

## TALLER SOBRE ROYA DEL CAFETÓ

### BIOLOGIA DE Hemileia vastatrix Berk. y Br.

Gabriel Cadena Gómez. \*

#### Taxonomía

La roya del cafeto es causada por el hongo Hemileia vastatrix Berk. y Br. Este hongo pertenece al orden de los uredinales que es uno de los órdenes fungosos más grandes, ya que comprende más de 5.000 especies, muchas de ellas de gran importancia económica como las royas de los cereales y son parásitos en más de 200 familias de plantas vasculares ( 1 ). Las royas atacan casi todas las clases de plantas desde los musgos, helechos primitivos, gimnospermas hasta diversas familias primitivas y avanzadas de las mono y dicotiledóneas. Una importante suposición que los uredinólogos hacen es la de que las royas han coevolucionado con sus hospedantes durante largos períodos ecológicos. Un corolario de esta suposición es que generalmente hablando, las royas que parasitan a las clases más primitivas de las plantas existentes, son así mismo las clases de royas más primitivas y aquellas que parasitan a las clases de plantas más avanzadas son las clases de royas más avanzadas. En la actualidad las royas se encuentran en todos los continentes con excepción de la Antártica, han invadido todos los principales ecosistemas y son más diversas en los trópicos que sin duda son su hogar ancestral ( 9 ).

Las royas son parásitos ecológicamente obligados y aparentemente con una estricta especialización de hospedante. Su ciclo de vida completo nunca ha sido obtenido en medio de cultivo axénico.

Las características más destacadas de las royas son su basidio y su nutrición parasítica con su morfología vegetativa asociada y especializada.

Las royas producen fragmobasidio, el cual a menudo tiene un probasidio bien diferenciado, comúnmente conocido como teliospora y metabasidio sobre el cual se forman las basidiosporas. Las royas no produ-

---

\* Jefe de la Sección de Fitopatología del Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAPE, Chinchiná, Caldas, Colombia.

cen basidiocarpos tal como generalmente se entiende pero un número de royas producen un tejido fungoso estéril bien desarrollado asociado con el soro basidial.

Ni las conexiones en grapa ("clamp connections") ni la septa doliporo que son estructuras características de muchos otros basidiomicetos son conocidas en las royas. La microscopía electrónica ha revelado el aparato "pully-wheel septal pore" que parece ser único para los uredinales.

La roya del café pertenece a la familia Pucciniaceae. En esta familia se han incluido tradicionalmente un grupo grande de entre 75 y 80 géneros. La familia es definida por las características de las teliosporas usualmente pediceladas y lateralmente libres o si lateralmente unidas entonces pediceladas ( 9 ).

Entre los más recientes trabajos sobre las tribus de la familia Pucciniaceae están los realizados por Buriticá y Buriticá y Hennen ( 9 ) con los Puccinosiirae. Buriticá hizo un estudio comparativo del desarrollo de la telia de 19 géneros dentro o aliados a la tribu Puccinosiirae. Su estudio colocó a esta tribu sobre una firme base morfológica y mostró convincentemente que la evolución de los Puccinosiirae ha ocurrido polifiléticamente por reducción del ciclo de vida a través de la vía endofitoide a partir de los ancestros en la familia Pucciniaceae con ecio como el del género Aecidium.

En otro estudio Leppik sugirió que Desmella, Hemileia, Cystospora y Gerwasia algunos de los cuales pertenecen a la tribu de Dietel denominada Hemileiae, la tribu de la roya del café, podían ser unidos teóricamente con ciertas antiguas royas de helechos en un solo grupo: los Stomatosporeae. Este grupo muestra una marcada similitud con primitivos Auriculariales sobre helechos tales como Herpobasidium y Platycarpa así como también con Jola y Eocronartium sobre musgos. El nombre Stomatosporeae se deriva de la forma característica en que algunos de esos hongos forman su soro basidial a partir del micelio que emerge a través de los estomas ( 9 ).

De acuerdo con las anteriores consideraciones la clasificación de la roya del café sería la siguiente:

División:	Eumycota
Subdivisión:	Basidiomycotina
Clase:	Teliomycetes
Orden:	Uredinales
Familia:	Pucciniaceae
Tribu:	Stomatosporeae
Género:	<u>Hemileia</u>
Especie:	<u>H. vastatrix</u> Berk. y Br.

## Descripción del género

El género Hemileia fue propuesto por Berkeley para la roya del café. Las características más notables para su diferenciación son el modo de esporulación estomática y las uredosporas característicamente reniformes, con la mitad verrugosa (equinulada) y la otra mitad lisa (Hemi = medio, leios = liso). La descripción fue la siguiente:

"Hemileia Berkeley y Broome. Soros un poco circinados, hipófilos desnudos; agregados diferenciados, no articulados, flexuosos. Esporas reniformes, al principio lisas, después granulada-verrugosas por un lado, unidas oblicuamente en la base mediante un punto pequeño, papiliforme".

Según Rayner (16) Cummins hace la descripción más reciente: "Espermatogonios y ecidios desconocidos. Uredios subepidérmicos en su origen, típicamente supraestomáticos, raras veces erupentes; uredosporas nacen individuales en pedículos, en grupos sobre células basales; son típicamente asimétricas, con un lado plano o cóncavo y generalmente liso. Telias parecidas a los uredios de la especie; las teliosporas 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, Zaghovania (incluye Cystospora) y Blastospora. Todos tienen Soros parecidos, supraestomáticos, pero difieren debido a las uredosporas de forma simétrica. Se han descrito más de 40 especies de Hemileia; pero el último estudio taxonómico de este género hecho por Sydows identifica solamente a 23. Todas son tropicales y solo de aproximadamente la mitad se han descrito las teliosporas. En ningún caso se ha descubierto un estado ecídico. La mayoría de las especies de Hemileia atacan rubiáceas, cierto número de apocimáceas, unas pocas asclepíadaceas, oleáceas y orquidáceas, caparidáceas, euforbiáceas, araliáceas, verbenáceas, hipericáceas y dioscoreáceas son atacadas por una especie en cada caso. En Colombia, Buriticá (3) registra a Hemileia colombiana Buriticá sp. nov. sobre Apocynaceae. Describe las características de las uredosporas y de las teliosporas y anota que aunque varias especies del género Hemileia han sido registradas en los trópicos americanos, los estados de telia no se habían encontrado.

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.

El Centro de Investigaciones de las Royas del Café reportó en 1965 que pruebas de inoculación cruzada llevadas a cabo en ese Centro, de-

mostraron 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.). También se encontró que ninguna de las royas de estos hospedantes ataca Coffea (16).

Una segunda especie de Hemileia que ataca Coffea es H. coffeicola Maublanc & Roger, registrada en Camerún en 1934. Difiere de H. vastatrix en una serie de características. Las diferencias principales son: el sorro se forma de manera diferente, los haustorios tienen forma distinta, las uredosporas 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.

Todas las especies cultivadas de café son atacadas en mayor o menor grado por H. vastatrix. Además un número de especies silvestres de Coffea también es atacada en condiciones naturales (16).

### El hongo

El micelio se encuentra completamente dentro del mesófilo 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  $\mu$ . 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 mesófilo y penetran en ellas mediante ramificaciones cortas, filiformes, que terminan en expansiones ovales, reniformes o un poco irregulares de 7 a 8, 4 x 4, 5  $\mu$  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 un número mayor. 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 mesófilo. 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 (16).

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 que gradualmente se decolora y torna más y más marrón; esta decoloración 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.

Las hifas forman masas entretejidas de micelio, de apariencia cora-

lina, en las cavidades subestomáticas. De estas masas un fascículo de filamentos finos 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 uredosporas 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 sencillito liso y de pared delgada, relleno de un citoplasma finamente granulado, en el cual con frecuencia se observa 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. 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. 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.

A los filamentos individuales de un soro se le ha llamado "hifas esporógenas". Consiste de dos o tres células que contienen dos núcleos; los de la célula terminal se dividen simultáneamente y los núcleos hijos de cada división simultánea pasan a las uredosporas (16).

### Uredosporas

La forma de las uredosporas maduras varía según la posibilidad en la cual se forman. Generalmente son angostas y triangulares 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 partes laterales, que normalmente están en contacto con aquellas de otras esporas del grupo son casi planas, con excepción del ápice y base de la espora, que son redondeados. A veces las uredosporas tienden a tener una forma piramidal. La parte más redondeada de la espora está densamente ornamentada con pequeñas espinas erectas de 3 a 4  $\mu$  de largo que tienden a ser más cortas y escasas hacia la parte lisa. Al microscopio electrónico se ha determinado que las espinas son más cortas, más anchas y más filosas de como generalmente se las describe y además están más distanciadas.

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  $\mu$  (largo por ancho), con pequeñas diferencias entre las muestras.

Esporas nuevas se producen debajo de las ya formadas cuando no son perturbadas, formándose columnas irregulares de un ancho de varias esporas.

El número de uredosporas producidas es muy elevado. Ward contó 150,000 en una oportunidad en una sola lesión.

Después de permanecer en el agua por algunas horas, las esporas se llenan de vacuolas esféricas de igual o desigual tamaño y de número variable. La germinación en el envés de una hoja mojada 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 exocarpio; entonces un tubo delicado, con un ápice redondeado, emerge por cada uno de los poros, con una ligera constricción en el punto de salida. El tubo es de diámetro uniforme de unas 4  $\mu$ . Por algún tiempo el tubo permanece sin ramificarse, pasando a él, el contenido anaranjado y granulado de la espора. Es posible que aparezcan vacuolas y glóbulos oleosos. Después pueden formarse ramificaciones; algunas de estas permanecen cortas, otras se extienden considerablemente, pero el crecimiento total que puede producirse es limitado. Si alguna parte del tubo germinal ramificado hace contacto con un estoma, se forma un apresorio. Este consiste en una vesícula ovoide o piriforme, en forma de saco. Casi todo el contenido coloreado de la hoja pasa al interior del apresorio, el cual puede estar separado mediante un tabique. En el lado inferior del apresorio se forma una protuberancia penetrante, la cual crece en el interior de la cavidad subestomática a través del ostiolo.

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 vacuolas con una estructura muy 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 soros al margen (16).

### Teliosporas

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, que son las teliosporas. Al principio son similares a uredosporas

jóvenes, pero se quedan más pequeñas y lisas y toman una forma casi globosa. Cuando están completamente desarrolladas tienen una forma irregular pero generalmente tienden a ser esféricas, achatadas y hasta con forma de nabo. Sus paredes son gruesas. La parte central del extremo opuesto de una teliospora es un poco aplanado, de él sobresale frecuentemente una protuberancia redondeada. El contenido es granular y de un fuerte color anaranjado rojizo. Las teliosporas están unidas al soro mediante un pedículo corto; no hay poro germinal. Las esporas miden de 15 a 18  $\mu$  de longitud incluyendo la protuberancia apical y en su parte más ancha tiene un diámetro de 18 a 24  $\mu$ . 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 estas, parte del contenido anaranjado de la teliospora. El promicelio queda subdividido por tabiques en menos de 18 horas desde el comienzo de la germinación y completamente madura entre 14 y 24 horas, cuando mide 65 a 80 x 8 a 10  $\mu$ , si crece en su lugar original sobre la hoja. Cada una de las células del promicelio emite un 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 (16).

En cada ápice se produce un abultamiento pequeño, casi globular, la basidiospora; que recibe el contenido de la célula respectiva del promicelio. Las basidiosporas se desprenden fácilmente de los esterigmas. Normalmente este tipo de esporas es de forma casi globular, pero pueden ser también casi reniformes o globulares; están rellenas de citoplasma anaranjado-rojizo y granulado.

Las basidiosporas germinan prontamente en agua y a veces todavía unidas al promicelio. A veces se produce muy rápidamente un tubo largo, delicado, pero generalmente se forma uno corto, obtuso, en forma de dedo, con un largo de unas cuatro veces el diámetro conídico. Este tubo se encoge y muere, ya sea que la germinación haya ocurrido en un portaobjetos o en una hoja de café (16).

En el Brasil se registraron teliosporas de H. vastatrix sobre plantas de Mundo Novo. Las dimensiones promedias de estas teliosporas fueron 20,88 x 20,33  $\mu$ . El tamaño medio de la papila fue de 3,71  $\mu$ . Son descritas como esporas con paredes dobles lisas y con formas globoides o napiformes. Las teliosporas fueron observadas en pústulas viejas del final del ciclo (17).

Recientemente Harr y Euggnheim ( 8 ) con la ayuda de un microscopio de barrido realizaron detalladas observaciones de H. vastatrix, las cuales comprobaron la descripción realizada por otros investigadores en el pasado, y que se resume en los siguientes términos: Las uredosporas de H. vastatrix germinan en uno o varios poros germinativos. Muy a menudo la germinación puede ser simultánea en 3 ó 4

de los poros. Después de la germinación los tubos normalmente se ramifican y forman un apresorio sobre o cerca a un estoma. Después de este proceso, frecuentemente se forma una vesícula en el lado dorsal del apresorio. En esta vesícula se encuentra la mayoría del citoplasma del tubo germinativo. A continuación se forma una hifa de infección que penetra a la cavidad subestomatal e induce la descarga del contenido de la vesícula, la cual finalmente se colapsa completamente y se inicia el proceso de colonización de los tejidos internos de la hoja (figura 1.).

Después del período de incubación, determinado principalmente por los factores climáticos, H. vastatrix empieza a formar uredosporas en el envés de las hojas. Al contrario de la mayoría de las royas, la epidermis no es rota por este proceso ya que H. vastatrix cruza la epidermis sólo a través de los estomas (7).

Las esporas de una pústula (originada en un solo estoma) difieren con respecto a su estado de desarrollo, las más viejas se encuentran en la periferia y las más jóvenes generalmente están localizadas en el centro u opuestas a las más viejas. Las esporas cerca a la madurez, son prominentemente equinuladas dorsalmente pero son lisas ventralmente (7) (figura 2).

#### Germinación de las uredosporas

La germinación de las uredosporas de H. vastatrix depende de muchos factores: unos referentes a la calidad de las esporas en si mismo y otros relacionados con las condiciones externas a las esporas, especialmente las condiciones ambientales.

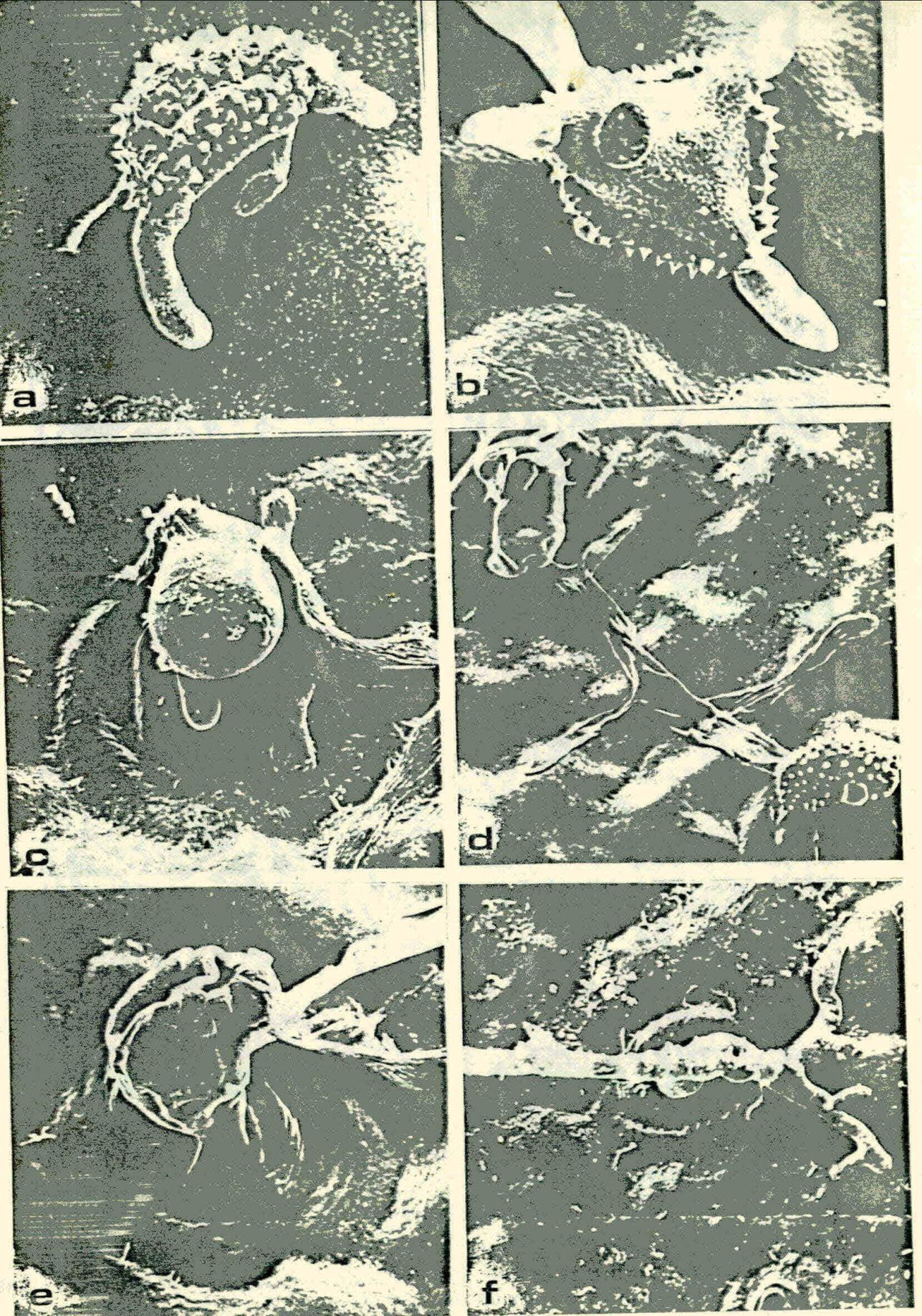
Masumeci y colaboradores (11) registran la existencia de un auto-inhibidor de la germinación de las uredosporas que actúa cuando están en altas concentraciones.

#### Temperatura

Ward, según Rayner (16) encontró que las esporas germinaban igualmente a 24°C cuando eran colocadas en contacto con agua, pero no lo hacen cuando se mantienen secas. El no investigó los efectos diferentes a niveles de temperatura sobre la germinación, ni si era suficiente una alta humedad relativa del aire para inducirla.

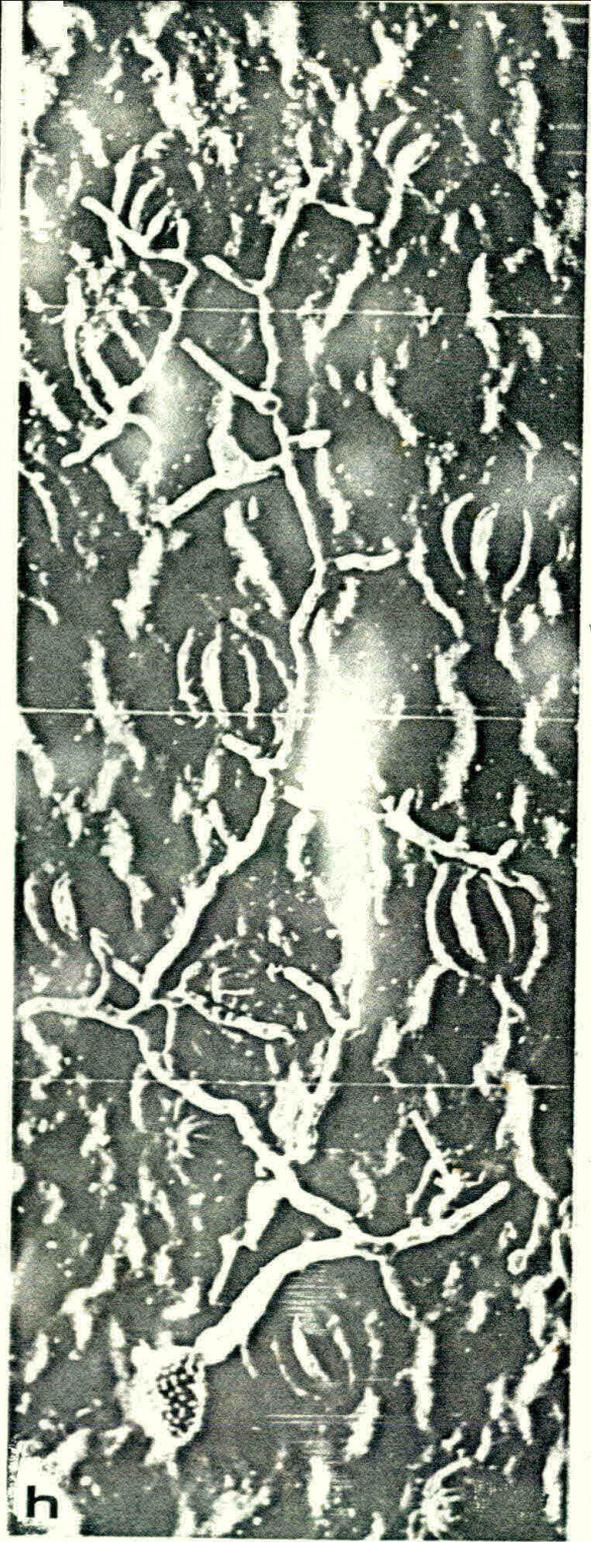
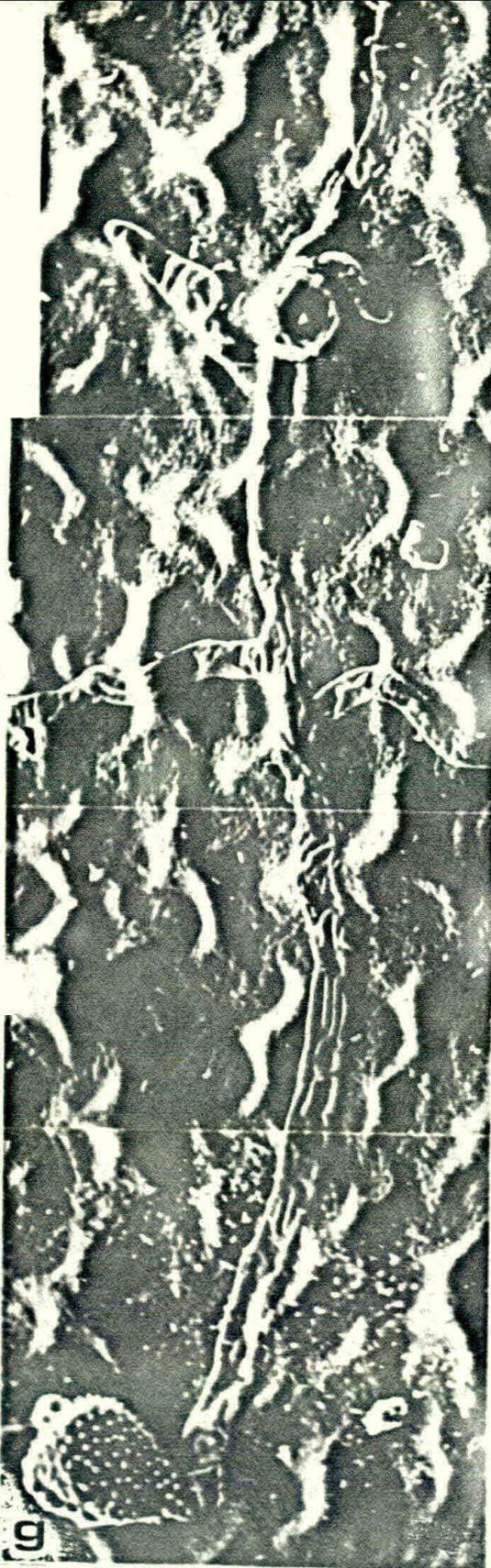
Los trabajos de Nutman y Roberts (15) relacionados con el efecto de la temperatura sobre la germinación, bajo condiciones de laboratorio, determinaron que sobre PDA el óptimo está alrededor de 22°C con 15°C y 28°C como límites. Sobre la superficie foliar (discos de hojas) encontraron un comportamiento bi-modal con dos picos: uno a los 21°C y otro a los 25°C, separados ambos por una marcada depresión de germinación entre los 23 y 24°C. (figura 3).

Por el contrario Montoya (12) encontró que las esporas de H. vasta-



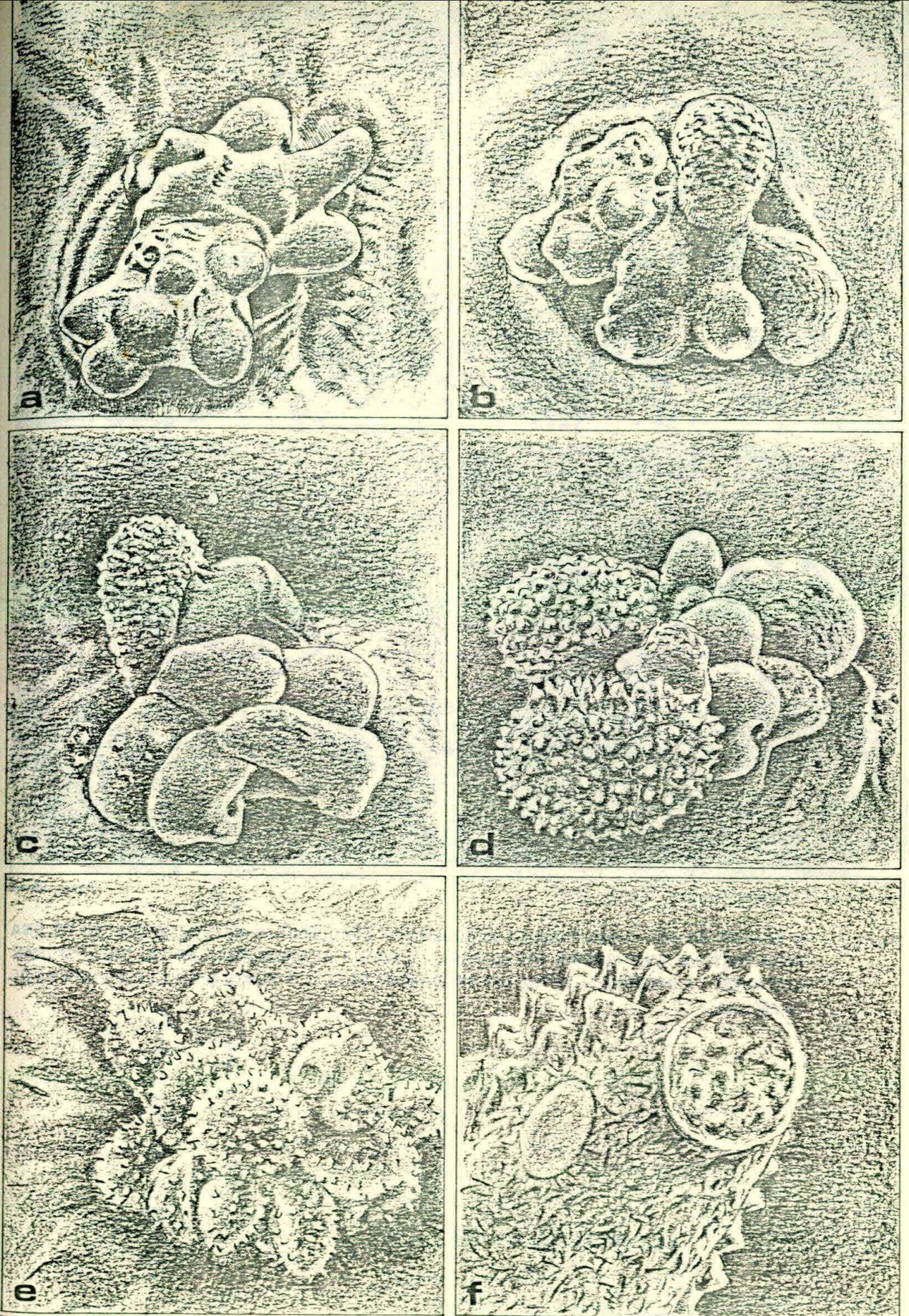
Tomado de J. Harr and R. Guggenheim 1978

Figura 1.- a y b) UREDOSPORA DE *Hemileia vastatrix* GERMINANDO; c) FORMACION DE UNA VESICULA SOBRE LA PARTE TERMINAL DE UN APRESORIO (NOTESE LA HIFA DE INFECCION ENTRANDO AL ESTOMA); d) VACIADO DEL TUBO GERMINATIVO COMO CONSECUENCIA DE LA FORMACION DE LA VESICULA; e) DESCARGA DEL CONTENIDO DE LA VESICULA EN LA HIFA DE INFECCION DENTRO DEL ESTOMA; f) FORMACION DIRECTA DE UNA HIFA DE INFECCION SIN APRESORIO.



Tomado de J. Harr and R. Guggenheim 1978

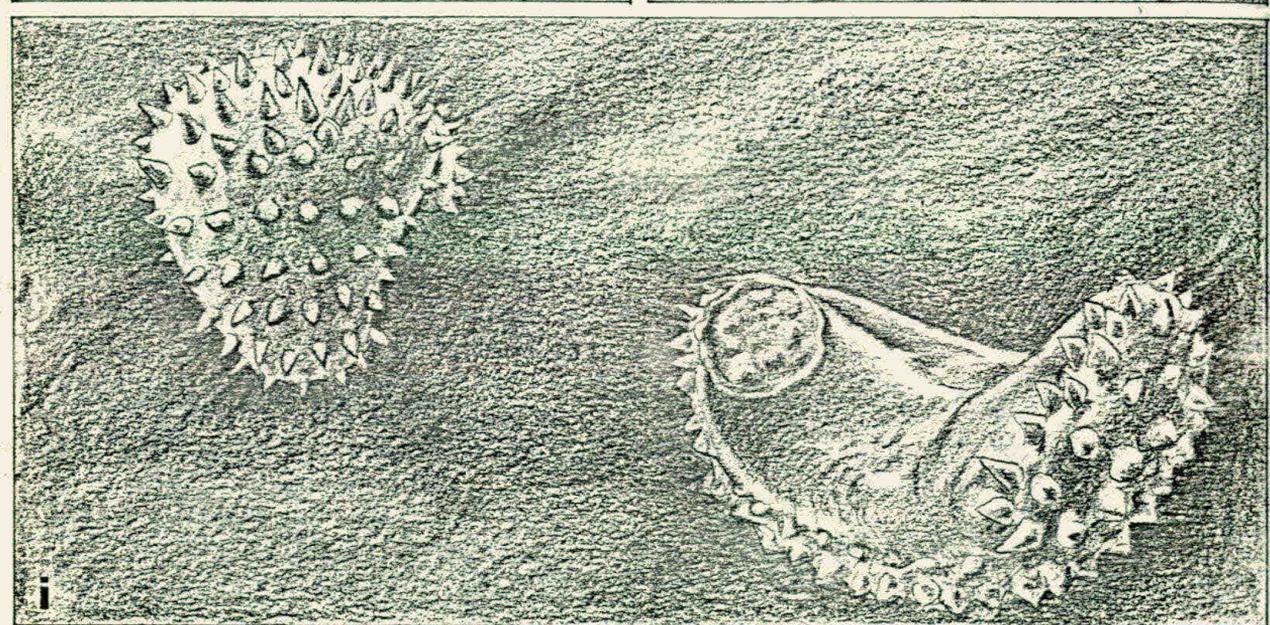
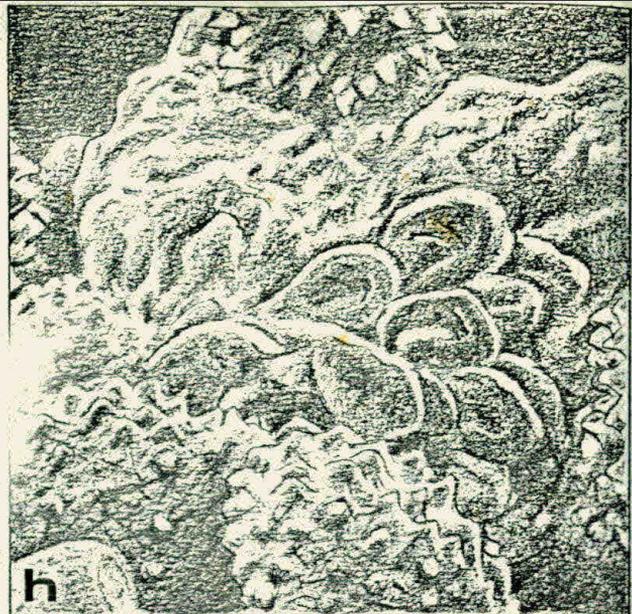
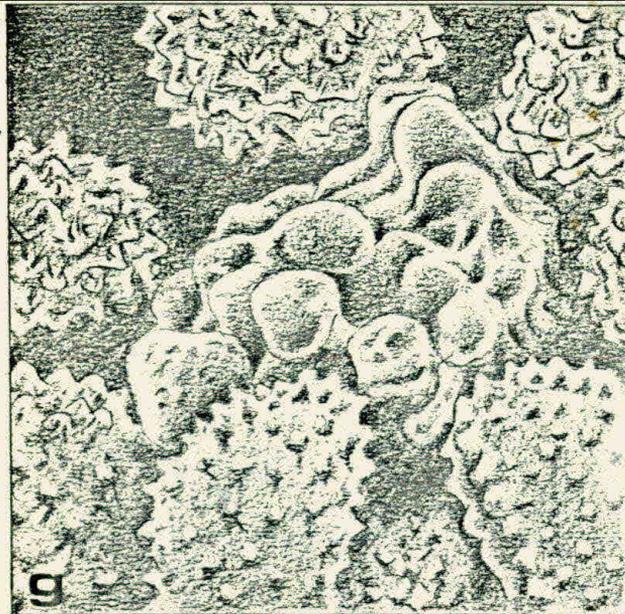
Figura 1 g) CRECIMIENTO Y FORMACION DE UN APRESORIO DE *Hemileia vastatrix* SOBRE EL HAZ DE LA HOJA; h) CRECIMIENTO Y FORMACION DE UN APRESORIO SOBRE EL ENVES DE LA HOJA.



Tomado de R. Guggenheim and Harr 1978

Dibujo: Ghayo S

**Figura 2 .-** ESPORULACION DE *Hemileia vastatrix*. a) LA ESTRUCTURA ESPORULANTE EMERGE DE UN ESTOMA CON LAS ESPORAS INICIALES CUBIERTAS POR UNA MEMBRANA CONTINUA; b) COMIENZA LA DIFERENCIACION DE LAS UREDOSPORAS; c) ESTADO INTERMEDIO DE DIFERENCIACION, NO SE OBSERVA CAMBIO EN LA MEMBRANA; d) PUSTULAS JOVENES QUE CONTIENEN UREDOSPORAS EN DIFERENTE ESTADOS DE DIFERENCIACION; e) PUSTULA QUE CONTIENE UREDOSPORAS MADURAS CON VARIOS GRADOS DE TURGENCIA; f) UREDOSPORA MADURA MOSTRANDO LA CICATRIZ RESULTANTE DEL DESPRENDIMIENTO DE LA ESTRUCTURA ESPORULANTE.



Tomado de R. Guggenheim and J. Harr 1978

Dibujos - Anaxos

Figura 2. g) CENTRO DE UNA VIEJA PUSTULA PRODUCIENDO UREDOSPORAS NUEVAS; h) CENTRO DE UNA VIEJA PUSTULA SIN PRODUCIR UREDOSPORAS; i) FORMA AERODINAMICA DE LAS UREDOSPORAS. OBSERVESE LA DIFERENCIA ENTRE LAS SUPERFICIES DORSAL Y VENTRAL DE LA ESTRUCTURA DE LA ESPORA.

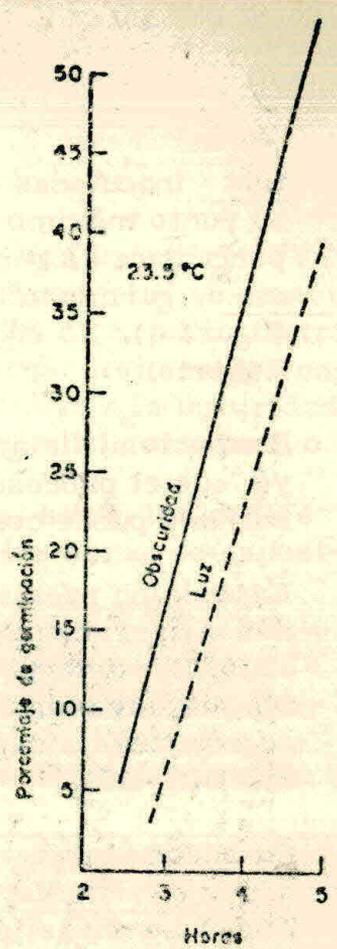
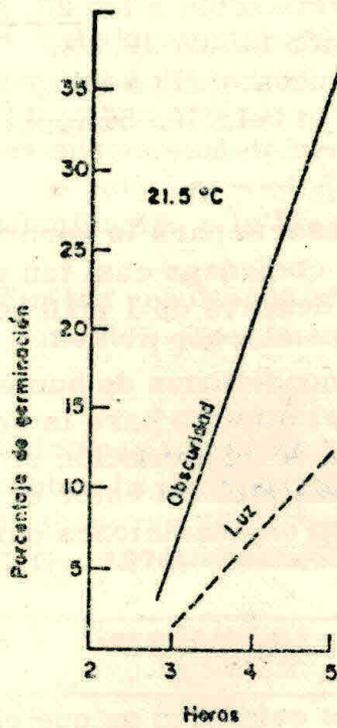
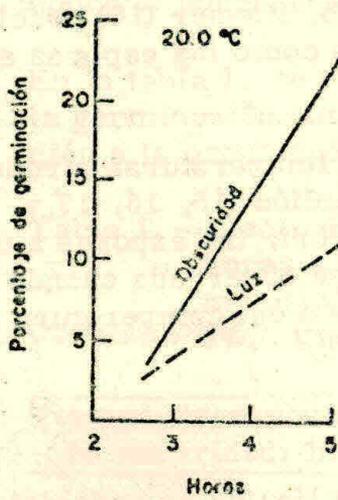


Figura 5.- GERMINACION EN OCCURIDAD Y LUZ PARA TRES TEMPERATURAS (SEGUN NUTMAN Y ROBERTS, 1963).

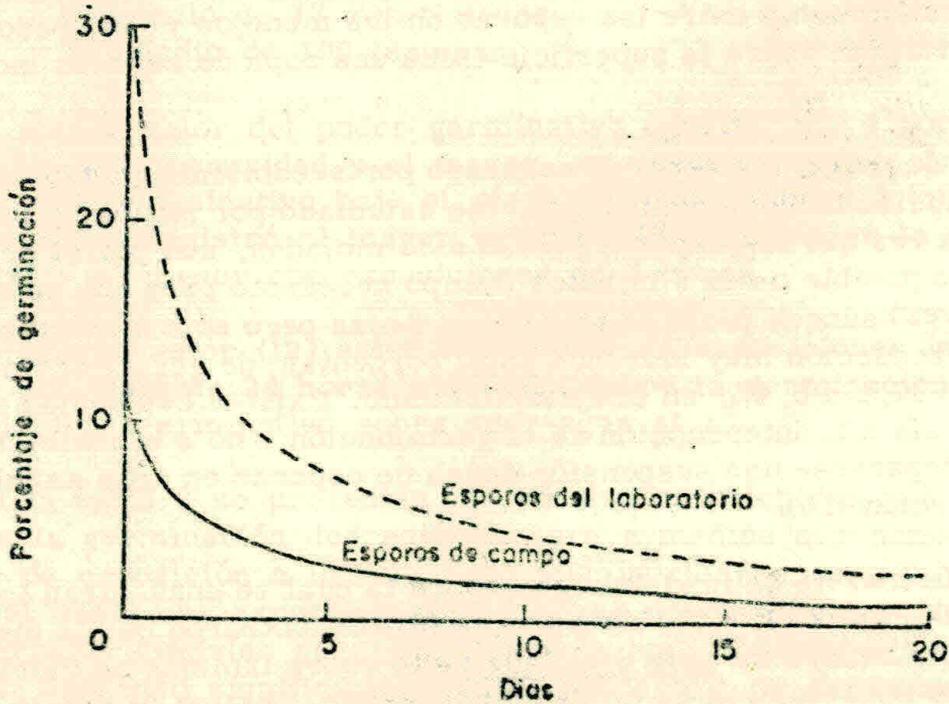


Figura 6.- EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO DE UREDOSPORAS SOBRE LA VIABILIDAD (SEGUN NUTMAN Y ROBERTS, 1963).

trix inoculadas sobre hojas de plantas de la variedad Catuai, alcanzan su punto máximo de germinación a los 23,7° C. A esta temperatura el porcentaje de germinación fue de 29,2%. De otra parte el punto mínimo de germinación se encontraría a temperaturas inferiores a 18° C (figura 4). No encontró la relación bimodal registrada por Nutman y Roberts.

Respecto al tiempo necesario para la germinación, Rayner (16) concluyó que el proceso debe comenzar casi tan pronto como las esporas se mojan y puede concluir después de 1 a 10 horas.

Exposición previa bajo condiciones de humedad a temperaturas alrededor o ligeramente bajo el mínimo para la germinación (15, 16, 17 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 (15).

### Humedad

Todos los investigadores coinciden en que el agua líquida es esencial para la germinación de las uredosporas de H. vastatrix. Humedades relativas del 95 y 98% son inadecuadas para estimular la germinación (16). Aunque se requiere agua líquida para la germinación es difícil mojar las esporas ya que la mayor parte de ellas, al colocarlas sobre unas gotas de agua, flotan en la superficie. Mientras las esporas estén en estado seco, permanecen agrupadas en manojos de diferentes tamaños. Al hacer contacto con una gotica de agua, se deshace de inmediato la adhesión mutua entre las esporas en los manojos y las uredosporas se extienden sobre la superficie como una capa de esporas individuales.

El efecto de mojar las esporas separado por secamientos antes de que la germinación hubiera comenzado, fue estudiado por Nutman y Roberts (15). Una vez que las esporas habían sido mojadas, aun por el período mínimo posible o sea 3 minutos (tiempo necesario para que se secan otra vez) aunque después se dejaran secas pero sólo 5 minutos, se tenía una reducción muy marcada en el porcentaje de germinación, siendo ésta de 37,1 a 5,4%, en el ejemplo citado. Existen evidencias de 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 (16).

En relación con la calidad del agua sobre la cual se encuentran las uredosporas Fumiko Ito y colaboradores (6), encontraron que la mejor germinación ocurre en agua destilada tanto sobre láminas de vidrio (53%) como sobre discos de hojas de café (56%). El uso de Tween 20 al 0.02% proporcionó mejor germinación e igualmente cuando el agua destilada fue esterilizada.

Efecto de la luz

Montoya (12) con base en trabajos realizados en Africa investigó el efecto de la luz sobre la germinación de las uredosporas de H. vastatrix. En el laboratorio efectuó pruebas en agar-agua al 2% en cajas de Petri sobre la cual esparció una suspensión de uredosporas. Bajo estas condiciones estudió el efecto de seis exposiciones iniciales a la oscuridad sobre el porcentaje de germinación y la longitud del tubo germinativo.

En la tabla 1, se presentan los resultados obtenidos según los cuales la germinación aumentó a medida que aumentaban las horas de exposición a la oscuridad.

Tabla 1. - Efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad, durante 24 horas a 22°C sobre la germinación y longitud del tubo germinativo de uredosporas de H. vastatrix, en agar agua al 2%. Vicoso M.C. 1974.

Tiempo de exposición a la oscuridad; horas	Germinación* %	Longitud Tubo germinativo**(micras )
4	10,1	348,16
8	22,4	443,30
12	24,7	468,15
16	27,6	484,86
20	30,2	486,64
24	35,0	482,70

\* Promedio de 12 repeticiones

\*\* Promedio de 100 lecturas

El menor valor del poder germinativo ocurrió con 4 horas de exposición a la oscuridad y el mayor, en oscuridad total. La longitud del tubo germinativo bajo el efecto de exposiciones iniciales a la oscuridad registró el mayor valor de 482 micras en la oscuridad total y el menor con exposiciones de 4 horas.

El mismo autor (12) estudió el efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas a 22°C sobre la germinación y longitud del tubo germinativo sobre agar-agua al 2%.

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos, según los cuales la germinación decreció siempre a medida que aumentó el tiempo de exposición a la luz. Esta disminución es aproximadamente lineal hasta una exposición de 16 horas donde el valor fue de 9,3%.

Períodos iniciales de exposición a la luz, superiores, no produjeron descenso significativo en el porcentaje de germinación.

Como la germinación, la longitud del tubo germinativo también decreció linealmente a medida que aumentaron los períodos de exposición inicial a la luz.

Tabla 2. - Efecto de exposiciones iniciales a la luz, durante 24 horas a 22°C, sobre la germinación, y longitud del tubo germinativo de uredosporas de H. vastatrix en agar-agua al 2%. Viçosa, M.G. 1974.

Tiempo de exposición a la luz: horas	Germinación* %	Longitud del tubo germinativo** (micras)
4	17,0	473,70
8	14,2	403,00
12	13,8	398,73
16	9,3	397,80
20	9,1	368,80
24	8,4	304,50

\* Promedio de 12 repeticiones

\*\* Promedio de 100 lecturas

Se concluye de estos trabajos lo mismo que otros autores habían encontrado anteriormente en cuanto al efecto de la luz sobre la germinación de H. vastatrix: que la germinación se ve afectada por la luz inhibiéndola y que la mejor condición para la germinación y crecimiento del tubo germinativo es la de total oscuridad.

#### Efecto combinado de la luz y la temperatura

Nutman y Roberts (15) estudiaron la interacción con la temperatura. Encontraron que no solo 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 bajó el porcentaje de germinación (figura 5).

#### Edad de las hojas

Nutman y Roberts (15) encontraron que es mayor la germinación en las hojas jóvenes que en las más viejas (tabla 3), también hay una diferencia en la tasa de germinación sobre diferentes partes de la lámina siendo hasta dos veces mayor cerca al margen y cerca a las nervaduras central y media.

Tabla 3. - Porcentaje de germinación sobre hojas de diferente estado de madurez después de 5 horas.

Árbol N°	Estado de maduración de la hoja		
	Joven	Intermedia	Vieja
	% de germinación		
1	41,5	29,5	20,3
2	22,5	10,3	8,5
3	26,4	11,2	5,8

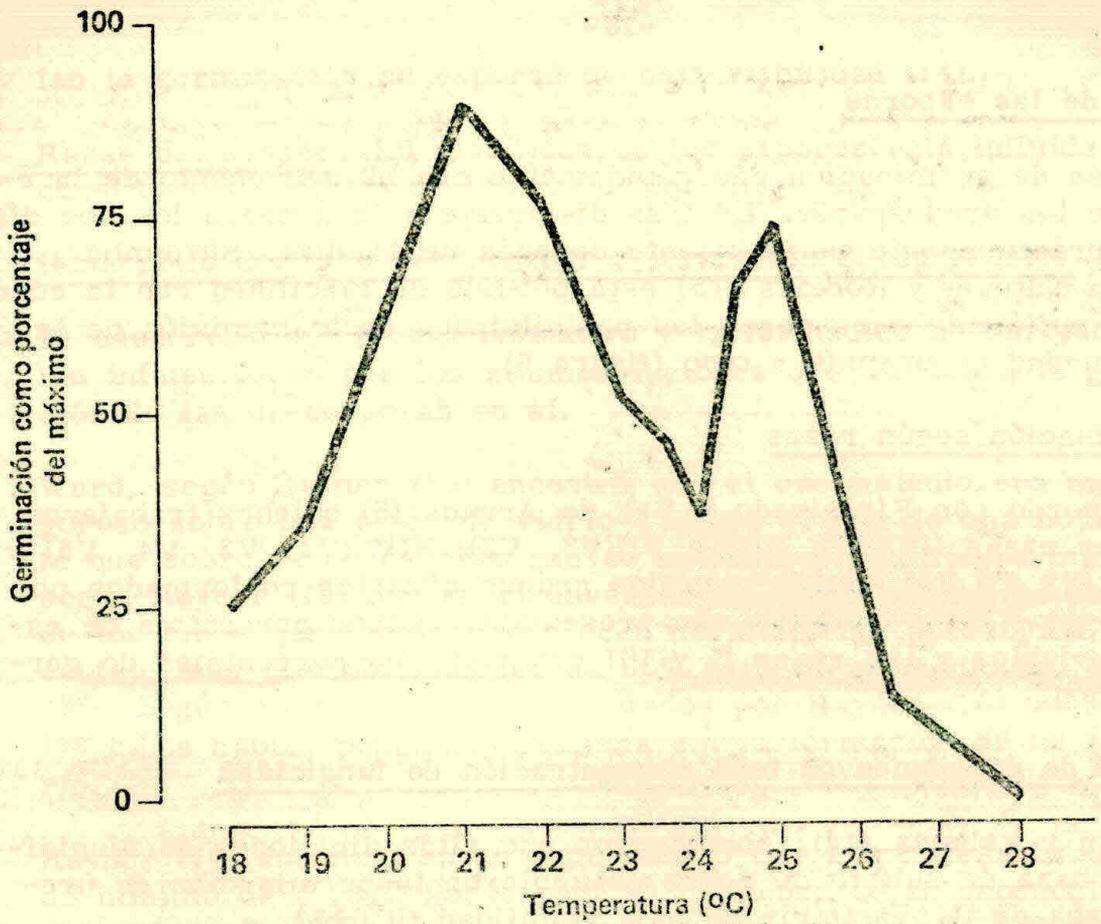


Figura 3.- GERMINACION SOBRE DISCOS DE HOJAS AFECTADAS POR LA TEMPERATURA (TOMADO DE NUTMAN Y ROBERTS, 1963).

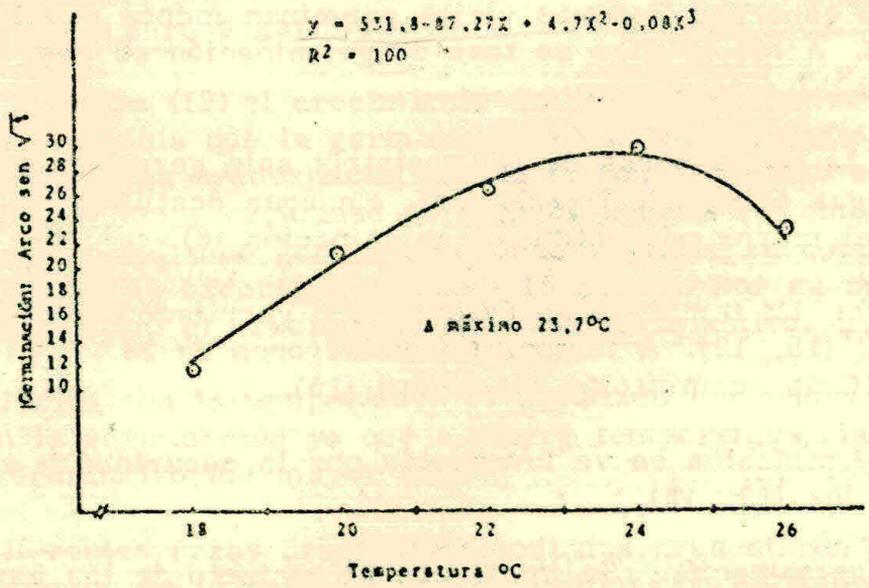


Figura 4.- EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA GERMINACION DE UREDOSPORAS DE *H. vastatrix* MANTENIDOS 24 HORAS A LA OSCURIDAD, EN PLANTULAS DE CAFETO.

### Edad de las esporas

La tasa de germinación cae rápidamente con el incremento de la edad de las uredosporas. La tasa disminuye a la mitad a los dos días y es prácticamente insignificante después de 15 días. Sin embargo, afirma Nutman y Roberts (15) esta pérdida de viabilidad con la edad no es suficiente para negar las posibilidades de transmisión de la enfermedad de un país a otro (figura 6).

### Germinación según razas

De acuerdo con Figueiredo y Vaz de Arruda (5) quienes trabajaron con las razas I(V1V2); II(V5); VII(V3, V5); XIV (V2, V3, V4, V5) y XXIV (V2 V4 V5) encontraron dos grupos distintos conformados por las razas XXIV, I y XIV que presentaron mayor porcentaje de esporas viables y las razas II y VII con menores porcentajes de germinación.

### Efecto de diluciones de baja concentración de fungicidas

Nutman y Roberts (14), encontraron que altas diluciones de fungicidas a base de sulfato de cobre estimularon la germinación de uredosporas de H. vastatrix de baja viabilidad (0,04%)

### Resumen

La germinación de las uredosporas de H. vastatrix es afectada por los siguientes factores:

Edad de las esporas: Esporas viejas germinan menