas de agua que lleguen a las hojas.

El efecto de interrumpir la germinación que ya había comenzado en la oscuridad, mediante exposición a luz relativamente fuerte (pero no luz solar directa) fue probado bajo condiciones de laboratorio, que eficientemente evitaban la evaporación de las gotitas de agua sobre las cuales flotaban las esporas en un experimento en que el envés de las hojas inoculadas miraba hacia arriba. Se obtuvo evidencia de que después de 3 horas en la oscuridad, período después del cual hubiera podido esperarse que ocurriera un poco menos que la mitad del porcentaje total de germinación posible si se hubiera mantenido la muestra en la oscuridad, no hubo más germinación después de la exposición a la luz. Sin embargo, continuó el crecimiento de los tubos germinales ya producidos. Similarmente, después de 4 horas en la oscuridad, la exposición a la luz impedía germinación ulterior, pero permitía el crecimiento del tubo germinal. Al examinar las curvas de probit de la frecuencia de distribución para el largo del tubo germinal, se deducía que tubos germinales de menos de 30μ quedaban expuestos a la luz. Con un largo mayor que éste, había inhibición decreciente proporcional al aumento en el largo del tubo germinal, y la inhibición cesaba en los tubos mayores de 110μ . Estas observaciones podrían indicar que la germinación comenzaba antes de amanecer, quizás no continuaba, pero que los tubos germinales ya producidos podrían seguir creciendo. Sin embargo, debe recordarse que estas conclusiones están basadas en resultados con intensidades de luz relativamente altas y quizás no sean aplicables para aquellas más bajas, tal como prevalecen en el campo al amanecer, y especialmente para hojas situadas en el interior del arbusto. Nutman y Roberts (1963) midieron las intensidades de luz en el envés de hojas en el campo en Kenia. La lectura más alta de 315 lux, se encontró en hojas expuestas a plena luz solar. Hojas en autosombra durante un día soleado dieron valores tan bajos como 24 lux, mientras que a medio día, en condiciones nubladas, 5 lux fue un valor común. Nutman y Roberts encontraron que bajo condiciones de laboratorio ocurría una germinación considerable a 10 lux, aunque siempre fue menor que en la oscuridad, confirmando así las observaciones del autor y de investigadores anteriores de que la germinación puede tener lugar en luz difusa.

Es evidente que en el campo durante el día las intensidades de luz en el envés de las hojas podrían bajar más del punto en el cual se produciría la inhibición, si éste fuese el único factor. Todavía queda el efecto observado por el autor de que las gotitas de agua se evaporan con frecuencia demasiado rápidamente durante la luz del día para permitir germinación. Queda por investigar, cuán importante es este factor y hasta dónde puede tener lugar la germinación (y penetración) durante la luz del día en el campo. Nutman y Roberts solamente investigaron el efecto de un nivel de intensidad luminosa, e investigadores anteriores ni siquiera definieron los niveles de "luz difusa" bajo los cuales observaron la germinación. Se requiere una investigación completa de los efectos de la luz en los rangos que puedan encontrarse en el campo, la interacción con la temperatura y los efectos de cambios de la oscuridad a la luz y viceversa, tal como ocurren al amanecer y anochecer. Especialmente el último punto, como se apreciará más adelante, es de importancia, pues quizás éstos sean los períodos más importantes durante los cuales podría tener lugar la infección.

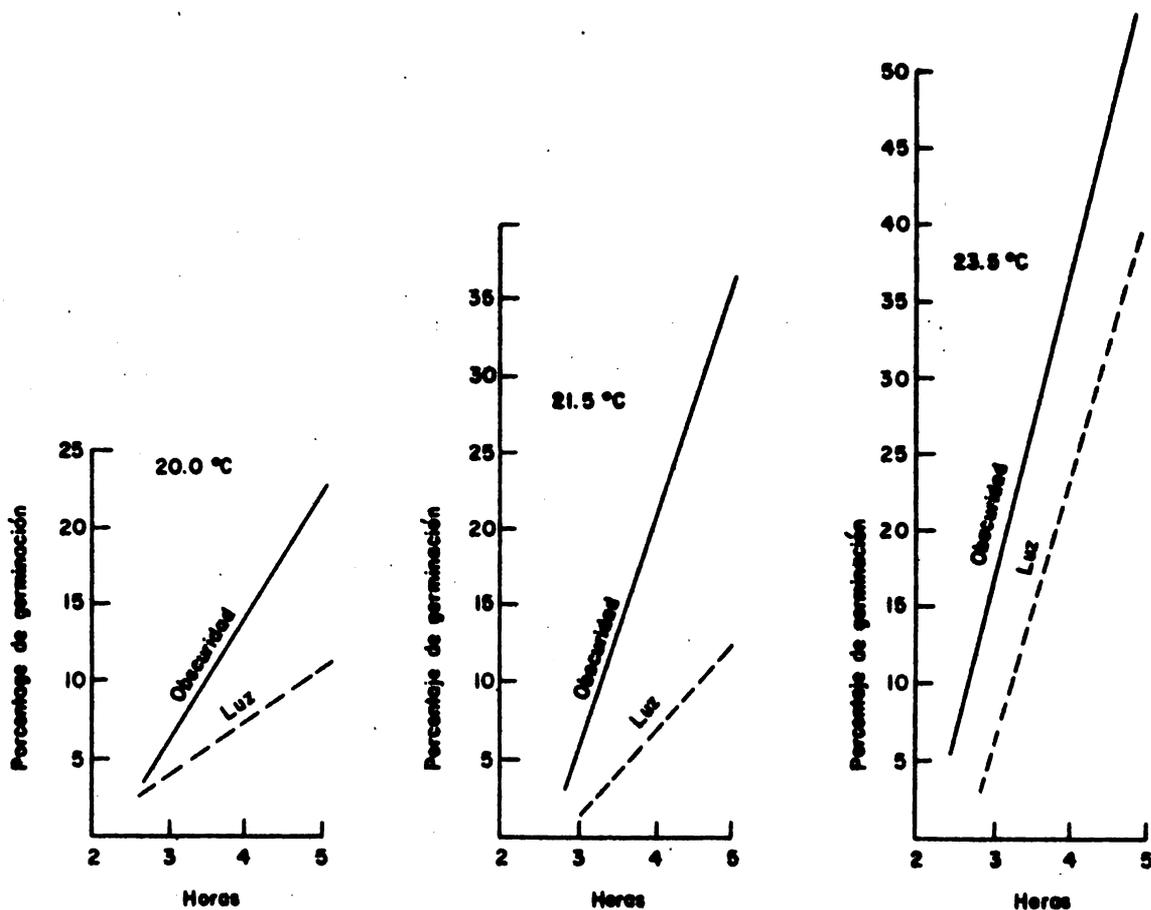


Figura 3. Germinación en oscuridad y luz para tres temperaturas. (Según Nutman y Roberts, 1963).

Con el único nivel de luz con que trabajaron, Nutman y Roberts estudiaron la interacción con la temperatura. Encontraron que no sólo el porcentaje de germinación era generalmente más bajo en la luz que en la oscuridad después de cualquier período transcurrido, sino que además cuanto más largo el período, más alta era la diferencia, es decir, más bajo porcentaje de germinación. La diferencia en porcentajes, sin embargo, decreció al acercarse a la temperatura óptima para la germinación, hasta que en el óptimo, los porcentajes fueron parecidos, aun cuando la cantidad de germinación fue más baja después de cualquier período dado. Cuando se permitió que transcurriera un período de suficiente duración a cualquier temperatura, el porcentaje de germinación en la oscuridad decayó más rápidamente que en la luz, siendo por eso los porcentajes totales finales de la germinación muy similares. En el nivel de temperatura más bajo estudiado (18°C), la luz estimuló un comienzo de germinación un poco antes que en la oscuridad, existiendo entonces durante un período corto un nivel de germinación más alto, aunque el porcentaje menor a la luz pronto disimuló esta diferencia. Sin embargo, podría resultar en una infección acelerada (véase p. 45).

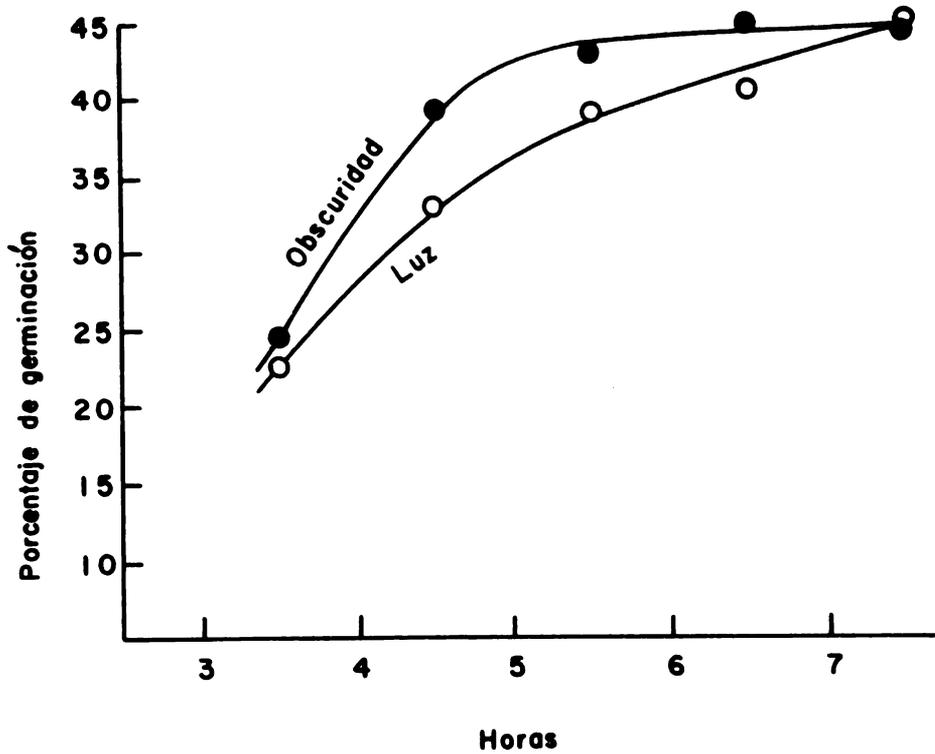


Figura 4. Germinación sobre agar de papa-dextrosa en oscuridad y luz. (Según Nutman y Roberts, 1963).

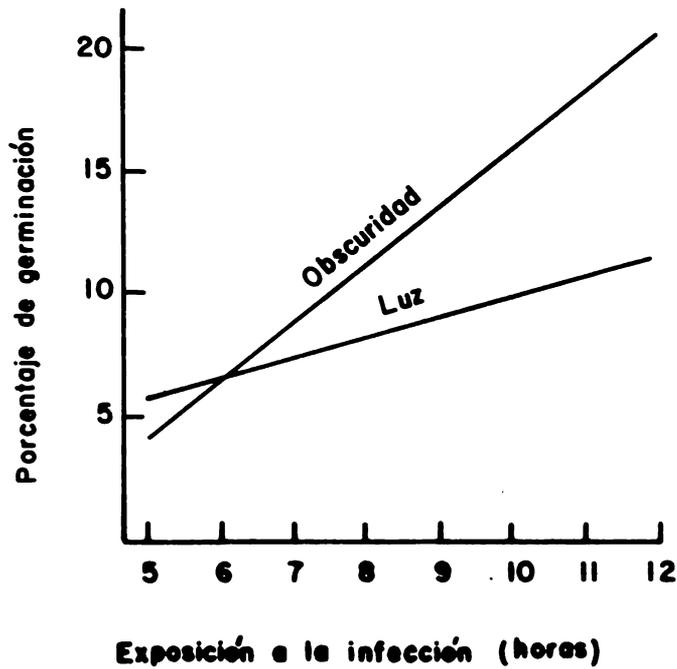


Figura 5. Producción de lesiones en relación con el tiempo de exposición a condiciones infecciosas en oscuridad y luz. (Según Nutman y Roberts, 1963).

Es evidente, de los resultados comentados anteriormente, que la relación entre la germinación de esporas de *Hemileia vastatrix* y la luz es compleja y que requiere mucha más investigación, no sólo en el laboratorio sino especialmente en el campo, antes de que pueda comprenderse claramente su papel determinante, y si ocurre o no infección bajo cualquier circunstancia.

Efectos del Substrato

Nutman y Roberts (1963) también investigaron bajo condiciones de laboratorio el efecto de la edad de la hoja sobre la germinación. Encontraron que la germinación sobre hojas jóvenes, completamente desarrolladas, las que todavía eran delgadas y con apariencia juvenil, después de un intervalo de 5 horas era 2 a 4 veces más alta que sobre hojas maduras situadas dos entrenudos más abajo contando desde el ápice, e intermedia sobre hojas situadas en el medio. No se ofreció información de si esta diferencia hubiera persistido con un período más largo para la germinación. La germinación sobre discos cortados de áreas cerca del borde foliar fue de 1,6 a 6,7 veces más alta en comparación con discos sacados cerca del centro de las mismas hojas. Debido a que por la manera en que crecen las hojas las áreas marginales son más juveniles, las diferencias observadas podrían deberse a las mismas causas de la diferencia entre hojas juveniles y hojas maduras.

Hubo una variación considerable entre la germinación sobre diferentes hojas. Donde la germinación era alta en el borde de la hoja, fue generalmente también alta cerca del nervio central, sugiriendo por lo tanto un factor intrínseco de "hoja" que afecta la germinación.

Efecto de Disoluciones diluidas de Fungicidas

Nutman y Roberts (1962c) han informado que diluciones muy grandes de óxido cuproso o sulfato de cobre estimulaban la germinación, cuando ésta ocurrió sobre películas de agar que contenían dichos fungicidas, estaban colocados sobre portaobjetos. Con óxido el efecto fue máximo a 0,16 ppm de cobre y decreció rápidamente con concentraciones mayores. Cuando deliberadamente se dejó envejecer las esporas hasta que casi habían perdido su viabilidad, entonces resultó un grado muy alto de estímulo (150 veces). Aunque la cantidad de datos no era adecuada para conclusiones seguras, parecía existir una relación logarítmica entre germinación a dilución óptima y en ausencia del fungicida.

Efecto de Concentración

Nutman y Roberts (1963) informaron que las esporas no germinan cuando están en suspensión concentrada, y hasta parece que se inhibe la germinación incipiente (véase p. 40).

Germinación bajo Condiciones de Campo

Aunque varios investigadores han estudiado la germinación en el laboratorio, ninguno, con la excepción del autor, parece haber hecho observaciones en el campo, contentándose con hacer deducciones sobre lo que probablemente ocurriría según sus observaciones de laboratorio. Por ejemplo, Burk (1889) pensó que sólo hojas muy jóvenes podrían permanecer suficientemente tiempo húmedas después de un aguacero para que ocurriera la germinación y la infección. Mayne (1932b) consideró que la inhibición de la germinación por la luz dirigía la atención hacia las horas de la noche como período para la germinación de las esporas, concepto que fue apoyado por el autor (1961c). Nutman y Roberts (1963), por

otro lado, con base en sus investigaciones sobre el efecto de la temperatura, constataron que las temperaturas bajas que se presentan durante la noche en las áreas cafetaleras de Kenia hacen muy poco probable que pueda ocurrir la germinación o penetración. Ellos no tomaron en consideración las observaciones del autor, que no están de acuerdo con esta opinión, y que en realidad se hicieron en su mayor parte para verificar si las temperaturas bajas de la noche podían impedir la germinación.

En estas pruebas, llevadas a cabo en el campo en la Estación de Investigaciones de Café, Riuru, Kenia, a una altura de 1800 msnm en enero y febrero de 1957, se observó repetidamente que la germinación tiene lugar durante la noche. Se colocaron esporas sobre las hojas de una planta en maceta que se dejó a la intemperie, y luego se rociaba ligeramente con agua a una de las siguientes horas: 8, 18 ó 22 horas. Luego la alta humedad relativa se mantenía introduciendo las puntas de las ramas en bolsas de polietileno. En confirmación de otras observaciones, no se registró nada o muy poca germinación a las 18 horas (poco antes del anochecer) en las esporas mojadas en la mañana. Sin embargo, a las 22 horas había ocurrido una germinación considerable, tanto en esporas mojadas a las 8 como a las 18 horas. El promedio de germinación fue un 55 por ciento del valor observado a las 8 horas de la mañana siguiente, con un rango total del 7 al 100 por ciento. No se notó un aumento ulterior durante el día siguiente, salvo en una excepción.

El efecto que tiene mojar las esporas durante el día sobre la germinación en la noche fue variable. En tres pruebas el efecto pareció ser muy reducido. En una prueba, aparentemente ocurrió una inhibición completa de germinación ulterior pero el lote de esporas utilizadas dio en otros experimentos sólo porcentajes muy bajos de germinación. En otra prueba hubo evidencia de un estímulo de la germinación durante el período de 18 a 22 horas, pero el efecto se había disipado al llegar el día siguiente. En resumen, existía poca evidencia de que el efecto de inhibición de la germinación subsiguiente, debido a exposición a la luz mientras que las esporas estaban mojadas, tal como lo observó Burk (véase p. 31) y como fue modificado por von Faber (véase p. 31), tuviera importancia bajo condiciones de campo.

Por lo tanto, la evidencia obtenida por el autor muestra claramente que bajo las condiciones que reinaban al efectuarse sus observaciones, la germinación tenía lugar en el campo durante la noche tanto, en el período de 18 a 22 horas como de 22 a 8 horas. Según Nutman y Roberts, las temperaturas durante estos períodos eran demasiado bajas para permitir germinación. Los mismos autores citaron para esta aseveración datos obtenidos en una plantación por Kirkpatrick con temperaturas de marzo, cuando tales permanecieron inferiores a 17°C durante la noche en un promedio de 10,5 horas. Sin embargo, esta plantación estaba ubicada, en opinión del autor, cerca del límite superior de altura para la roya y en esta área la enfermedad raras veces es de importancia económica. El autor ha examinado registros de termógrafo obtenidos de un instrumento colocado en una parcela de café en la Estación de Investigaciones de Café, a unos 135 m menos de altura de la que Kirkpatrick usó para sus observaciones, y donde los ataques de roya tienen que ser frecuentemente controlados mediante atomizaciones. Para la semana del 23 al 30 de enero de 1958, que parece típica de los meses de enero a marzo según los registros de grados-hora/semana, de dicha Estación por un período de cuatro años, las temperaturas durante el período de 18 a 6 horas eran inferiores a 17°C durante un intervalo promedio de 6 a 8 horas, dando 5 a 2 horas con temperatura superior y un rango de 2, 3 a 11, 25 horas para los días individuales. Las temperaturas sólo fueron inferiores a 15°C durante un período promedio de 0, 2 horas y en cuatro de las siete noches permanecieron sobre el nivel. Las curvas diurnas mostraron valores mínimos alrededor del amanecer o a veces una hora o algo más tarde. Las temperaturas permanecieron bajas de una a tres horas después del amanecer y luego subieron durante el día para alcanzar un valor máximo cerca de las 15 a las 16 horas. A las 18 horas habían bajado sólo ligeramente. A continuación tenía lugar un descenso considerable hasta aproximadamente las 22 horas y luego la disminución era mucho más gradual hasta la mañana siguiente. Esto significa, a juzgar por los datos de Nutman

y Roberts, que temperaturas desde el anochecer hasta las 22 horas eran favorables para la germinación, mientras que en las tres primeras horas de la madrugada eran inferiores del valor mínimo. Por lo tanto, aun tomando en cuenta el estímulo por el frío encontrado por estos investigadores, contrario a lo que propusieron, pareciera muy poco probable que la germinación pudiera tener lugar a esa hora. Más tarde en la mañana, cuando las temperaturas alcanzan su valor óptimo para la germinación, la humedad es relativamente baja, a menudo aun hasta cuando llueve; cuando las salpicaduras de lluvia alcanzan el envés foliar, pueden evaporarse rápidamente impidiendo así la germinación (véase p. 32). aun cuando las intensidades de luz sean lo suficientemente bajas para no inhibirla. En realidad, aunque se mantenía la humedad a un nivel alto mediante el uso de protectores de polietileno, el autor raras veces encontró en el campo germinación durante las horas del día.

Las observaciones del autor también indicaban claramente que la germinación que comenzaba a las 18 horas no sólo continuaba después de las 22 horas sino que, aunque las esporas no fueran mojadas antes de las 22 horas, la germinación también tenía lugar invariablemente y alcanzaba los mismos niveles a las 8 horas del día siguiente, hasta con un 56 por ciento del total de las esporas germinando. Como los niveles de baja temperatura que existen entre el anochecer y las 8 horas y el período corto disponible (menos de 2 horas) hacen bastante improbable que alguna germinación pudiera haber ocurrido en este período, es de suponer que la germinación debe haber ocurrido después de las 22 horas cuando las temperaturas, según el criterio de Nutman y Roberts, raras veces son lo suficientemente altas. Así pues, en la semana de observaciones, las temperaturas fueron inferiores a 17°C durante toda la noche, en 5 noches y superiores solamente en 3 horas en una noche y por 5 horas en otra noche. De esto pareciera desprenderse que los resultados de laboratorio de Nutman y Roberts pueden no ser una buena guía de lo que puede suceder en el campo.

La exposición anterior hace evidente que los efectos ambientales sobre la germinación son complejos y que existen interacciones fuertes entre los diferentes factores involucrados. Por esa razón es imprudente llegar a conclusiones definitivas con respecto a lo que ocurrirá en el campo partiendo de observaciones hechas en el laboratorio sobre los efectos de factores relativamente sencillos tales como niveles constantes de temperatura. Tales deducciones deben compararse cuidadosamente con observaciones de campo y mucho más trabajo sobre germinación en el campo debe llevarse a cabo antes de que se puedan efectuar generalizaciones satisfactorias.

Mientras tanto se postularán las siguientes deducciones tentativas. En las áreas del East Rift en Kenia, donde la roya es importante, la germinación probablemente es más fomentada por condiciones como las que existen alrededor del crepúsculo y durante las primeras horas de la noche. También puede tener lugar después de las 22 horas, pero la germinación se vuelve menos probable con el avance de las horas de la noche, cuando las temperaturas bajan. Existe evidencia de que la intensidad lumínica en el envés de las hojas no sea durante el día lo suficientemente alta para inhibir la germinación. Esta podría ocurrir si la humedad fuera suficientemente alta y otros factores fueran tales como para evitar la evaporación de las gotitas de lluvia salpicadas; pero es poco probable que estas condiciones se presenten con frecuencia. Sin embargo, si se cumplen estas condiciones, a cualquier hora del día podría haber temperaturas favorables, con excepción de las primeras dos o tres horas después de amanecer. Es muy probable que las condiciones específicas existan en la mañana o avanzada la tarde, mientras que las temperaturas entre las 14 y las 16 horas exceden frecuentemente, pero no siempre, los niveles que según las investigaciones de Nutman y Roberts, aparentan ser las más favorables.

En áreas de mayor altura, la ausencia o el bajo nivel de ataques de roya posiblemente podrían relacionarse con los bajos niveles de temperatura durante las noches, lo que reduciría el número de oportunidades en las cuales podría ocurrir la germinación. Por el contrario, una disminución de la altura significaría tanto una mayor frecuencia de noches

con temperaturas óptimas, como también un mayor número de horas en tales noches cuando podría ocurrir la germinación. Así, aunque tuviera lugar la germinación durante las horas del día bajo condiciones naturales en un grado apreciable, su importancia relativa probablemente disminuiría rápidamente con una reducción de la altura. Por lo tanto, es posible que uno de los factores que contribuyeron a la severidad de esta enfermedad en Ceilán fuera el clima insular, que ofrece temperaturas relativamente altas durante la noche y en consecuencia una alta incidencia de ocasiones en que puede haber germinación.

Viabilidad de Esporas

Los trabajos más antiguos varían considerablemente con respecto al tiempo durante el cual las uredósporas pueden retener su viabilidad. Investigaciones más recientes, sin embargo, han explicado cómo han podido ocurrir estas variaciones, puesto que demostraron que la viabilidad es seriamente afectada por un número de factores distintos. Este tópico es de mucho interés debido a sus repercusiones sobre epidemiología, método de diseminación y control.

Ward (1881) encontró que esporas mantenidas secas en un tubo herméticamente sellado, eran capaces de germinar aún después de 6 semanas. Bürk (1889) también reportó que esporas secas tenían su viabilidad por un tiempo considerable, aun cuando fueran expuestas a la luz directa del sol. Lesiones en esporulación podrían ser dejadas por muchas horas directamente al sol, hasta que la hoja hospedante estuviera completamente disecada, sin pérdida de viabilidad. Sin embargo, cuando las esporas se dejaban en agua cerca de una ventana por tan poco tiempo como 1-1/4 a 1-3/4 de hora, no germinaban más al ser colocadas en la oscuridad. Esporas de lesiones provenientes de hojas que se habían caído al suelo raras veces pudieron ser inducidas a germinar. Bürk señaló que si había esporas en el haz de tales hojas, entonces morirían debido a la exposición de la luz tan pronto como quedaran mojadas debido a la lluvia, mientras que si estaban sobre el envés de las hojas germinarían pronto debido a la humedad reinante y eventualmente morirían. Él consideró que lesiones en hojas caídas al suelo representaban poco peligro en cuanto a la diseminación de la enfermedad. A pesar de sus conclusiones, muchos fitopatólogos posteriormente recomendaron la recolección y destrucción de hojas caídas. Sadebeck (1897), contrario a Ward y Bürk, encontró que la facultad de germinar se había perdido ya en esporas secas en tan corto tiempo como dos días. Él también encontró que las esporas de hojas secas y caídas habían perdido su capacidad de germinar. Sin embargo, Carruthers (1904) notó que esporas expuestas a la luz solar sobre un portaobjeto permanecieron viables. Mayne (1932b) reportó que había, en relación a la viabilidad, una viabilidad considerable entre lotes de esporas almacenadas durante 4 días en tubos de vidrio, pero que no se pudo lograr germinación alguna después de un almacenaje de 6 meses en el laboratorio bajo condiciones de humedad mediana.

En 1956 George confirmó la observación anterior de Bürk de que las esporas de hojas caídas no podían representar un papel importante en la iniciación de una infección en fecha posterior; él encontró que esporas almacenadas en seco perdían su viabilidad después de un mes. El mismo autor encontró también que esporas provenientes de lesiones recientes daban un porcentaje de germinación más alto que las de una de mayor edad.

En pruebas llevadas a cabo en la Estación de Investigaciones de Café, Ruiru, Kenia (Reportes Anuales 1957-58 y 1958-59) por la Sra. Nicholls, se averiguó que esporas de las razas I y II almacenadas en un tubo de ensayo en la oscuridad no mostraron un porcentaje de germinación mayor que en un tubo similar, mantenido a la luz en el laboratorio; pero la viabilidad decreció durante un período de 23 días. Normalmente las esporas permanecían viables en el laboratorio a intensidades normales de luz durante 3 a 4 semanas, pero la exposición a luz solar fuerte las mató dentro de 48 horas.

Nutman y Roberts (1963) llevaron a cabo trabajos detallados sobre los factores que afectan la viabilidad de las esporas. Encontraron que esporas colocadas sobre hojas, cuando se mojan aun por un período tan corto como de 6 minutos (el tiempo que se necesitaba para mojarlas y disecarlas de nuevo), y luego se secaron por 5 minutos y después se mojaron otra vez, el porcentaje de germinación se reduciría notablemente, observándose valores del 37,1 al 5,4 por ciento en la reducción. El efecto no fue mucho más acentuado cuando se extendió el período seco a 15 minutos ni cuando la mojadura preliminar se extendió hasta una hora. Parece que el efecto se debe al comienzo de la germinación, ya que no ocurre cuando existe una alta concentración de esporas, condición que inhibe la germinación de esporas. Cuando se preparó una suspensión muy concentrada de esporas y se dejó en reposo por una hora, luego se centrifugó y se secó la masa de esporas así obtenidas, entonces al asperjarlas sobre discos de hojas el porcentaje de germinación fue prácticamente el mismo que hubiera obtenido asperjando una parte de la suspensión original inmediatamente después de su preparación. Experimentos mojado esporas sobre una película de agar en lugar de sobre una superficie foliar, dieron resultados similares, aunque no tan claros, probablemente porque tales películas no se secan uniformemente y son difíciles de mojar otra vez. Sin embargo, demuestran que el efecto es independiente de cualquier influencia por parte de la hoja. Estas observaciones indican que después de un aguacero cualquier espора que no haya sido mojada el tiempo suficiente para germinar, no sobrevivirá hasta que nuevamente haya condiciones apropiadas de humedad. Esto también se refiere a esporas en pústulas que han sido mojadas por salpicaduras de lluvia, según Nutman y Roberts (1962a), aunque esta afirmación parece estar en conflicto con sus propias observaciones con suspensiones concentradas de esporas.

En estudios detallados sobre el efecto del tiempo sobre la viabilidad, Nutman y Roberts (1963) recolectaron en el campo hojas con pústulas esporulando fuertemente; las esporas fueron transferidas en una caja Petri y mantenidas en luz difusa sobre la mesa del laboratorio. Las hojas fueron colocadas en un recipiente de vidrio cerrado por 24 horas y la cosecha de nuevas esporas recolectada en otra caja Petri. De ambas cajas se tomaron

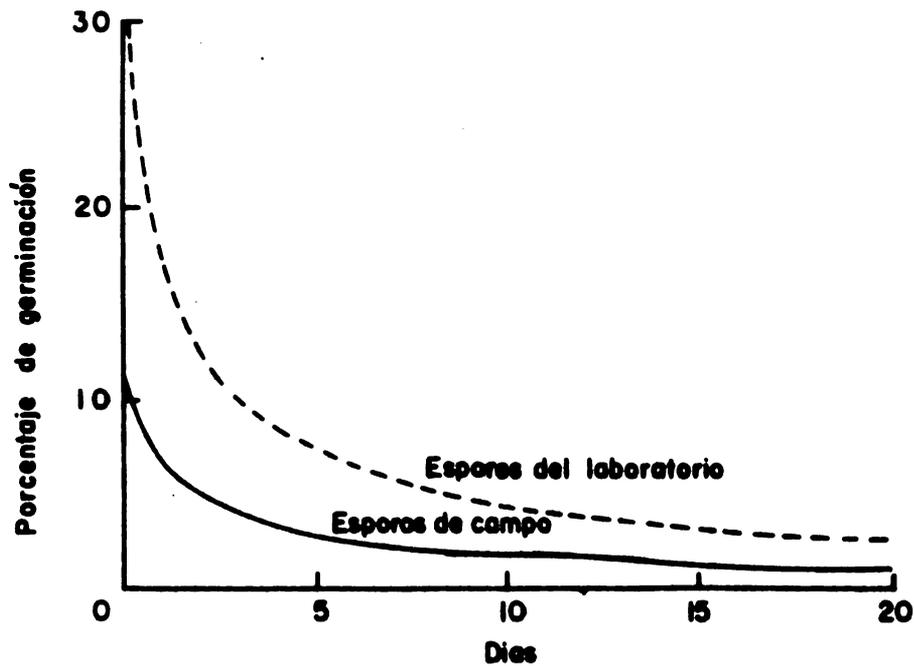


Figura 6. Efecto del envejecimiento de uredosporas sobre la viabilidad. (Según Nutman y Roberts, 1963).

alícuotas a intervalos, se suspendieron en agua y luego fueron atomizadas sobre placas de agar de papa-dextrosa; luego se incubaron y se contaron para determinar el porcentaje de germinación después de 5 horas. Ocurrió una recaída rápida con el tiempo. Los lotes de esporas producidas en el campo dieron un porcentaje de germinación inferior; pero cuando se trazaron curvas del transcurso del decaimiento de la germinación, expresado como porcentaje de la germinación inicial las curvas fueron muy similares. Se calcularon las siguientes ecuaciones de regresión para las curvas:

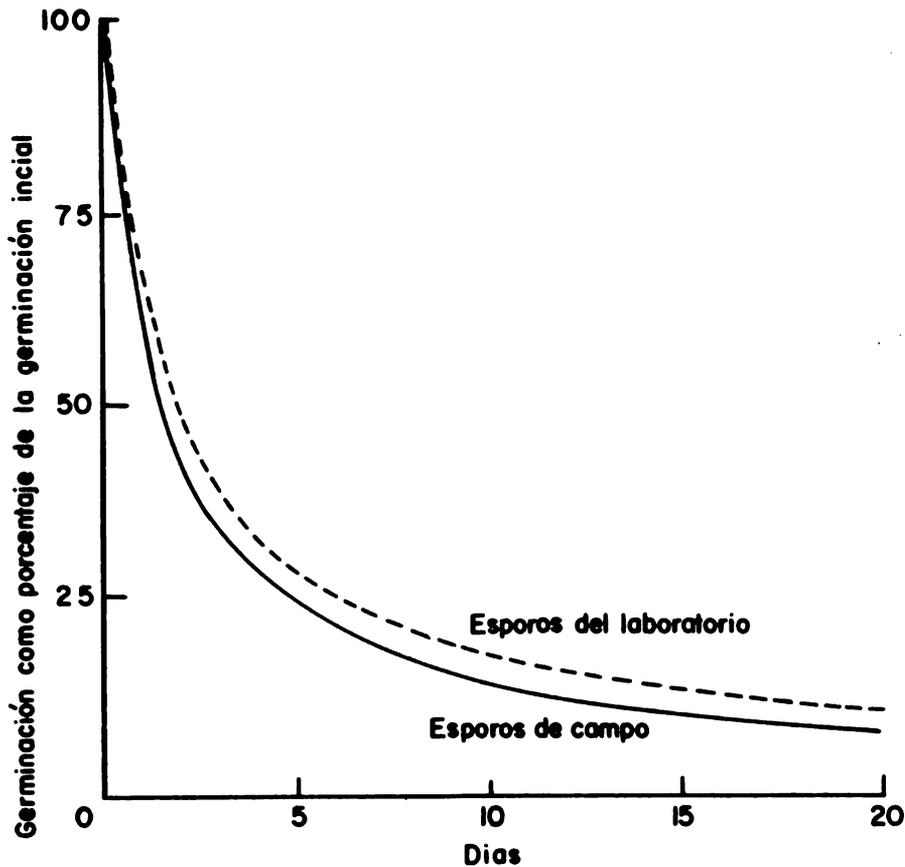


Figura 7. Efecto del envejecimiento sobre la pérdida en porcentaje de viabilidad. (Según Nutman y Roberts, 1963).

Y (porcentaje de germinación)

$$= 29,7 (x + 1)^{-0.809} \text{ para esporas formadas en el campo.}$$

$$= 10,7 (x + 1)^{-0.712} \text{ para esporas producidas en el laboratorio}$$

donde x = número de días de almacenamiento.

La germinación inicial se redujo por lo tanto a la mitad después de dos días. Nutman y Roberts enfatizaron la importancia que esta pérdida rápida de la viabilidad podía tener sobre la propagación de la enfermedad. Los resultados quizás conduzcan a la idea de que solamente un inóculo muy fresco podría ser de algún valor para fines de la inoculación artificial. Sin embargo, es práctica común el enviar mediante correo hojas disecadas con pústulas desde Africa a Europa; y que las esporas aún estén capacitadas de producir infecciones cuando son inoculadas, aun hasta un mes después de su recolección; tales inoculaciones, como debe recordarse, implican un número muy grande de esporas.

Frecuentemente en una pústula vieja las esporas periféricas son anaranjadas, mientras que las del centro son blancuzcas. Nutman y Roberts comprobaron que este efecto no se debe al envejecimiento *in situ*, puesto que si se removieran todas las esporas, las nuevas esporas formadas en el centro también serían blancuzcas. Estos autores encontraron que las esporas del centro tenían un porcentaje de germinación muy bajo, 0 – 3 por ciento comparado con 35 – 55 por ciento para esporas de las regiones periféricas de las mismas lesiones. Puesto que una pequeña porción de esporas también son coloreadas en el centro de la lesión, Nutman y Roberts concluyeron que las esporas incoloras son incapaces de germinar.

Crecimiento del Tubo Germinal y Formación del Apresorio

Aparte de descripciones muy generalizadas, el crecimiento del tubo germinal ha recibido muy poca atención. Ward (1882b) encontró que el crecimiento era menos vigoroso sobre una placa de vidrio o sobre el haz de una hoja de café que sobre el envés, pero que se extendía y ramificaba más. Von Faber (1910) encontró que si esporas germinaban sobre superficies foliares en gotitas de agua y éstas se mantenían grandes mediante adición de agua, se producían tubos germinales largos y delgados y no se formaba apresorio. La única investigación cuantitativa parece ser la del autor sobre el efecto de la luz, y ya fue descrita (véase p. 33).

Es experiencia del autor que la formación de apresorios no es común cuando la germinación tiene lugar sobre una superficie de vidrio, aunque sí puede ocurrir; quizás se vea con más frecuencia cuando las gotitas o películas de agua son poco profundas. Aun en el envés de las hojas solamente una parte de los tubos germinales producen normalmente apresorios. El porcentaje más alto observado por el autor fue de 68 por ciento, pero el promedio fue de un 25 por ciento. Esto está muy de acuerdo con la cifra de 24 por ciento observada en un estudio reportado por Nutman y Roberts (1963); pero estos autores dieron adicionalmente una cifra de 14 por ciento de tubos que habían penetrado estomas sin la formación de un apresorio.

El autor ha estudiado el progreso de la formación de apresorios en relación con el tiempo de incubación de las esporas (Rayner 1961c). Se pensó que una curva sigmoide era aplicable. Pero no se disponía de suficientes datos para una conclusión final. A 23°C, mediante extrapolación, se obtuvo en uno de los experimentos evidencia para un período mínimo de 4½ horas para el comienzo de la producción de apresorios; pero en un segundo, el tiempo resultó ser 7½ horas. En este último, el 50 por ciento del número total de apresorios fueron producidos en 8½ horas y el 95 por ciento en 10 horas.

Nutman y Roberts (1963) consideraron que el progreso de la formación de apresorios con el tiempo era lineal a esta suposición. La misma cabe aplicarse que a la similar para la germinación, comentada en la página 28. Estos autores siguieron el efecto de temperatura sobre el porcentaje de esporas que germinan formando apresorios sobre discos foliares; encontraron una relación similar a la reportada para la germinación misma. La curva de respuesta fue bimodal, con máximos cerca de 21,5°C y 25°C.

El autor estudió la formación de apresorios en los mismos experimentos para la germinación de esporas que se describieron anteriormente (véase p. 36). Se encontró que los apresorios eran producidos antes de las 8 horas de la mañana cuando las esporas habían sido mojadas a las 18 horas de la noche anterior; en tres pruebas fue suficiente humedecimiento entre las 22 y las 8 horas para su formación. A juzgar por las observaciones en el laboratorio, se requeriría por lo menos un período de 3 a 4 horas de condiciones húmedas antes de amanecer para que se formen los apresorios a esta hora; esto significa que la caída de lluvia después de las 2 horas sería efectiva. En realidad, si se consideran las relaciones de temperatura encontradas por Nutman y Roberts, más bien parece probable que la lluvia

debiera caer más temprano. Por otro lado había evidencia de que la formación de apresorios podía continuar durante el día siguiente, si se mantuvieran las condiciones húmedas. Así, si la lluvia cayera más tarde y si las condiciones de humedad continuaran después del crepúsculo, la germinación, seguida por la formación de apresorios después del amanecer, podría quizás ocurrir. Esta probabilidad requiere más investigación.

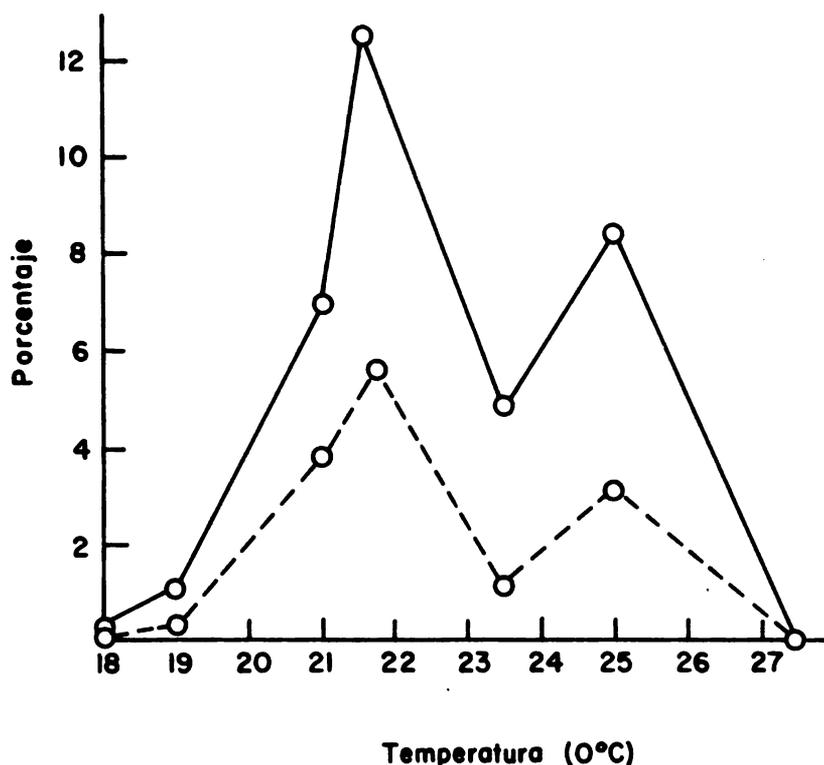


Figura 8. Efecto de temperatura sobre la formación de apresorios en discos de hojas, 70.000 esporas. (Según Nutman y Roberts, 1963).

Infección

Abbay en 1878 fue el primero en intentar la infección de hojas al colocar sobre ellas uredósporas y micelio; sin embargo, él no tuvo éxito y fue Ward quien logró la primera infección experimental. Él construyó una cámara de inoculación especial para mantener una gotita de agua, que contenía las esporas, sobre la superficie foliar sin que se evaporara. Esta cámara consistió en un pedazo de papel absorbente mojado con un pequeño hueco cortado en su centro y colocado sobre la hoja de café. La gotita conteniendo las esporas se puso en el centro del área expuesta por el hueco en el papel absorbente; se cubrió con un anillo de vidrio y un cubreobjeto. El papel absorbente se mantuvo húmedo mediante un chorrito de agua en un sifón. Ward encontró que se obtenía infección al dejar la gotita en su lugar durante 48 horas. Se podían infectar hojas de cualquier edad; sin embargo, la esporulación ocurría más temprano y era más abundante cuando se empleaban hojas jóvenes. Él podía detectar la presencia de micelio en las hojas dentro de un lapso de tres o cuatro días después de la inoculación.

Más tarde (1882b) Ward reportó que se formaban apresorios sobre estomas en tan poco tiempo como 12 a 14 horas. No se llevaron a cabo experimentos exactos para determinar el período mínimo en el que puede tener lugar la infección; sin embargo, en varios informes del trabajo de Ward se ha creído erróneamente que él indicó 12 horas como el tiempo mínimo en el cual podría tener lugar la infección. Bürk (1889) hizo esta conjetura pero argumentó, con base en observaciones hechas en el campo, que realmente debiera ocurrir en un tiempo más breve, pues las hojas raramente permanecen húmedas por suficiente tiempo como para que tenga lugar la infección. El encontró que la germinación podía ocurrir en tan poco tiempo como 2 horas y 20 minutos y pensó que la penetración podía ocurrir poco tiempo después. A pesar de esto, pensó que solamente las hojas muy jóvenes podían permanecer mojadas por tiempo suficiente, después de una noche lluviosa, para que ocurriera infección. Observaciones con respecto a la edad de la hoja, cuando lesiones jóvenes se tornan evidentes primeramente, confirmaron esta conclusión. Solamente cuando ocurrieron rocíos fuertes hubo excepción a esta regla.

Los estudios de Ward demostraron que la penetración siempre ocurría vía una estoma y que era precedida por la formación de un apresorio. Puesto que en hojas de café existen estomas solamente en el envés, la conclusión lógica es que las infecciones pueden tener lugar sólo en este lado de la hoja. Ward, sin embargo, encontró que si la epidermis era removida de la superficie superior de la hoja, crecían germinales directamente en el mesofilo. Von Faber (1910) confirmó que, aunque las esporas pueden germinar igualmente bien en ambas caras de la hoja, la infección sólo ocurría cuando eran colocadas sobre el envés de las hojas.

Estudios exactos del tiempo en el cual ocurre la penetración y su relación con factores ambientales no se hicieron sino hasta hace relativamente muy poco: fueron iniciados por el autor en 1954 (Rayner 1961c), cuando se llevaron a cabo inoculaciones durante un período de 12 meses en arbustos en el campo en Ruiru, Kenia. Pequeñas gotas de agua fueron colocadas cerca del nervio central en los ángulos con los nervios laterales principales y un número considerable de esporas secas transferidas a sus superficies. Las hojas fueron ligeramente rociadas con agua y encerradas conjuntamente con una parte de la rama sobresaliente y hojas vecinas en una bolsa de polietileno. Las inoculaciones se llevaron a cabo en tres árboles de bajo rendimiento y tres de alto rendimiento. En cada rama se inocularon dos hojas jóvenes y dos adultas, habiendo alcanzado las primeras su tamaño casi o completamente definitivo, pero todavía reteniendo su brillante apariencia juvenil. En el porcentaje de inoculaciones no se pudo detectar con éxito diferencia alguna entre árboles de alto y bajo rendimiento o entre hojas jóvenes y adultas. En un segundo experimento, en el cual se inocularon hojas jóvenes, de mediana edad, y adultas en cada rama, tampoco pudo detectarse diferencia alguna en el porcentaje de infección lograda. En numerosas inoculaciones en el invernadero para la determinación de razas o susceptibilidad varietal, en las que se recogieron esporas secas con un pincel saturado con agua y se esparcieron sobre la superficie foliar, la que fue luego ligeramente rociada con agua, no se encontró dificultad alguna en infectar hojas adultas de cualquier edad u hojas jóvenes que se aproximaban ya a su tamaño adulto. Se encontró que fue bastante difícil inocular hojas muy jóvenes, con un tamaño menor de 5 cm. Esto probablemente se debía a su superficie que repele fuertemente al agua, lo que impedía extender bien el inóculo y hacía difícil una distribución uniforme de gotitas de agua mediante atomización. En el campo se observaron infecciones naturales en hojas de todas las edades, con excepción de aquellas de apariencia todavía (brillante) juvenil. Esta apariencia juvenil se pierde a una edad entre 5 y 23 semanas. Puesto que el período de incubación es en promedio de 5 semanas, se puede deducir que la infección natural puede ocurrir mientras las hojas estén todavía brillantes, pero no antes de que hayan alcanzado su tamaño casi adulto. Mayne (comunicación privada), en estudios sobre la edad de hojas en las cuales ocurre en el campo la infección, encontró evidencia de que las hojas más jóvenes no son propensas a la infección y consideró que esto se debía a la dificultad para mojarlas.

D'Oliveira ha encontrado (comunicación personal) en su trabajo, efectuado bajo condiciones de invernadero, que el estado en el cual las inoculaciones tenían mayor éxito, es cuando las hojas estaban casi o completamente desarrolladas, pero aún con apariencia brillante. El encontró difícil inocular hojas viejas. Su técnica consistía en transferir esporas secas a la superficie foliar sobre la navaja de un escalpelo o en un pincel seco, para distribuir las luego en estado seco sobre la superficie, la cual era luego ligeramente rociada. Más recientemente el autor, mientras trabajaba en Kew, Inglaterra, también encontró que inoculaciones en hojas completamente adultas o viejas no tenían éxito. Butt (comunicación personal) también reportó mayor susceptibilidad en hojas jóvenes, lo que se nota especialmente cuando se emplea una concentración baja de esporas. Nutman y Roberts (1963) encontraron que el porcentaje de germinación de esporas es más alto en hojas jóvenes, casi completamente desarrolladas, que en hojas adultas o viejas (véase p. 36). Tal efecto sólo se reflejaría mediante diferencias en la susceptibilidad relativa si la concentración de inóculo vivo fuera baja y esto podría explicar las diferencias que se han observado. Nutman y Roberts señalaron que bajo condiciones de campo, la concentración del inóculo probablemente con frecuencia es lo suficientemente baja para que las diferencias en porcentajes de germinación sean críticas en determinar si hojas viejas pueden o no ser infectadas. Se puede concluir que las hojas nuevas, casi o completamente desarrolladas, son probablemente las más susceptibles y las más frecuentemente infectadas bajo condiciones de campo; esa susceptibilidad decae con el avance en edad y la infección en hojas muy jóvenes es probablemente baja o sin importancia debido a las propiedades físicas de su superficie.

Nutman y Roberts (1963) estudiaron los efectos de algunas variables sobre la infección, con base en la formación de lesiones bajo condiciones de laboratorio. La inoculación se hizo siempre aplicando esporas bien mojadas mediante atomización sobre las hojas por medio de un lápiz "Aerógrafo", método sujeto a crítica, tal como se indicó en la página 29. La relación entre el número de lesiones formadas y temperatura en luz difusa fue similar a la encontrada para el efecto sobre la germinación, aunque el rango fue un poco más reducido. Existió un óptimo a 22°C y no hubo tendencia bimodal, probablemente debido a que la concentración del inóculo se mantuvo alta.

Debe anotarse en ésta y en la experimentación siguiente, que la relación entre condiciones ambientales y el proceso global de infección desde la germinación hasta la penetración, fue evaluada y que no se intentó determinar los efectos sobre los diferentes estados de desarrollo del proceso. Por eso, si los factores que afectan la germinación fueron limitantes, los de estados posteriores estarían enmascarados. Así el óptimo para el proceso de penetración podría ser diferente del mencionado anteriormente para la infección completa.

Se investigó el efecto sobre el porcentaje de inoculaciones con éxito en relación al tiempo que se dejó el inóculo en contacto con la hoja bajo condiciones de intensidad lumínica baja (aproximadamente 10 lux) comparado con la oscuridad. La relación fue lineal, siendo la tasa de aumento mayor en la oscuridad. Con el tiempo más corto de exposición que se empleó, o sea de 5 horas, el porcentaje de infección logrado fue ligeramente más bajo en la oscuridad; a las 12 horas fue casi el doble.

Este comienzo más temprano de la penetración en la luz podría deberse a que se estimula a pocos tubos germinales para que penetren las hojas más tempranamente, mientras que la mayoría tarda más. La interpretación de Nutman y Roberts es que esto se debe al efecto similar sobre la germinación que ellos observaron a temperaturas más bajas (véase p. 34). Por lo tanto, sería de esperar que el efecto sobre la penetración ocurriera igualmente sólo a temperaturas más bajas, pero no se ofreció información sobre este punto.

El efecto del número de esporas presentes en una gotita de infección sobre el porcentaje que produce infección, fue examinado mediante la recolección de esporas sobre la punta de una aguja y transfiriendo un número específico a una gotita de agua (no se indicó el tamaño) sobre el envés de una hoja, la que fue luego incubada con esta cara hacia arriba.

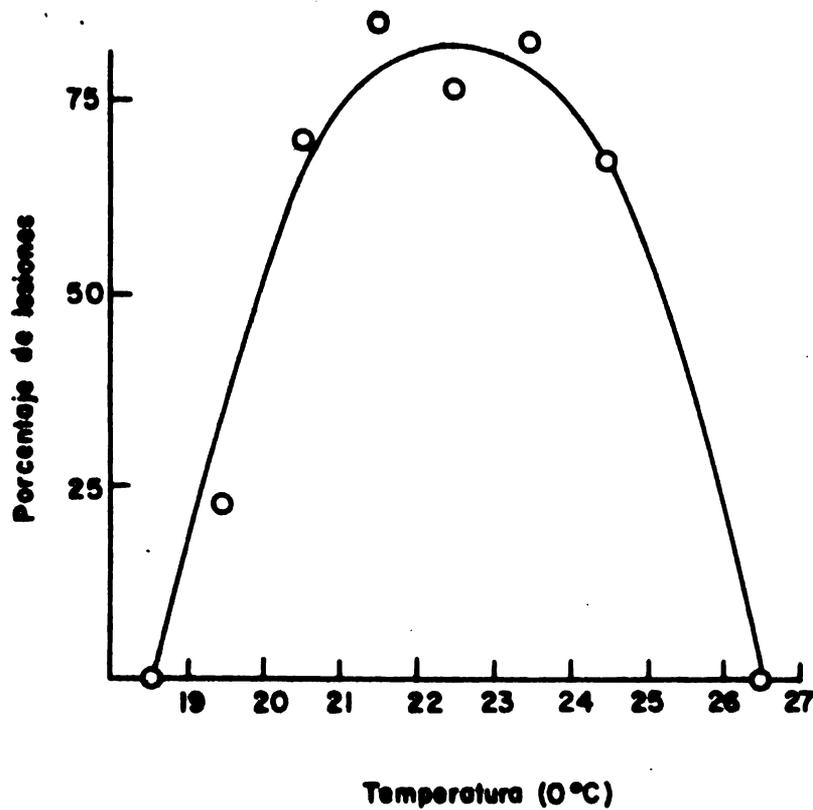


Figura 9. Efecto de temperatura sobre la producción de lesiones. (Según Nutman y Roberts, 1963).

Los resultados aparecen en el Cuadro 3 y muestran que aun con tantas esporas como 10 a 20 por gotita, se producían lesiones sólo relativamente raras veces mientras que en un número no especificado de casos, cuando se colocaron aproximadamente 150 esporas en la gotita para la inoculación, alrededor del 90 por ciento de las inoculaciones producían lesiones.

Cuadro 3. Efecto del número de esporas por gotita sobre el porcentaje de inoculaciones y porcentaje de esporas que producen lesiones.

Número de esporas por gotita	Número de inoculaciones	Porcentaje de inoculaciones que produjeron lesiones	Porcentaje de esporas que produjeron lesiones
1	591	0,3	0,30
2	502	0,0	0,00
4 a 5	150	1,3	0,29
10 a 20	534	1,6	0,13
150 aprox.	?	90 aprox.	0,6

Nutman y Roberts señalaron que en parte, esto podía atribuirse al bajo porcentaje de tubos germinales que penetran las hojas, aun bajo condiciones óptimas (véase p. 42). Se hace evidente que este factor por sí solo no es suficiente para explicar las pocas lesiones que resultan de inoculaciones con 10 a 20 esporas por gotita, y estos autores dedujeron que se requiere la penetración efectiva de cierto número de esporas muy próximas, una cerca de otra, antes de que se puedan desarrollar los síntomas de la enfermedad. Ellos consideraron que las esporas individuales no pueden producir lesiones y que el 0,3 por ciento que aparentemente lo hizo en sus pruebas, fue debido muy probablemente a una mala manipulación durante la transferencia de esporas. Para apoyar sus deducciones Nutman y Roberts citaron resultados que se dice fueron publicados por Bock (1962a), que muestran que se requiere una alta concentración de esporas sobre la superficie para la infección. Aunque el trabajo de Bock referido trata sobre la concentración de esporas que se observaron en condiciones de campo, no ofrece datos sobre su capacidad de producir infección con excepción de una simple mención de estudios preliminares, que mostraban que la densidad óptima está comprendida entre 15 y 30 esporas por cm^2 . Este podría ser el mismo trabajo que fue reportado apenas en bosquejo en 1962c por Nutman y Roberts, en el cual las hojas fueron rociadas con diferentes concentraciones de suspensiones de esporas. Las suspensiones más concentradas produjeron numerosas infecciones, mientras que las más débiles, aunque dejaron sobre cada hoja muchos centenares de esporas comparativamente muy distanciadas, no produjeron lesión alguna.

Sin embargo, otros investigadores han encontrado que una pequeña pero definida proporción de inoculaciones con esporas individuales puede producir lesiones. Por ejemplo, el autor encontró una lesión que resultó de una inoculación con una espora en hojas todavía prendidas de plantas sembradas en macetas, una vez en diez pruebas. Mayne (comunicación personal) logró obtener infecciones de esporas individuales en un número reducido de pruebas. Butt (comunicación personal) también reportó en Uganda inoculaciones con una espora que tuvo éxito. Hislop (comunicación personal), utilizando una técnica en la cual las esporas fueron primeramente germinadas sobre una superficie de agar y de las cuales solamente las que produjeron tubo germinal fueron separadas y transferidas a discos de hojas jóvenes de café, obtuvo 3 lesiones de 100 transferencias de la raza I y II en 100 transferencias de la raza II. Usando discos de hojas viejas o de edad media, él no encontró lesiones en 100 transferencias de cada una de las dos razas, con excepción de un caso con la raza I en hojas viejas.

Al comentar sus resultados, Nutman y Roberts parecen no haber tomado en cuenta la posibilidad de que solamente una parte de los tubos germinales que penetran la hoja pueden sobrevivir para producir lesiones. En realidad, en variedades de café resistentes se ha podido demostrar que la penetración sí ocurre, pero ninguna de las infecciones resultantes esporulan (Mayne 1933). Además, en variedades muy susceptibles se produce un número mucho mayor de lesiones a partir de la misma cantidad de inóculo que en las menos susceptibles (Rayner 1960b). En realidad es notable que aunque se inoculen hojas de variedades susceptibles con una suspensión de concentración alta de esporas, se produce solamente un número muy reducido de lesiones. Según la experiencia del autor es excepcional obtener tantas como 5 lesiones por centímetro cuadrado, y es más frecuente obtener sólo una o menos. Sin embargo, el autor también ha encontrado que inoculaciones similares resultan en una producción abundante de apesorios, siendo una estimación de orden aproximado de 50 por centímetro cuadrado. La casualidad de que un solo apesorio produjera una lesión, sería del 1 al 10 por ciento. Las posibilidades de que una sola espora de un lote, el cual muestra una germinación del 70 por ciento y del cual el 26 por ciento produzca apesorios (véase p. 42), serían de 0,2 al 1,7 por ciento; estas cifras son de la misma magnitud que las encontradas por Nutman y Roberts y rechazadas por ellos como debidas probablemente a errores en la manipulación.

Es interesante hacer constar que en el caso de otra roya, *Puccinia graminis*, el porcentaje de esporas viables que pueden producir lesiones con esporulación (uredios), también es bajo. Por ejemplo Petersen (1956) encontró que sólo una lesión se formaba por cada 100 uredósporas viables, que es de la misma magnitud que las cifras observadas por Hislop para *Hemileia vastatrix*.

Si una sola espora por gotita tiene una probabilidad definida, aunque pequeña, de producir una lesión, entonces es de esperar que las gotitas que contienen varias esporas, produzcan con más frecuencia lesiones en proporción al número de esporas presentes en ellas, según la ley de adición de probabilidades. Solamente cuando el porcentaje que produce lesiones se incrementa más rápidamente de lo que se podría esperar según esta ley, existe evidencia de que la proximidad de penetración aumenta la probabilidad de la formación de lesiones. Este efecto ha sido investigado en el Cuadro 3, al relacionar el porcentaje de inoculaciones que producen las lesiones con el número de esporas contenidas, o sea por división del porcentaje de gotitas que producen lesiones por el número de esporas por gotita, para obtener el porcentaje de esporas que producen lesiones, dado en la última columna. Es evidente que los números obtenidos no difieren significativamente, aun el cero obtenido de gotitas que contienen dos esporas podría observarse por casualidad una vez en menos de 20 pruebas similares. Es cierto que la cifra de gotitas que contienen 150 esporas es bastante alta, pero es solamente una aproximación. Se podría esperar cierto aumento en la eficiencia de gotitas que contienen tan alto número de esporas, aunque sea sólo por razones mecánicas. La mayoría de las esporas de *Hemileia vastatrix*, bajo condiciones normales, flotan sobre la superficie del agua y tienden a colocarse a la mayor distancia de la periferia de una gotita de forma hemisférica. Los tubos germinales, para que alcancen un estoma, deben crecer primeramente alrededor de la superficie de la gotita. Así los tubos de esporas individuales o de un grupo pequeño de esporas tendrían que crecer de este modo la distancia máxima mientras que aquellos de los bordes de grupos más grandes de esporas tendrían que crecer una distancia menor y de este modo tendrían mayor probabilidad de encontrar un estoma y penetrar en él, antes de que se agote su capacidad de crecimiento. Tal efecto, si en verdad existe, disminuye con el tamaño decreciente de la gota de infección.

La mayor probabilidad de que un grupo de esporas produzca lesiones en comparación con una sola espora, tal como lo demuestran los datos de Nutman y Roberts, pareciera por lo tanto explicarse adecuadamente como una simple adición de las probabilidades individuales de las esporas contenidas en la gotita; la evidencia no apoya la idea de un efecto sinérgico resultante de la proximidad de penetración. Pareciera que existe una probabilidad definida, aunque pequeña, de que una sola espora produzca una lesión, no afectada por el hecho de que su tubo germinal penetra o no al hospedante muy cerca de los tubos de otras esporas, contrario a lo que han sugerido estos investigadores.

Basándose en sus observaciones de laboratorio, Nutman y Roberts argumentaron que bajo condiciones de Kenia el factor temperatura hace en alto grado improbable que la germinación o penetración pueda ocurrir durante la noche. Ellos consideraron que si las esporas son esparcidas por la lluvia después del amanecer, la infección normalmente sería poco probable durante la mañana, pero que las temperaturas durante la tarde a veces lo podrían permitir. Sin embargo, si fueran dispersadas antes del amanecer, la germinación acelerada y estimulada por el estímulo del frío muy probablemente permitiría la infección durante las pocas horas después del amanecer, cuando prevalecen temperaturas adecuadas. Estos autores concluyeron de sus observaciones, que bajo condiciones ideales tales como máxima concentración de esporas recién liberadas, su depósito cerca de los bordes de hojas jóvenes, y con las temperaturas cerca del óptimo por 3½ horas (el tiempo mínimo en el cual Nutman y Roberts observaron formación de apresorios), se podría iniciar muy ocasionalmente una lesión en el campo. Si las esporas hubieran sido anteriormente expuestas al frío mientras estaban mojadas, aumentarían las probabilidades de una iniciación de lesiones.

Como se indicó anteriormente (p.36-39) las conclusiones que estos investigadores sacaron de sus estudios de laboratorio con respecto a las posibilidades de que ocurra la germinación y formación de apresorios durante la noche, no concuerdan con observaciones efectuadas por el autor en el campo. Esto también es cierto acerca del único estudio que ha sido reportado sobre el tiempo que se necesita para que tenga lugar la infección en el campo, el cual se llevó a cabo en Ruiru, Kenia, por el autor en marzo de 1957. El método fue similar al descrito en la p. y se hicieron inoculaciones a las 13, 18:30 y 22 horas en un día. Se mantuvieron húmedas hasta las 8 horas del día siguiente o hasta la misma hora un día después. El porcentaje que desarrolló lesiones de roya fue el siguiente:

Período húmedo

<p>Iniciado lunes 13 horas lunes 18 horas</p>	<p>Terminado a las 8 horas martes 20 10,9% miércoles 3</p>
	<p>martes 5 11,8% miércoles 18</p>
<p>Iniciado lunes 22 horas</p>	<p>Terminado a las 8 horas martes 7 7,0% miércoles 7</p>
<p>TOTAL</p>	<p>martes 11,0% miércoles 8,7%</p>

Los resultados indican que el mantenimiento de condiciones de humedad desde las 22 hasta las 8 horas (10 horas en total) fue suficiente para permitir penetración y que no se manifestó ningún aumento de infección al prolongar las condiciones húmedas por otro período de 24 horas. Sin embargo, debe recordarse que es difícil mantener una cubierta constante de gotitas de agua en el envés de las hojas durante las horas del día, aun bajo condiciones lluviosas; las condiciones de tiempo al efectuar el experimento eran secas aunque principalmente oscuras.

Los datos son inadecuados para efectuar una comparación válida entre los tres tiempos de inoculación; sin embargo, muestran claramente que la infección puede tener lugar durante la noche. Esto está de acuerdo con las observaciones sobre la formación de apresorios descritas anteriormente (p. 42). En ambos casos el período en cuestión sí incluye aproximadamente 1-3/4 horas después de amanecer, pero este tiempo es tan corto, que en la mayor parte de los procesos de infección ésta debía haberse completado antes.

En vista del conflicto entre lo que se espera de los resultados de laboratorio por Nutman y Roberts, y las observaciones de campo hechas por el autor, no se deben sacar conclusiones definitivas sobre las condiciones necesarias para la infección y la duración del tiempo necesario hasta que se lleve a cabo un número suficiente de estudios futuros sobre infección en el campo.

Período de Incubación

Ward (1881, 1882b) llevó a cabo un número considerable de inoculaciones en plantas de café de diferentes orígenes y en hojas de diferentes edades. En todos los casos un número relativamente grande de esporas secas fueron colocadas sobre una gota de agua en el envés de la hoja, impidiendo que se secaran colocándolas en una pequeña cámara húmeda (para

detalles véase p. 43). Se utilizaron plantas pequeñas en macetas, que se mantuvieron en cajas especiales (de Wardian), con una temperatura alrededor de 25,5°C. Las infecciones podían detectarse primeramente como áreas amarillentas, pálidas, después de 10 a 16 días de la fecha de inoculación, pero más frecuentemente a los 14 días. Las primeras esporas se observaban entre 1 y 4 días más tarde. En hojas jóvenes los primeros síntomas de infección podían apreciarse por término de los 10 a 11 días, mientras que se requerían 15 días para las hojas más viejas. Sin embargo, las hojas jóvenes pertenecían a plantas de diferente origen, en las cuales se inoculaban las hojas viejas, razón por la cual las diferencias podían deberse también a otros factores además de la edad de la hoja. Ward indicó que la misma diferencia se observaba cuando las hojas pertenecían a la misma planta, pero no ofreció datos reales para confirmar tal aseveración.

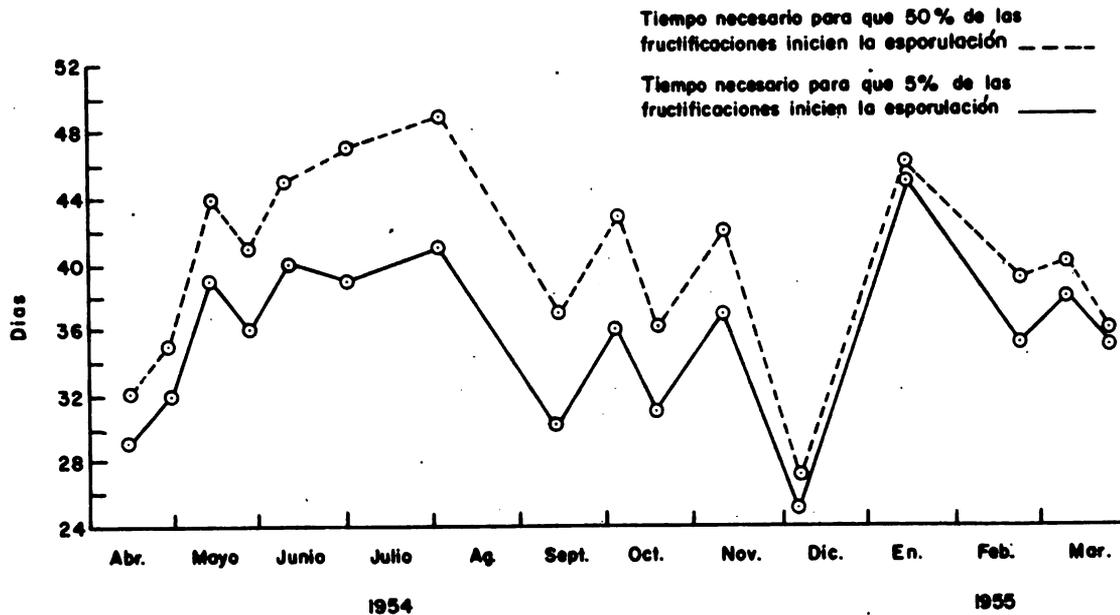
En observaciones de plantas inoculadas y también en hojas con infección natural en el campo, Ward encontró que la esporulación podía continuar de 7 a 16 semanas; probablemente duraba más tiempo, especialmente si la duración de la vida de las hojas no se reducía al existir más de una lesión. El también observó que la producción de esporas podía continuar después de la caída de la hoja.

Mayne (1932b) estudió en el laboratorio el período de incubación en hojas separadas. Manchas amarillentas podían notarse después de 7 a 12 días en café de la variedad Coorg (*arabica*) y después de 20 días en café Robusta, mientras que la formación de esporas comenzaba de 15 a 24 días y de 29 a 35 días respectivamente.

El autor (Rayner 1961c) llevó a cabo una serie grande de inoculaciones en condiciones de campo para determinar si existía alguna variación estacional en el período de incubación. Ya se ha descrito el método de inoculación (p. 44). Las observaciones se efectuaron en seis árboles, tres de éstos con poca cosecha y tres con cosecha abundante. Se hicieron inoculaciones a intervalos de 14 a 28 días a través de un año completo en dos hojas jóvenes y dos viejas de la misma rama. En algunas ocasiones sólo se producían manchas pálidas amarillentas, sin formación de esporas; así sucedió mayormente bajo condiciones de sequía, cuando el período de incubación era más largo. Las lesiones resultantes de inoculaciones en fecha dada no aparecieron simultáneamente; por eso se trazaron curvas para mostrar la relación entre la fecha de aparición y el número de lesiones que producían esporas en la misma fecha, expresado como porcentaje del número total que finalmente se desarrollaba. De estas curvas se estimaron los intervalos de tiempo necesarios para obtener una esporulación del 5, 50 y 95 por ciento. Según la época del año, la diferencia entre los puntos del 5 y 50 por ciento varió de 1 a 9 días, y entre los puntos del 50 y 95 por ciento, de 1 a 32 días. El tiempo necesario para producir máxima actividad de esporulación, se estimó aproximadamente en 6 a 13 semanas y la esporulación terminó en su mayor parte entre las 7 y 18 semanas cuando la caída de hojas no intervino.

El efecto de la época del año sobre el período de incubación de las lesiones varió de 25 a 45 días para que el 5 por ciento de lesiones produjera esporas, y de 27 a 45 días para el 50 por ciento. Con excepción del período anormalmente largo de incubación para la inoculación, el 12 de enero, el período más largo era durante los meses de mayo a setiembre, o sea los meses más frescos. No existió evidencia de que ni el porcentaje de inoculaciones que tuvieron éxito, ni el largo del período de incubación fueran afectados por la edad de la hoja o el volumen de cosecha de los árboles.

En varias ocasiones durante el período en el que se llevaron a cabo estas observaciones fue posible relacionar la producción de lesiones jóvenes que aparecieron en el campo con aguaceros aislados en una fecha anterior, y así deducir los períodos de incubación para infecciones naturales. Estos períodos variaron de 32 a 45 días y en la mayoría de los casos estaban muy de acuerdo con los resultados obtenidos en las inoculaciones artificiales.



Con vista en la relación aparente entre temperatura y duración del período de incubación, se calculó una regresión múltiple con los máximos promedios (X_1) y promedios mínimos (X_2) durante cada período. Estos valores se utilizaron en lugar de las temperaturas promedio, las que no caracterizan adecuadamente las variaciones estacionales en países tropicales. La ecuación obtenida fue:

$$Y = 90,61 - 0,408 X_1 - 0,440 X_2$$

donde Y era el período de incubación estimado para que un 50 por ciento de lesiones llegaran a esporular. La mayor discrepancia del valor estimado fue la del 12 de enero, período que fue mucho más extenso de lo esperado; posiblemente debido a la sequía. Períodos algo más cortos de los esperados durante épocas de lluvias fuertes y quizás se debieron a efectos opuestos a los de la sequía, fueron observados.

Los períodos de incubación observados en Kenia son considerablemente más largos que aquellos reportados por Ward y Mayne. Sin embargo, estimaciones basadas en la ecuación de regresión antes dada, para los niveles de temperatura que probablemente existieron cuando estos investigadores hicieron sus observaciones, dieron valores similares para el período de incubación en comparación con observados. Se puede concluir que la diferencia entre los resultados de Ward y Mayne y observados en Kenia se debe mayormente a la diferencia de los niveles de temperatura. Sin embargo, debe señalarse que los resultados de estos autores se refirieron a condiciones de laboratorio y quizás no sean representativos de períodos de incubación como podían esperarse en el campo en Ceilán y Mysore (India).

El autor obtuvo mucha información adicional sobre el período de incubación al efectuar pruebas de susceptibilidad varietal, tanto en plantas creciendo a la intemperie, como las cultivadas en el laboratorio, y en un invernadero. El rango observado osciló entre 19 y 63 días con la raza I (*sensu* D'Oliveira), y de 26 a 48 días para la raza II. Los períodos más largos para la raza I se encontraron en la variedad de café K 7, el cual es inmune a la raza II.

Se observaron diferencias considerables con respecto a períodos de incubación entre variedades, hasta 17 días con la raza II y 28 días con la raza I. Por lo general las variedades de café con períodos más cortos en una raza, tenían también períodos cortos en la otra. La magnitud de las diferencias varió con la variedad. Sin embargo, la variedad Amphillo presentó períodos más cortos que Harar con la Raza I, pero considerablemente más largos con la raza II. SL 34 presentó períodos más largos que cualquiera de las variedades anteriores con ambas razas. La alta susceptibilidad de la variedad Harar en el campo quizás se debe en parte a los períodos muy cortos de incubación sobre este hospedante presentado con ambas razas; sin embargo, el mayor número de lesiones que resultan del mismo grado de inoculación probablemente sea de mayor importancia.

Bock (1962b) efectuó en el campo en Kenia un estudio de la relación entre la incidencia de aguaceros y la primera aparición de manchas foliares consideradas incipientes, juzgadas como debidas a las infecciones resultantes. Aunque este método es difícil de aplicar en épocas como cuando los aguaceros caen seguidamente unos de otros o cuando el aumento resultante de infección es enmascarado por una abacisión fuerte, Bock reportó que, a pesar de todo, se obtuvieron datos notoriamente uniformes. El período promedio de incubación para la primera aparición de manchas incipientes visibles fue de 23 días; períodos ligeramente más largos o sea hasta de 27 días se observaron en tiempo fresco. En distritos bajos y más calientes del West Rift, los promedios fueron tan bajos como 20 días y se observaron períodos tan cortos como 18 a 19 días. Bock raras veces observó períodos mayores de 35 días, siendo el máximo de 42 días. Aunque los períodos encontrados por Bock son del mismo orden que los del autor, son claramente más cortos, aun cuando se considera que él reportó los primeros síntomas de una lesión, mientras que el autor citó el tiempo necesario para que un 5 por ciento comenzara a esporular. La diferencia podría atribuirse a las diferencias pronunciadas de clima entre los años en los cuales se efectuaron las dos series de observaciones, y lo que se refleja en una marcada diferencia en la variación estacional de la incidencia de la roya, siendo ésta mucho más fuerte durante la primera parte del año en el cual Bock efectuó sus observaciones.

Cualquiera que sea el promedio o el período de incubación más frecuente en el campo, no existe duda de que a veces puede ser muy prolongado. El período máximo observado por el autor fue de 10 semanas a partir de una inoculación llevada a cabo en Kew, Inglaterra, en enero. Existen algunas pruebas circunstanciales que sugieren la posibilidad de períodos hasta de 20 semanas (Rayner 1955).

Liberación de Esporas y Dispersión

Parece que fue Thwaites, según Thiselton Dyer (1880), quien por primera vez sugirió que la roya se dispersa por el aire. El describió su distribución esporádica cuando apareció por primera vez en Ceilán; este autor consideró que esto debería haberse atribuido a gérmenes diminutos que llevaban la infección por el aire. Muchos de los observadores más antiguos concordaban que la dispersión era por el aire y citaron con frecuencia la mayor incidencia de la enfermedad en cafetos expuestos y la incidencia menor en arbustos protegidos por rompevientos, etc. Se recomendó la instalación de rompevientos para ayudar a controlar la enfermedad.

Ward (1881 y 1882b) obtuvo evidencia experimental sobre la dispersión de esporas por el viento. El expuso placas de vidrio (portaobjetos) de 2,5 x 7,5 cm, recubiertas con glicerina en un número de localidades, posiciones y distancias diferentes de árboles de café. El interpretó sus resultados como demostración de que las esporas de la roya del cafeto llevadas por el viento eran muy diseminadas, y que cuanto mayor incidencia de roya había en el campo, tanto mayor era el número de esporas atrapadas. El Cuadro 4 presenta ejemplos típicos de los resultados que obtuvo.

CUADRO 4. Número de esporas atrapadas por Ward en Ceilán en diversas circunstancias en portaobjetos untados de glicerina.

Distrito	Fecha	Desarrollo de la enfermedad	Viento	Distancia de la planta del cafeto	Distancia sobre el suelo	Método de exposición	Tiempo de exposición	No. de esporas atrapadas
Rakwana	Abril	Muy poco	Muy poco	1,2 m	0,9 m	Plano sobre roca	14 h	1
Dikoya	Mayo 13	Muy poco	Muy poco	1,8 m	0,6 m debajo del cafeto	Plano sobre roca en medio de un arroyo	8 h	1
Pundaluoya	Mayo 22	Muy poco	Poco	4,0 m	1,5 m		12 h	2
Peradeniya	Junio 3	Pocas manchas aquí y allá	Mucho	4,0 m	Sobre hierba	Plano sobre tronco	8 h	7
Peradeniya	Julio 8	Muy fuerte	Muchísimo	6,0 m	1,5 m	Vertical	12 h	117
Peradeniya	Julio 8	Muy fuerte	Muchísimo	8,3 m	1,2 m	Vertical	12 h	21
Peradeniya	Julio 9	Muy fuerte	Muchísimo	6,6 m	1,2 m	Vertical	2 h	8
Peradeniya	Julio 9	Muy fuerte	Muchísimo	4,0 m	1,5 m	Vertical	2 h	13

Como puede apreciarse, aún a distancias considerables de plantas de café (hasta unos 8 m) se atrapó un número apreciable de esporas durante períodos de exposición relativamente cortos. Numerosas esporas, muchas germinando, fueron atrapadas también en las mallas de manta expuesta durante algunos meses entre arbustos de café.

Ward también observó que en la atmósfera calmada de una caja de Wardian, cada fascículo de uredósporas que atravesaban un estoma, formaba cadenas de uredósporas colgando hacia abajo, las que se caían con el menor movimiento de la hoja. El encontró que el haz de hojas de plantas infectadas, cultivadas en una caja de Wardian, estaban abundantemente empolvadas con esporas. Ward concluyó que en el campo tales fascículos producen continuamente esporas, las que son liberadas por los movimientos de las hojas y son llevadas por el viento. Sus conclusiones fueron apoyadas por la observación de que plantas de café expuestas en un balcón con cara a los vientos monzónicos prevalecientes estaban más infectados con la roya que plantas protegidas de este viento. La situación se invirtió cuando el monzón cambió de dirección. Lo mismo ocurrió con árboles en la esquina de un bloque de cafetos; al estar expuestos al viento, estaban mucho menos infectados que los árboles de atrás. Al invertirse la dirección de los vientos estos árboles presentaron una alta incidencia de la enfermedad. Ward concluyó que este fenómeno se debía a lo siguiente: en el primer caso el viento llevaba pocas esporas a los árboles esquineros, puesto que estaba soplando sobre terreno sin cafetos; al cambiar la dirección del viento, se transportaban entonces esporas desde cafetos adyacentes, de lo que resultaba una infección fuerte. El concluyó que "el hecho de que la enfermedad (la roya) fuera transmitida de lugar a lugar por el viento, está ahora confirmado por evidencia irrefutable". Este es el origen de lo que Nutman y Roberts (1962c) llamaron "el mito de la dispersión por el aire".

Ward encontró que si un portaobjeto se fijaba sobre una rama de un cafeto en la misma posición ocupada por una hoja y luego la examinaba, se podían encontrar esporas de la roya en la superficie superior cuando el tiempo estaba húmedo y también podían detectarse en el borde de la superficie inferior. El observó que en los primeros estados de aparición de un foco de epidemia, las lesiones se producían con más abundancia cerca de los bordes en el envés de las hojas; de esto concluyó que al igual que en el caso del portaobjeto de vidrio, las esporas depositadas en el haz foliar eran lavadas alrededor de los bordes y depositadas en la superficie inferior, donde germinaban y producían infecciones. Se insinuó que una manera

en que las esporas podrían llegar al envés de hojas era mediante vientos violentos que las llevan hacia arriba, siendo las hojas entonces salpicadas con gotas de lluvia que contenían esporas.

Ward consideró que las hojas caídas representaban una fuente importante de inóculo. El mostró que la producción de esporas continuaba sobre ellas por algún tiempo después de haberse caído, y que las esporas podían ser llevadas desde las hojas caídas sobre el suelo por corrientes de aire, e infectar hojas vivas; Ward hasta recomendó a los caficultores recoger y quemar o enterrar las hojas infectadas caídas, como medida para controlar la infección.

Mayne (1932b) expuso portaobjetos, montados verticalmente y untados de vaselina, en dos localidades, una expuesta al viento y la otra protegida; cada vez se colocó un número igual con cara hacia los 4 puntos cardinales de la brújula; todos los portaobjetos se encontraron en una plantación a un nivel ligeramente superior al de las copas de los cafetos. Después de una semana de exposición el número promedio de esporas recolectadas en cada portaobjeto fue el siguiente:

<u>Portaobjeto con cara hacia</u>	<u>Posición expuesta</u>	<u>Posición protegida</u>
Oeste	20,3	3,5
Sur	15,3	13,0
Norte	7,7	14,0
Este	6,6	13,5

El mayor número de esporas recogidas en portaobjetos expuestos al viento prevaleciente, o sea en este caso hacia el oeste, en la localidad expuesta merece atención; esta cifra se consideró como confirmación de que las esporas son llevadas por el viento. Pero debe notarse, sin embargo, que aunque el número de esporas recolectadas no fue insignificante, las cifras mencionadas difícilmente pueden considerarse como una indicación de que cantidades importantes de esporas sean transportadas por el viento, especialmente porque las placas fueron expuestas por una semana.

De observaciones en el campo de ataques de roya frecuentemente muy localizadas en bloques de cafetos aparentemente uniformes, y la relación de algunos de estos ataques con focos de uno o unos pocos árboles de una variedad altamente susceptible, tal como Harar, o de una de este tipo que ocurren espontáneamente, el autor concluyó que los brotes de proporciones epidémicas en el campo deben ser frecuentemente el resultado de una diseminación de esporas bastante restringida. Aunque el autor acepta la posibilidad de infecciones como resultado de esporas llevadas por el viento desde áreas distintas, señaló (Rayner 1956a) que el inóculo para un foco epidémico de la enfermedad se originaba predominantemente de ataques previos en el mismo bloque. En realidad esta observación fue la base para el uso del análisis de covarianza en pruebas de campo de fungicidas (Rayner 1961b y 1962). Se encontraron algunas correlaciones fuertes y altamente significativas entre las cantidades de roya, árboles adyacentes, pero el grado de correlación variaba considerablemente entre áreas. Esto sugirió que donde la infección era severa, ésta se extendió de pocos centros de infección dentro del área y que donde el ataque era menor la infección original era relativamente homogénea. En realidad, no se había observado la presencia de roya en la última área durante la estación previa, y parece poco probable que el tipo de distribución observado se pudiera haber originado de otro modo que no fuera por infección por el viento. Mayne (1932) también señaló en lo referente a sus observaciones sobre el número de lesiones por hoja durante los meses del monzón del suroeste de 1929-30, que mostraban que el número de hojas infectadas aumentaba notoriamente con más velocidad que el número de infecciones por hoja, cuando el nivel de infección era bastante bajo, eran consistentes en cuanto al acarreo del inóculo por el viento. Sin embargo, él

también observó que a veces el ataque de la enfermedad era muy localizado; de éste dedujo que la formación de un foco epidémico resulta del inóculo producido por el mismo grupo de árboles e indicó la ausencia de cualquier fuente externa de infección de importancia.

El autor (Rayner 1956b, 1960a) estudió el depósito de esporas sobre superficies foliares bajo condiciones de laboratorio. Empleó una corriente de aire, la cual era pasada sobre una lesión de roya en esporulación, siendo el aire movido mediante vacío formado en un frasco, en cuyo fondo se encontraba una hoja en posición horizontal. Las esporas se sedimentaban, como era de esperar, solamente en la superficie superior de la hoja, a menos que hubieran intervenido fenómenos eléctricos. De esta superficie las esporas podían removerse sólo mediante una corriente de aire extremadamente fuerte en tanto que flotaban hacia la superficie de gotitas de agua colocadas en la hoja. Por lo tanto, esporas llevadas por el aire, que caen sobre hojas, serían atrapadas hasta que sean liberadas por medio de la lluvia.

Se estudió en el campo la mojadura del envés foliar. Ocasionalmente gotitas de lluvia llegaban directamente al envés, en presencia de vientos turbulentos. Agua de lluvia alcanzó a veces también al envés al rodear el margen foliar (compare las observaciones de Ward, p. 54). La mojadura, sin embargo, más frecuentemente se debió a salpicaduras de agua cuando las gotas chocaban con el haz de hojas inferiores. Tales salpicaduras llevaban consigo cualesquiera esporas depositadas sobre el haz foliar. De esta forma las esporas llevadas por el viento podían ser transportadas desde el haz, sobre el cual se hubieran depositado y atrapado, al envés de otras hojas donde únicamente podría ocurrir la infección. Que las gotas de lluvia pueden sin embargo, atravesar una lesión, recoger esporas y seguir fluyendo sobre el envés, produciendo entonces nuevas infecciones, se dedujo por la existencia ocasional de hileras de lesiones jóvenes que se originaban en una vieja.

Nutman (1959), Nutman y Roberts (1962 a y b), Nutman, Roberts y Bock (1960) y Bock (1962a), contrariamente a investigadores anteriores, han concluido de investigaciones extensivas bajo condiciones de laboratorio y de campo, que la dispersión por aire es de poca o ninguna importancia en la diseminación de la enfermedad y que las salpicaduras de lluvia son el agente principal, no solamente para la dispersión, sino también para la liberación de esporas.

La relación entre velocidad del viento y liberación de esporas fue estudiada primeramente en 1960 (Nutman, Roberts y Bock). Se citaron datos de una plantación en Kiambu, una de las regiones cafetaleras más importantes de Kenia, para la velocidad del viento en campo abierto y dentro de un cafetal. La velocidad promedio del viento afuera de los cafetos era de 7,7 km/h y solamente en ocasiones alcanzaba 16 km/h. El promedio de velocidad dentro de la plantación tenía pocas probabilidades de exceder 0,8 km/h a un espaciamiento de los cafetos de 2,4 m entre hileras; con 3,1 m el viento llegó a un promedio de 3,2 km/h, con un máximo de 7,2 km/h. Sin embargo aunque no son frecuentes ocurren ráfagas de viento de corta duración, hasta de 86,4 km/h como máximo absoluto. Por ejemplo, durante 24 años en que se tomaron datos, se observaron solamente 81 ráfagas con una velocidad mayor de 64 km/h.

No obstante, es poco probable que las ráfagas de viento provoquen velocidades mayores de 22,4 km/h dentro de una plantación.

Se observó el efecto de velocidades de viento hasta 20 km/h, producidas mediante un abanico eléctrico o un ventilador en el laboratorio sobre la liberación de esporas de lesiones altamente productivas de esporas. Se trajeron las lesiones del campo y, con mínimo de agitación mecánica, se recortaron de las hojas y se mantuvieron cara arriba, sobre portaobjetos, mediante almohadillas de jalea de glicerina. Chorros de aire se dirigieron sobre estas lesiones por períodos de 10 minutos a un ángulo de 30°. Se compararon las fotomicrografías tomadas antes y después de una exposición con y sin vibración mecánica

controlada. No se detectó movimiento de esporas a velocidades de hasta 14,4 km/h con y sin vibración, y muy pocas esporas se movilizaron a 20 km/h. Adicionalmente hojas enteras con lesiones se fijaron por medio de sus pecíolos en posición horizontal y se expusieron a corrientes de aire hasta de 9,6 km/h y se colocaron portaobjetos recubiertos con material pegajoso detrás de ellas. Solamente a 9,6 km/h, velocidad a la cual ocurrió una agitación apreciable de las hojas, se recogieron esporas y éstas siempre estaban en ramilletes.

Cuando de manera similar se expusieron ramas enteras con muchas hojas fuertemente infectadas, y se atraparon las esporas con una trampa de esporas de varilla giratoria, no se recogieron esporas hasta 11,2 km/h. Aunque el movimiento de hojas bajo estas circunstancias era mayor que el normal en plantaciones, no fue tan violento como en el caso de hojas individuales, fijadas por sus pecíolos.

En comparación, lesiones de *Puccinia graminis*, un hongo conocidamente diseminado por el viento, montadas sobre jalea de glicerina, liberaron nubes de uredósporas con menores velocidades de viento que se emplearon.

Esporas maduras transferidas de vidrio pulido, superficies metálicas u hojas, ya fuera golpeando o pincelando las lesiones, o como una suspensión de esporas en agua a la que se permitió secarse, no pudieron ser deslizadas por el viento, con excepción de algunos de los aglomerados más grandes resultantes de la transferencia en seco al vidrio o metal; sin embargo, éstos tampoco se deslizaron en las hojas. Estas últimas observaciones confirman por lo tanto las descritas por el autor en la página . Están en realidad de acuerdo con el hecho bien conocido de la aerodinámica, de que objetos con un diámetro menor que la capa laminar limitante que rodea superficies, no pueden ser desplazadas con excepción de vientos fuertes con fuerza suficiente para hacer adelgazar la capa.

Gotitas de agua colocadas sobre las superficies de lesiones hicieron que de inmediato se levantaran masas de esporas, las que se extendieron individualmente sobre la superficie del agua. De estas observaciones se concluyó que la distribución de las esporas por el aire solamente podía ocurrir a una tasa relativamente baja, demasiado baja para ser responsable del incremento rápido de epifitotias y que la liberación y distribución mediante salpicaduras de agua debe ser la responsable de esto. Esta opinión es contraria a ciertas observaciones hechas por el autor, quien señaló (Rayner 1960a) que en caso de plantas infectadas con roya, cultivadas en el aire calmado de un invernadero, se depositó una capa espesa de esporas sobre el haz de hojas situadas debajo de las que tenían lesiones de roya; esta observación también la hizo Ward (1882c). Cuando se golpearon hojas infectadas se liberó una nube de esporas, pero muy pronto se depositó. Aunque se estuvo de acuerdo que la lluvia jugaba un papel muy importante en la distribución de esporas y que era el vehículo a través del cual las esporas llegaban al envés de la hoja, se consideraba que su liberación era principalmente al aire como resultado de lluvia que golpeaba las hojas y otros sacudimientos mecánicos. Sin embargo, estuvo de acuerdo en que a veces ocurría también liberación directa al pasar la lluvia sobre lesiones, pero que eso era menos importante.

Observaciones hechas en el campo en Kenia durante aguaceros mostraron (Rayner 1961a) que la mojadura del envés de la hoja generalmente no era muy marcada y ocurría principalmente por salpicaduras hacia arriba desde hojas inferiores. Se consideró que las lesiones de roya muy pocas veces eran golpeadas directamente para que este fenómeno fuera el método predominante de la liberación de esporas.

Observaciones (Rayner 1961a y datos sin publicar) en un laboratorio de Kew, Inglaterra, sobre lesiones de roya de inoculaciones de una planta de café en maceta, mostraron que bajo condiciones de completa calma las esporas no eran liberadas de las lesiones, aun cuando estas lesiones estuvieran fuertemente recubiertas con esporas; cuando se golpeó ligeramente la hoja afectada, ocurrió una liberación abundante. En un rayo fuerte de luz en el laboratorio, en

ausencia de corrientes de aire perceptibles, se podía observar que la nube de esporas resultante se deslizaba y se precipitaba en una faja con una inclinación de 45° en relación a la vertical. Una lesión golpeada a intervalos de 2 a 3 semanas liberó 366.100 esporas durante tres meses y solamente unas 50.000 más pudieron removerse por medio de agua al final de este período o sea el 88 por ciento de la producción total removible se separó y deslizó en el aire debido a los golpes. Gotitas de agua, que se dejaron caer sobre la cara superior de hojas exactamente sobre lesiones, las que se habían mantenido previamente en calma absoluta, causaron liberación abundante de esporas. Por ejemplo diez gotitas de un diámetro de 5 mm que cayeron de una altura de 1,2 m liberaron 396.000 esporas. Cinco gotitas de 4 mm de diámetro, cayendo sucesivamente de una altura de 30 cm liberaron 7490, 427, 711, 4635 y 411 esporas respectivamente, o sea un total de 13.674 de la misma fructificación.

El autor había notado anteriormente, cuando trabajó en Kenia en observaciones hechas con un microscopio, que esporas de lesiones traídas del campo no eran desplazadas por corrientes de aire en forma marcada, pero no se efectuaron observaciones exactas. Sin embargo, lesiones producidas en Kew (Inglaterra) bajo condiciones de calma, de modo que estuvieron recubiertas con una costra gruesa de esporas, liberaron un número considerable de esporas al dirigir sobre ellas una corriente de aire desde un tubo mantenido a 1 cm de distancia, con una inclinación de 45° . Estas esporas se atraparon en una superficie pegajosa adyacente a velocidades promedias de salida de aire de 16 a 32 km/h (no 1,6 a 3,2 km/h) como erróneamente está indicado en Rayner 1961a). La velocidad de la corriente de aire en la superficie de las lesiones probablemente era mucho más baja, pero no se midió y es difícil de computar exactamente. Sin embargo, parecía que corrientes de aire por sí solas podían liberar esporas de lesiones densamente recubiertas, a velocidades inferiores a las indicadas por Nutman *et al*, en el caso de lesiones traídas del campo. Por eso se hicieron intentos (sin publicar) por encontrar la velocidad mínima a la cual ocurría liberación, empleando tales lesiones y flujo de aire laminar en un micro-túnel de viento, puesto amablemente a la disposición del autor por los doctores Hirst y Gregory en la Estación Experimental de Rothamsted. Desafortunadamente fue imposible recortar las hojas a un tamaño conveniente y montarlas en el túnel sin causar alguna degradación y separación en la estructura reticulada compleja de la masa de esporas. En una de las muestras no hubo liberación de esporas a 7,2 km/h pero un 14,8 por ciento del total que se liberó mediante golpes, el 10,7 se desprendió cuando la velocidad era de 10,7 km/h y otro se aumentó a la velocidad de 14,4 km/h. No ocurrió liberación hasta 14,4 km/h en un espécimen en el cual las columnas de esporas estaban todavía separadas. Un gran número de esporas (aproximadamente 14.000) fue liberado cuando se pasó un chorro de aire que salía de la boca del orificio con una velocidad de 32 a 64 km/h a 1 cm de distancia de la lesión. Al restringir el flujo del aire en el túnel mediante un anillo de 9 mm de diámetro, y colocando la lesión a un ángulo de 45° delante de él, no se notó liberación a 8,3 km/h en el anillo si se liberaron pero sí 2.330 esporas a 16,8 km/h, 7.980 a 25,3 km/h y 9.593 a 33,6 km/h. Por lo general, colocando lesiones a diferentes ángulos en el flujo del aire o al desviar éste colocando obstáculos pequeños delante de las lesiones, producía aumentos en la liberación de esporas. No se determinó si este incremento se debía a los efectos del ángulo de la corriente de aire que soplaba sobre la lesión o era causado por la turbulencia, las gradientes de presión, o aumento localizado de la velocidad. El uso de un anemómetro de alambre calentado para determinar las velocidades de aire al nivel de las lesiones podría posiblemente resolver algunos de estos problemas. El aspecto global de la liberación por el viento sólo es, sin embargo, algo académico, puesto que se encontró que la menor sacudida mecánica causaba la liberación de un número grande de esporas. Parece que con lesiones fuertemente incrustadas con esporas, la liberación podría tener lugar a velocidades de viento inferiores a las observadas por Nutman *et al*. y ciertamente puede ocurrir abundantemente a velocidades más altas.

Los experimentos en el túnel de viento también demostraron que, en el caso de lesiones de hojas caídas y secas, las esporas se liberaron abundantemente a velocidades de viento de 10,7 km/h.

Si las fructificaciones se mantienen en condiciones de calma, las fascículas de hifas que salen por cada estoma producen continuamente esporas nuevas empujando hacia afuera las previamente formadas, para producir filamentos cortos e irregulares, del ancho de varias esporas, los que al unirse con uno vecinal, y luego con otro, producen un retículo irregular. Pequeños impulsos mecánicos hacen que parte de este retículo se quiebre y se separe (Rayner 1961a). Ward (1882c) también notó este comportamiento. En el campo la acumulación es menos notoria, presumiblemente porque hay liberación de esporas por agitación intermitente de las hojas por ráfagas de viento. Bajo estas circunstancias pocas esporas están listas para su liberación en un momento determinado y esto podría tener un efecto sobre las observaciones anotadas por Nutman *et al.* por cuanto el material experimental de ellos fue colectado en el campo.

Podría esperarse que la liberación de esporas en el aire por sacudida mecánica sea máxima durante aguaceros, después de un período de tiempo seco, debido a los golpes de las hojas por las gotas de lluvia que caen. Gotitas de lluvia que salpican lesiones hacia arriba desde los haces foliares de hojas inferiores también producirán ondas de choques que podrían inducir la liberación de esporas en el aire. Por ejemplo, el autor encontró (resultados sin publicar) que cuando un número de gotitas de agua de 1 a 2 mm de diámetro, eran propulsadas hacia arriba a través de un pequeño hueco hecho en una lámina de acetato de celulosa, para que chocaran con una lesión producida por roya colocada sobre el hueco, se conseguía un depósito visible de esporas secas en el lado superior de la lámina en los alrededores del hueco. La velocidad de las gotitas era suficiente para enviarlas, en caso de no existir impedimento, a una altura promedio de unos 15 cm y una máxima de 28 cm.

Nutman *et al.* (1960) estimaron que la tasa de caída de esporas en aire en calma (la velocidad terminal) era mayor de 20 cm/seg para grupos de una docena o algo así de esporas y de 6,7 a 10 cm para esporas individuales. La última cifra es varias veces mayor que la de una espora fungosa individual registrada hasta ahora, y diez veces superior que para las esporas de royas de los cereales. Sin embargo, según su publicación pareciera que la cifra dada podría referirse sólo a las esporas que caen más rápidamente. Tampoco hay claridad en cuanto a si se tomaron precauciones para evitar corrientes de convección. Nutman *et al.* concluyeron que cualesquiera esporas liberadas en el aire no se desplazan muy lejos, sino que tienden a precipitarse en la inmediación de su punto de origen. Sin embargo a instancias del autor, Gregory en 1966, usando un aparato de impacto en cascada y esporas producidas por Hislop en la Estación Experimental de Long Ashton cerca de Bristol, Inglaterra, estimó la velocidad terminal de una sola espora en 0,59 cm/seg y el promedio para un grupo de esporas en aproximadamente 1,0 cm/seg (comunicación privada). Estos resultados son muy similares a los obtenidos con royas de los cereales y difieren notablemente de las de Nutman *et al.*

Las observaciones de Burdekin (1960) hechas en Tanganyika (Tanzania) están de acuerdo con la opinión de que cualquier espora liberada en el aire no se desplaza muy lejos. Empleando trampas horizontales de gravedad, sencillas aunque algo ineficientes, colocadas a 7,5 cm sobre el suelo, él comprobó que aunque se podían atrapar hasta 160 esporas por día por 6,25 cm² de superficie de trampa debajo de un arbusto de café, se recogían mucho menos a una distancia de 1,8 m (véase Cuadro 5). La mayoría de estas esporas estaban agrupadas en agregados.

También es evidente según estas cifras que cantidades muy considerables de esporas deben liberarse en el aire, aunque la mayoría lleguen al suelo en la parte exactamente debajo del árbol en el que se produjeron. Burdekin también reportó que de hojas muy afectadas por la roya que todavía estaban en el árbol o ya caídas, se desprendían nubes de esporas al soplar

suavemente sobre ellas. Además, él verificó viabilidad y capacidad de producir infección de las esporas de hojas caídas; encontró que sólo cuando las hojas caídas estaban muertas y eran color marrón ocurría entonces una reducción en la germinación, mientras que esporas de hojas caídas que todavía estaban verdes, mostraban un alto índice de germinación.

Cuadro 5. Número de uredósporas atrapadas al nivel del suelo mediante trampas de esporas sencillas en una plantación de café en Tengern. Tanzania.

Posición de la trampa	Intensidad del ataque de la Roya	Número promedio de esporas/día/625 cm ²			
		Febrero	Marzo	Promedio	
Debajo del árbol	fuerte	45	160	102	} 41
	moderado	5	1	3	
	leve	37	0	18	
A 1.8 m del árbol	fuerte	29	12	20	} 10
	moderado	3	1	2	
	leve	13	4	8	
		22	29		

Bock (1962a) ha reportado un estudio exhaustivo de los números de esporas de roya presentes en el aire entre arbustos de café en una hacienda en Kenia, mediante empleo de trampas de varilla giratoria, según Harrington, Gill y Warr, las trampas fueron colocadas a alturas de uno, dos y tres metros, estando la última a unos 60 cm sobre la altura promedio de los arbustos, los que tenían una edad de 4 a 5 años, no tenían sombra y su distanciamiento era de 3 x 3 m. Las trampas fueron al comienzo accionadas cada hora durante todo el día y más tarde por tres períodos de una hora cada uno entre medio día y las 15 horas, habiéndose encontrado que era éste el período del movimiento máximo de esporas. Las trampas se operaron de setiembre a noviembre. La mayor parte de este período correspondió a un nivel relativamente bajo de ataque de la roya entre dos epidemias, decayendo el número promedio de lesiones por hoja alrededor de 2,5 a aproximadamente 0,5 con un ligero incremento hacia el final del período y manteniéndose inferior a 1 la mayor parte del tiempo. Según los resultados publicados la mayoría de las esporas, cerca de un 90 por ciento, se encontraban en grupos compactos. Durante el tiempo total (120 horas) que las trampas estuvieron en acción, el promedio de concentración de esporas por metro cúbico a 1,2 y 3 m de altura fue de 5,9, 1,5 y 0,6 respectivamente. Sin embargo, durante el período de la disminución de la infección, los valores fueron 16,7, 2,9 y 2,7 y durante el período de la incidencia mínima de la roya 10,1, 3,6 y 0,3 y cuando nuevamente aumentó la infección, 1,0, 0,9 y 0. Disturbios mecánicos debidos a la recolección experimental de las hojas causaron un aumento considerable de esporas atrapadas pero este fenómeno estuvo principalmente confinado a la trampa más baja a pesar de predominar una velocidad relativamente alta de viento, 7,6 km/h. Bock concluyó que puñados de esporas deben desprenderse de las pústulas mediante interferencia mecánica durante el tiempo seco, pero el hecho de que tales uredósporas fueran atrapadas en su mayoría en la trampa más baja indicó que no son llevadas por el aire, sino que caen rápidamente. Bock consideró que la evidencia indicaba que la distribución por aire era poco probable, aun en una proporción baja.

A pesar de ser cierto que las concentraciones de esporas que Bock reportó en la parte alta de las copas de los arbustos aparentan ser muy bajas en comparación con las reportadas en la literatura para patógenos indudablemente diseminados por aire, como las royas de los cereales, debe tenerse en cuenta que la unidad de volumen utilizada, en la cual se reportan las concentraciones, es realmente pequeña comparada con el volumen de aire que pasa por encima de las copas de los arbustos a las velocidades del viento, medidas que se dieron como prevaletientes. Aunque Bock sólo citó las velocidades máximas de aire durante sus observaciones, Kirkpatrick (citado por Nutman *et al* 1960) indicó 7,7 km/h como valor promedio para las plantaciones que él estudió. Bock citó una concentración promedio de esporas durante el período de sus observaciones de 0,6 por metro cúbico a una altura de 60 cm sobre el arbusto. No ofreció dato alguno de cómo la concentración de esporas varió con la altura, pero puede presumirse con seguridad que este valor debe representar la cifra mínima entre 60 cm y la copa del arbusto. Sin embargo, si se presume que ésta representa la concentración promedio, se podría calcular que unas 80.000 esporas podían atraparse por día a través de un plano vertical de 60 cm de altura, centrado en un arbusto y del mismo ancho que éste o sea aproximadamente 1,2, a una velocidad del viento de 7,7 km/h. Esto es, sin embargo, solamente una cifra mínima para el número de esporas que serían transportadas por encima de la copa de un arbusto ya que no se tomó en cuenta la concentración probablemente más alta cerca de su superficie superior, ni de cualquier espora que pudiera estar presente a alturas mayores de 60 cm por sobre los arbustos. Además, la concentración de esporas encontrada era el promedio durante un período en el cual la infección mostró un nivel relativamente bajo. Con respecto a la concentración más alta observada, de 2,7 esporas por metro cúbico, que ocurrió durante la fase de declinación de la infección, el número comparable de esporas se calculó en unas 360.300. Tales cifras hacen pensar que si se atrapan esporas en el aire mediante trampas volumétricas, las esporas deben entonces estar presentes en cantidades realmente muy elevadas.

Hirst en realidad indicó (véase Gregory 1961) que “ninguna trampa es capaz de detectar esporas tan sensitivamente como un acre de un cultivo susceptible durante tiempo favorable para la infección. Por lo tanto, las epidemias pueden iniciarse con concentraciones de esporas que las trampas no revelan . . .”

Tanto Nutman *et al.* como Bock subrayaron que la velocidad de la precipitación que ellos observaron para las uredósporas de *Hemileia vastatrix*, significaba que la mayoría de esporas liberadas en el aire caía a una distancia muy corta de su punto de origen. Esto es cierto por supuesto aun para patógenos indudablemente diseminados por el aire, como son las royas de los cereales. Por ejemplo, Gregory (1961) calculó que un 94 por ciento de tales esporas liberadas a 10 cm sobre el nivel del suelo, eran depositadas dentro de una distancia de 100 m de su procedencia. Una cifra comparable para tres metros sería alrededor de 60 por ciento para la misma velocidad terminal; no existen datos para efectuar computaciones para las velocidades mayores reportadas por Nutman y Roberts para *Hemileia vastatrix*. A pesar de la alta tasa de depósito de esporas de royas de los cereales cerca de su punto de origen, Gregory señaló que sus esporas pueden recorrer distancias inmensas.

Debe considerarse que los resultados de Bock se refieren a un período durante el cual la infección de la roya fue relativamente baja. Esto fue porque él se interesó principalmente en el mecanismo mediante el cual las infecciones aisladas se transforman en epidemias de grandes proporciones. No cabe duda alguna de que sus observaciones demuestran muy claramente que tales epidemias no pueden ser el resultado inmediato de la llegada de inóculo fuerte de otra parte, como ocurre en el caso de algunas royas de los cereales. En tal sentido estos resultados respaldan las conclusiones anteriores de Mayne y Rayner (véase p. 64).

Sería interesante ver cómo se comparan las observaciones de Bock sobre el atrapamiento de esporas, hechas por Ward y Mayne: pero no es posible una comparación directa debido a los diferentes métodos de atrapar las esporas empleadas. La eficiencia de un portaobjeto

pegajoso, colocado verticalmente, según demostración de Gregory (1961) varía con la velocidad del viento desde 0,1 por ciento a 4 km/h hasta 27 por ciento a 33,6 km/h. Ninguno de los investigadores indicó la velocidad promedio del viento a la hora de sus observaciones, pero al referirse a la cifra 7,7 km/h, dada por Kirkpatrick como valor promedio para una hacienda en Kenia, la eficiencia del atrapamiento sería aproximadamente del 1 por ciento. A la misma velocidad, la dosis por área a una concentración promedio de 0,6 esporas por metro cúbico, tal como la observación por Bock, sería de 8,9 esporas por hora para un portaobjeto de vidrio de 2,5 x 7,5 cm. Así sería de esperar que 10 esporas se atraparían en 12 horas, o sea 140 por semana, valor de la misma magnitud que el mencionado en los resultados de Ward y Mayne (véase pp. 52 a 54), siendo más bien más bajo que el primero y más alto que el último.

Nutman, Roberts y Bock basaron primeramente su conclusión de que el agua era el vehículo principal, tanto para la liberación de esporas como para su dispersión, en el nivel tan bajo de la liberación de esporas por el viento solo, tal como lo observaron ellos, y en la facilidad con que las esporas pueden ser liberadas por el agua, a lo que quizás debería añadirse su incapacidad de pensar en cualquier otro mecanismo probable, aunque esto no fuera realmente expresado. Aunque tal mecanismo, o sea la liberación en el aire mediante la sacudida mecánica por gotas de lluvia que pegan contra el haz foliar, fue sugerido por el autor, pareciera que ningún estudio subsiguiente en el campo ha comprobado satisfactoriamente la importancia relativa de este método en relación a la liberación directa y dispersión por agua.

Que la lluvia jugaba un papel importante en la distribución final de las esporas hacia el envés foliar, fue primeramente sugerido por Ward (véase p. 53), aunque él aparentemente no apreció el papel de las salpicaduras. Aunque investigadores anteriores no han hecho constar que la liberación de esporas también podría deberse a la lluvia, parece poco probable que no apreciaran que la lluvia juega algún papel y Mayne dijo al autor que él se dio cuenta de que tenía su importancia debido a la distribución de infecciones secundarias.

Burdekin (1960) parece haber sido el primero que realmente examinó en el propio campo gotas de lluvia, cayendo de la punta de hojas empapadas, y con infecciones de roya; él demostró que estas gotas contenían un número elevado de esporas de roya. Bock (1962a) hizo un estudio de las circunstancias bajo las cuales las esporas son transportadas hacia el envés de hojas de café. Señaló que casi todas las esporas podían ser removidas eficientemente al fregar las hojas cuidadosamente con un poco de algodón mojado. Si posteriormente se aplicaba una disolución de acetato de celulosa con una brocha y se separa como una película delgada después de secarse, llevando consigo cualesquiera esporas que hubieran sido depositadas después del fregado, se podía fácilmente detectar, contar y anotar sus posiciones en la hoja al examinar la película. De esta manera se determinó el depósito de esporas sobre el envés de hojas en el campo durante períodos específicos de 24, 48 y 72 horas. En hojas libres de lesiones de roya, al faltar lluvia, no se encontraba ninguna, o sólo unas pocas esporas (presumiblemente no removidas por el fregado). En cambio después de una lluvia, se podían encontrar esporas y su número estaba más o menos relacionado linealmente con la cantidad de lluvia caída. Esta relación, sin embargo, no era exacta, pues la distribución dependía naturalmente de la naturaleza de la precipitación, suave y caída durante un período largo, o violenta y de corta duración. Sin embargo, es poco probable que aguaceros menores de 7,5 mm indujeran infección, aunque sí distribuían algunas esporas, pues no producían condiciones de humedad evidentemente adecuadas para permitir germinación y penetración, ya que no se encontró que ninguna de las esporas halladas después de tales lluvias livianas hubiera germinado.

Por lo tanto, estas observaciones confirman la hipótesis del autor, de que el método principal por el que las esporas llegan al envés de las hojas, debe ser la salpicadura hacia arriba desde los haces de otras hojas (p. 55). La diferencia entre esta hipótesis y la de

Nutman y Roberts y Bock se basa en el mecanismo mediante el cual las esporas llegan a los haces de hojas y no como se mueven de allá hacia el envés. Tampoco existe desacuerdo en cuanto a la posibilidad de que el agua que pasa sobre el envés de las hojas pueda distribuir las esporas de lesiones y ser causa del desarrollo de infecciones secundarias en la misma hoja en que hay lesiones primarias. Bock obtuvo evidencia adicional de que esto ocurre, usando la técnica antes descrita en hojas con pústulas. Mediante estimaciones de densidades de esporas en tiras de muestreo que van desde el nervio central hasta el borde de la hoja, se pudo construir un mapa de la distribución de la densidad de esporas, sobre toda la hoja. Se encontraron caminos de alta densidad de esporas, que se extendían desde las fructificaciones de la roya a lo largo de la hoja hacia el ápice, tal como resultaría con agua que pasa sobre las fructificaciones y luego escurre a lo largo de la hoja. Tales caminos sólo aparecieron después de lluvias y se desarrollaron más fuertemente con caídas mayores de lluvia. Se encontró que la distribución de fructificaciones secundarias estaba de acuerdo con la de la distribución de la densidad de esporas. Bock concluyó que las gotitas que contenían suspensiones densas de esporas, corren hacia el ápice foliar o hacia una ondulación en el margen foliar y que un impacto de otra gota de lluvia esparcía estas esporas a hojas adyacentes. Quizás debería recordarse que, aunque esto parece altamente probable, no se ha presentado realmente evidencia experimental de que esto ocurra. Aunque Burdekin (1960) encontró esporas en las gotas de lluvia que caen desde los ápices foliares, él no mostró que esto fuera resultado de la liberación por el agua que pasa sobre fructificaciones. En realidad, aunque Bock demostró claramente que esto puede suceder, no existe nada en su publicación que demuestre que parte de la cantidad de esporas de las salpicaduras de lluvia que llegan al envés de las hojas no infectadas, fuera el resultado de este método de liberación de esporas. Las propias observaciones de Bock han mostrado que a una altura de 1 m en el espacio intermedio entre dos arbustos, se encontraban de 1,0 a 16,7 esporas por metro cúbico de aire, según el grado de infección en el árbol. En vista de la alta velocidad de depósito, se podría esperar que dentro del árbol haya un número de esporas mucho más elevado. Además, como el aire dentro de un árbol, especialmente en los niveles inferiores, se encuentra relativamente en calma, es de esperar que una alta proporción de tales esporas se deposite sobre los haces foliares, especialmente en las hojas inferiores. No existen suficientes datos para calcular qué tasa de depósito podría esperarse, pero difícilmente puede ignorarse su importancia. Desafortunadamente Bock no ha reportado ningún examen de los haces foliares con respecto a esporas. Nutman y Roberts (1963) han señalado que exámenes muy cuidadosos después de intervalos de tiempo calmado y seco no revelaban depósitos visibles de esporas en los haces foliares. No se ofrecían más detalles, ni se describió el procedimiento experimental o la amplitud de las investigaciones. Se presume que las hojas fueron apenas inspeccionadas a simple vista, pues parece muy poco probable, con base en las observaciones de Bock sobre el número de esporas en los espacios intermedios entre arbustos, que no hubiera depósito sobre las hojas dentro del arbusto, donde la concentración de esporas debía ser mucho más alta que en la parte exterior. Burdekin, por cierto, atrapó un elevado número de esporas 7,5 cm sobre el suelo debajo de árboles. Tales esporas podían prevenir las lesiones en las hojas de la parte alta del árbol, aunque existe la posibilidad de que hubieran sido sopladadas desde lesiones en hojas viejas caídas que se encontraron en el suelo.

Por lo tanto, no existen datos satisfactorios y exactos sobre el número de esporas liberadas en el aire y atrapadas sobre los haces foliares, esporas que más tarde podrían ser liberadas por la lluvia y distribuidas por salpicaduras al envés de las hojas; en su ausencia no se puede llegar a conclusiones válidas sobre la importancia relativa de la liberación en el aire durante tiempo seco en comparación con la liberación por la lluvia.

Sin embargo, la lluvia también puede ser causa de la liberación de esporas en el aire, ya sea por sacudimiento producido por las gotas de lluvia que caen sobre los haces foliares, o por el golpe de la salpicadura de gotitas que chocan sobre lesiones altamente productivas en las esporas, tal como sugirió el autor (véase p. 58). No se ha informado de observaciones de campo de las cuales se pudiera evaluar la importancia de estos mecanismos. Pareciera lógico

que con los primeros aguaceros después de un período seco, pudiera ocurrir una liberación considerable de esporas en el aire y con vista a los vientos turbulentos fuertes que frecuentemente acompañan tales aguaceros, las esporas liberadas podrían ser llevadas a alturas y distancias considerables desde su punto de origen.

Nutman y Roberts (1962b) han presentado los siguientes argumentos, aparentemente de peso, contra la opinión expresada por el autor en 1961 de que las salpicaduras de hojas inferiores muy pocas veces golpean las lesiones para que éste sea el método predominante de la liberación de esporas:

1. Aunque Nutman y Roberts están de acuerdo en que las esporas pueden ser sacudidas dentro del aire, ellos indican que el trabajo de Bock con la trampa de esporas mostró que tales esporas no se elevan sobre el nivel de las pústulas que las producen. Realmente, como ya se vio (pp.59-60).este trabajo de Bock claramente mostró que las esporas sí pueden detectarse sobre los arbustos, aunque es discutible si estas esporas juegan un papel en el desarrollo de epifitotias, o en la dispersión a la distancia. En cualquier forma, el hecho de que las esporas liberadas al aire no asciendan, no es un argumento en contra de su importancia en la formación localizada de infección. Tal como sugirió el autor en primer lugar, esto significaría que la mayoría era depositada cerca de su punto de origen y que la propagación de la epidemia se aproximaría a la que se espera de un hongo diseminado por salpicaduras de lluvia.
2. Nutman y Roberts citaron resultados de la publicación de Bock en la cual él comparó concentraciones de esporas realmente observadas sobre el envés foliar después de una lluvia, y las concentraciones que podían resultar si todas las esporas encontradas en el aire a dos metros de altura entre arbustos fueran depositadas en las hojas, demostrando que la última concentración sería más baja que la crítica para la infección. Como ya se vio anteriormente (pp.47-48), la evidencia para la existencia de una concentración crítica o aun de un efecto sinérgico de la proximidad de esporas sobre una infección, es discutible. Difícilmente podría decirse, para citar a Nutman y Roberts (1962a), que esto pone el último clavo, quizás sin necesidad, en el ataúd del mito de la dispersión por el aire. Además, resulta irreal calcular el número de esporas que probablemente se depositan dentro de un arbusto a partir de la concentración de esporas que rodean el árbol, tomando en cuenta que la liberación de esporas ocurre dentro del arbusto y que éstas caen rápidamente. Finalmente, las concentraciones de esporas observadas por Bock se refirieron a aquellas sobre el envés y podrían haber sido igualmente esporas originalmente liberadas tanto por el aire como por el agua.
3. Nutman y Roberts afirman que evidencia de fotografía con luz electrónica ("flash") ha demostrado, que la salpicadura hacia arriba es perfectamente adecuada para liberar esporas; en una instancia un aguacero de 15 mm removió por completo todas las esporas sueltas de una lesión fuertemente recubierta, con sólo las salpicaduras hacia arriba desde hojas adyacentes. Desafortunadamente, esta evidencia (aunque ofrecida con un poco más de detalle en Nutman y Roberts, 1963, aún no se ha publicado en detalle. El autor no preguntó si esto pudo o no ocurrir, sino que si éste podría adecuadamente constituir el método predominante de la liberación de esporas. La evidencia publicada por Nutman y Roberts sólo demuestra que sí puede ocurrir pero no que sea el método predominante.
4. Nutman y Roberts citan resultados de Bock (1962b) sobre el desarrollo de epifitotias como si éstas pudieran explicarse completamente, con base en la efectividad de la dispersión por agua. Estos resultados son igualmente explicables en vista de que las esporas son liberadas en el aire y luego llevadas al envés de las hojas por medio de las salpicaduras de la lluvia.

Aunque, como puede deducirse de lo anterior, los argumentos propuestos por Nutman, Roberts y Bock no son conclusivos, parece que la liberación directa por salpicaduras de agua podría ser muy bien de mayor importancia de lo que se ha vislumbrado por investigadores anteriores. Es de esperar que eventualmente se lleven a cabo observaciones de campo para una evaluación satisfactoria sobre la importancia relativa de éste y de otros métodos de liberación.

La posibilidad de que insectos puedan ayudar en la dispersión, la han sugerido recientemente dos investigadores independientes. En Mysore, India, Ananth y Chokkana (1961) encontraron que *Euphysothrips subramanii* Ram. et Marg. y *Scirtothrips bispinosus* Bagn., se alimentaban de lesiones de roya y que llevaban un número elevado de esporas en sus cuerpos cuando se desplazaban sobre las hojas. Se creyó que estos insectos podían ser el agente mediador causante de la infección de hojas jóvenes, recubiertas de rocío, en ausencia de lluvias, en brotes de hojas producidas en diciembre y enero. El control de la roya mediante atomización, con un sistema basado en cubrir cada tres pares de hojas de formación reciente, resultó inefectivo en esta época del año, porque la hoja joven se infectaba tan pronto como se formaba. Se creyó que este fenómeno se debía a la actividad de los thrips que pasaban el período caliente del día en las hojas viejas, en las cuales habían lesiones de roya, y visitaban los brotes terminales durante las horas frescas de la mañana o de la noche, llevando masas de esporas de roya consigo en sus cuerpos. Aunque no se mencionaron insectos adultos con alas, pareciera posible que éstos podrían constituir un medio con el cual la infección podría llevarse a largas distancias.

Crowe (1963) estudió insectos asociados con lesiones de roya en Kenia. Se encontró que las larvas de dos especies de mosquilla (*Cecidomyiidae*), *Lestodiplosis* sp. y *Mycodiplosis* sp. (?) se comían las esporas. Estos insectos eran atacados por dos parásitos de la clase himenóptera, *Leptacis kivuensis* Risbec y *Synopeas* sp. Mientras se buscaban hospedantes, se encontró que estos insectos estaban cubiertos densamente con esporas de roya. Después de la ovoposición o busca infructuosa, ellos caminaban hacia el borde de la lesión y se quitaban la mayoría de las esporas. Bajo condiciones de laboratorio se encontró que tales insectos llevaban desde 1 a 89 esporas, con un promedio de 37. Una vez desprendidos en el aire, estos insectos podrían ser llevados por el viento. En un ataque severo de roya son extremadamente abundantes, habiéndose estimado un nivel de 8.100 por ha en un caso muestreado. Se concluyó que aunque estos insectos no son portadores muy eficientes de esporas de la roya, podrían jugar un papel más importante en la diseminación de la enfermedad dentro de una plantación, debido a su abundancia y asociación obligada con pústulas de la roya, pudiendo constituir los medios más probables de la dispersión a plantaciones remotas.

Para resumir, se ha propuesto tres medios para la dispersión de esporas: aire, lavado por la lluvia, y transporte por insectos. La evidencia obtenida hasta ahora indica la participación de los tres medios, pero todavía hacen falta datos exactos sobre su importancia relativa. En el caso del primero debe enfatizarse que solamente parte del viaje sería efectuado por el aire, pues las salpicaduras de la lluvia o el lavado llevarían en última instancia las esporas al envés de la hoja. La liberación en el aire puede tener lugar de diferentes maneras. El viento solo quizás sea suficiente cuando es suficientemente fuerte, y especialmente si las lesiones son viejas y fuertemente incrustadas con esporas o se encuentran sobre hojas caídas, aunque es poco probable que este método sea de mucha importancia. La sacudida mecánica tal como ocurre al chocar dos hojas en el viento, representa otro medio, mientras que las olas de choque producidas por el golpe de gotas de lluvia sobre el haz foliar de hojas o directamente sobre la superficie con lesiones, podrían muy bien ser de mucha importancia, pero debe esperarse su evaluación bajo condiciones de campo. Aunque queda claro que solamente pocas esporas se dispersan en el aire entre arbustos, números más elevados podrán existir dentro del arbusto, donde hasta ahora no se han hecho mediciones de su abundancia especialmente durante lluvias, cuando probablemente tiene lugar la máxima liberación. A

pesar del debate considerable que ha provocado la interrogación de si las esporas son predominantemente liberadas en el aire o en el agua, debe entenderse perfectamente que para muchas consideraciones prácticas y teóricas esto no tiene mucha importancia puesto que en ambos casos existe un acuerdo de que finalmente las esporas son llevadas al envés de las hojas mediante la lluvia.

LITERATURA CITADA

Por el hecho de que ya hay dos bibliografías detalladas sobre la Roya del Cafeto, la de Stevenson y Beam (1953) y la de Cáceres publicada por el IICA en 1970, no se ha indicado en esta lista los títulos de artículos de revista, sino solamente el volumen (en cursiva) y el número de la primera página.

ABBAY, R. 1878. *J. Linn. Soc. (Bot.)* 17:173.

ALEXANDER, J. 1878. *Gard. Chron.* 10:570.

ANANTH, K. y CHOKKANNA, N. G. 1961. *Indian Coffee* 25:37.

ANDERSON, G. 1879. "Jottings on coffee and its culture in Mysore". Bangalore 1879. Review in *Gard. Chron.* 12:398.

_____ . 1882. *Trop. Agricul.* 1:964.

BERKELEY, M. J. 1869. *Gard. Chron.* p. 1157.

BOCK, K. R. 1962a. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45:63.

_____ . 1962b. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45:289 y 301.

BURDEKIN, D. A. 1960. *Kenya Coffee* 25:212.

BURK, W. 1888. *Med. Kon. Akad. Wetenschappen (Natuurkunde)* 5(Ser 3):336.

_____ . 1889. *Med. uit'S Lands Plantentuin* 5:1.

BURTT-DAVY, J. 1905. *Transvaal Dept. Agr. Rep.* 1903 – 1904. p. 297.

CARRUTHERS, J. B. 1904. *Rep. Gov. mycologist in Ceylon Roy. Bot. Gard. Admin. Rep.* 1903.

CHEVAUGEON, J. 1956. *Rev. Mycol.* 21 Suppl. Colon. 2, p. 57.

COFFEE BOARD, KENYA. 1959. *Kenya Coffee* 24:165.

COFFEE RUSTS RESEARCH CENTER. Oeiras, Portugal. *Progress Report 1960–1965.* Oeiras 1965. 144 p.

CRAMER, P. J. S. 1908. *Teysmannia* 19:66.

CROWE, T. J. 1963. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46:24.

CUMMINS, G. B. 1959. "Illustrated genera of rust fungi". Minnesota, U.S.A., Burgess Publishing Co.

DAVID, P. A. 1928. *Philipp. Agr.* 17:45.

DELACROIX, G. y MAUBLANC, A. 1911. "Maladies des plantes cultivées dans les pays chauds". Paris. v. pp. 267–414.

- DOIDGE, E. M. 1926. *Bothalia* 2:1.
 _____ . 1950. *Bothalia* 5 p. 398.
- D'OLIVEIRA, B. 1954-57. *Rev. do Café Portugues.* 1(4):5; 2(5):5; 2(6):5; 2(7):9; 2(8):5; 4(16):5.
- FABER, VON, F. C. 1910. *Ber. Deutsch. Bot. Gesell.* 28:138.
- GEORGE, K. V. 1956. *Bull. Indian Coff. Bd. Res. Dep.* 8.
- GOPALKRISHNAN, K. S. 1951. *Mycologia* 63:271.
- GREGORY, P. H. 1961. "The microbiology of the atmosphere". London, Leonard Hill; New York, Interscience Publishers.
- GYDE, L. M. 1932. *S. African J. Sci.* 29:296.
- HALILEY, G. F. 1883. *Trop. Agricult.* 2:841.
- HANSFORD, C. G. 1937. *E. Afr. Agr. J.* 3:235.
- HENDRICKX, F. L. 1939. *Rapport annuel pour l'exercice 1938 (2° partie).* pub. INEAC pp. 117-128.
 _____ . 1948. "Sylloge fungorum congensium - catalogues des champignons signalés au Congo Belge et au Ruanda-Urundi". p. 55. Brussels.
- LARGE, E. C. 1940. "The advance of the fungi". London and New York. Cape. Reimpreso 1962.
- MASSEE, G. 1906. *Kew Bull.*, pp. 35-42.
- MAYNE, W. W. 1930. *Mysore Coffee Exp. Sta. Bull.* 4.
 _____ . 1932a. *Mysore Coffee Exp. Sta. Bull.* 6.
 _____ . 1932b. *Mysore Coffee Exp. Sta. Bull.* 7.
 _____ . 1933. *Mysore Coffee Exp. Sta. Bull.* 10.
 _____ . 1936. *Mysore Coffee Exp. Sta. Bull.* 14.
- MORRIS, D. 1879a. *Nature* 20:557 and *Gard. Chron.* 12:531.
 _____ . 1879b. "The campaign of 1879 against coffee leaf disease by the coffee planters of Ceylon, assisted and guided by D. Morris". 274 p. Reimpresos de cartas y artículos de "Ceylon Observer". Jan-Aug. 1879.
 _____ . 1880. "The Coffee Leaf Disease of Ceylon and Southern India". Harrison & Sons, London.
- NARASIMHAN, M. J. 1936. *Adm. Rep. Agr. Dep. Mysore 1934-35*, pp. 19-22.
- NARASIMHASWAMY, R. L., NAMBIAR, K.K.N. y SREENIVASAN, M. S. 1963. *Indian Coffee* 27(9):261.
- NUTMAN, F. J. 1959. *Kenya Coffee* 24:451.
 _____ y ROBERTS, F. M. 1962a. *Kenya Coffee* 27:273.
 _____ . 1962b. *Nature* 194:1296.
 _____ . 1962c. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45:449.
 _____ . 1963. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46:27
 _____ y BOCK, K. R. 1960. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43:509.

- PETCH, T. y BISBY, G. R. 1950. The fungi of Ceylon. v. pp. 10 y 37.
- PETERSEN, L. J. 1959. *Phytopath.* 49:607.
- RAGUNATHAN, C. 1923. *Trop. Agr.* 60:128.
- _____ . 1924. *Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya* 8:109.
- RAJENDREN, R. B. 1967a. *Nature* 213:105.
- _____ . 1967b. *Mycologia* 59:279.
- RAYNER, R. W. 1955. *Dep. Agr. Kenya Ann. Rep. 1954. Vol. II.*
- _____ . 1956a. *Coffee Board Kenya Monthly Bull.* 21:65.
- _____ . 1956b. *Ann. Rep. Dep. Agr. Kenya 1956. Vol. II, pp. 52–55.*
- _____ . 1960 *Kenya Coffee* 25:85.
- _____ 1961a. *Nature* 191:725.
- _____ . 1961b. *Nature* 190:328.
- _____ . 1961c. *Ann. Appl. Biol.* 49:497.
- RAZAFINDRAMAMBA, R. 1958. *Rev. Mycol. Paris* 23:177.
- ROGER, L. 1951. "Phytopathologie des pays chauds" Paris, Paul Lechevalier.
- SADEBECK, R. 1897. *Mitt. Bot. Mus. Hamburg: 3 Beiheft zum Jahrb. der Hamburg Wiss. Anst. XIV pp. 92–95.*
- SCHROTTKY, E. C. 1881. *Trop. Agricult.* 1:133.
- SHIPTON, J. 1882. *Trop. Agricul.* 1:719.
- SNOWDEN, J. D. 1922. *Ann. Rep. Dep. Agr. Uganda year ended 31st. Dec. 1921.*
- STEVENSON, J. A. y BEAM, R. 1953. *Spec. Publ. Plant. Dis. Surv.* 3.
- STORCK, J. P. 1882. *Gard. Chron.* 17:219. *Trop. Agricult.* 1:910.
- SYDOW, P. y H. 1912–1915. "Monographia Uredinearum". pp. 205–207, 209–212, 215.
- _____ y BUTLER, E. J. 1906. *Ann. Mycol.* 4 p. 440.
- THARIN. 1913. *Congo Belge Bull. Agr.* 4:929.
- THIRUMALACHAR, M. J. and NARASIMHAN, M. J. 1947. *Ann. Bot. Lond. N. S.* 11:77.
- THISELTON DYER, W. T. 1880. *Quart. J. Micro. Sci. (N.S.)* 20:119.
- THOMAS, K. M. 1924. *Planters Chron.* 19(41):697.
- _____ . 1929. *Madras Agr. J. Nov. 1929.*
- THWAITES, G. H. K. 1874. *Rep. Direct. Bot. Gard. Peradeniya y Hakgala.*
- TRANZCHEL, W. 1904. *Trans. Soc. Imp. Nat. St. Petersburg Compt. Rend.* 35:311.
- TRIMEN, H. 1893. *Rep. Direct. Roy. Bot. Gards. Ceylon.*
- VENKATARAYAN, S. V. 1946. *Planters Chron.* 42:62. 1947. *Mysore Agr. J.* 25 :3. 1946.
- VISHVESHWARA, S. y NAG RAJ, T. R. 1962. *Phyton* 18:75.

WARD, H. M. 1881. *Trop. Agricult.* 1:505.

_____ 1882a. *Quart. J. Micro. Sci. N. S.* 22:1.

_____ . 1882b. *J. Proc. Linn. Soc. Bot.* 19:299.

WELLMAN, R. H. y McCALLAN, S. E. A. 1942. *Contrib. Boyce. Thompson Inst.* 12:431. .

WILSON, A. S. 1882. *Trop. Agricult.* 1:731.

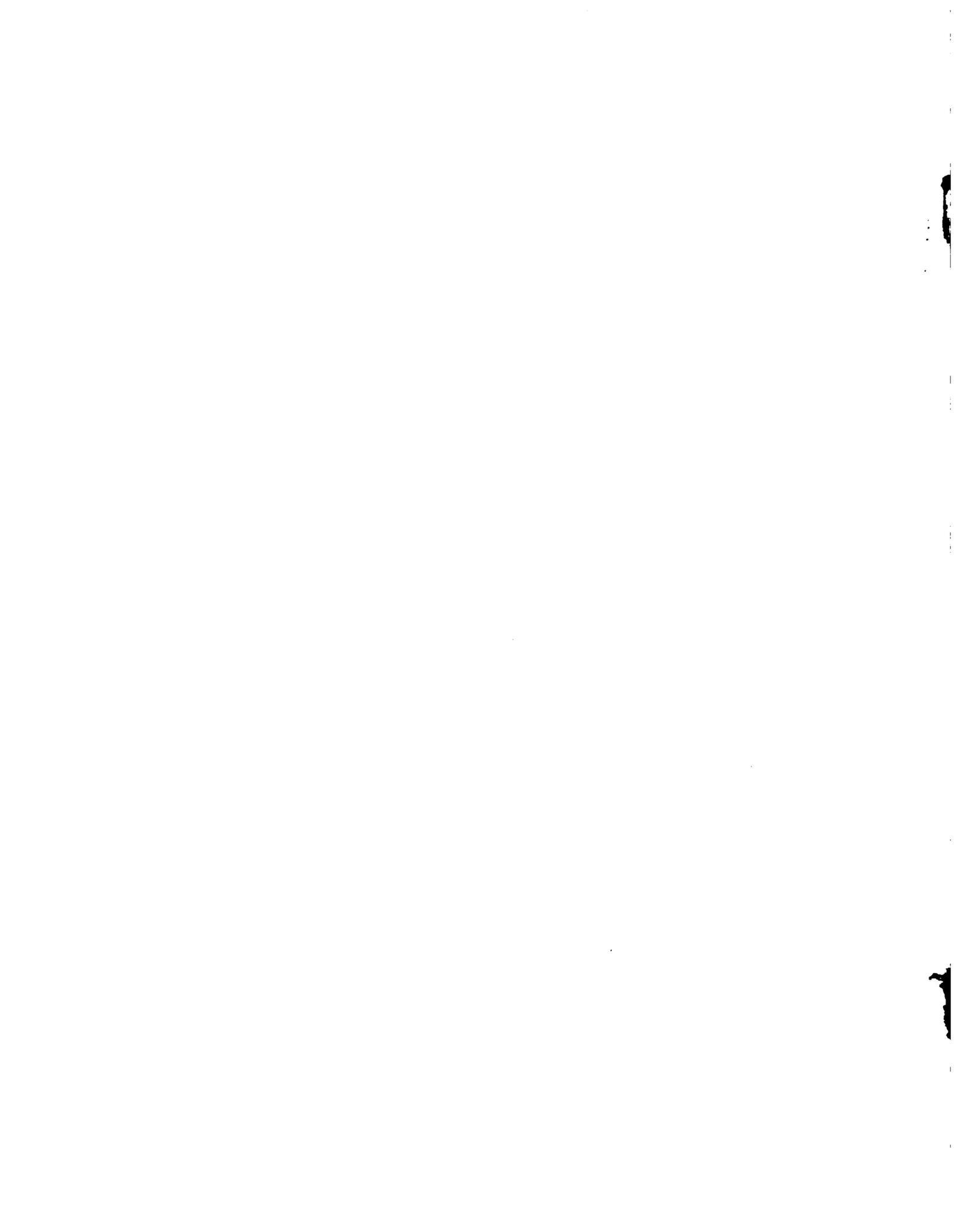
WURTH, T. 1910. *Cultuurgids* 11:539; también *Algemeen Proefsta. Java te Salatiga Med.* 34/35 (ser. II).

YOSHINAGA, T. 1913. *Bot. Mag. Tokyo* 27:67.

ZIMMERMANN, A. 1904. *Med. uit 'S Lands Plantentuin* 67:1.

ESTA OBRA SE TERMINO DE IMPRIMIR EL
SIETE DE AGOSTO DE MIL NOVECIE-
TOS SETENTA Y DOS EN LA IMPRENTA
DEL IICA-CIDIA.

SE HIZO UN TIRAJE DE
1300 EJEMPLARES



DOCUMENTS
MICROFILMED
- NOV. 1988
Fecha:

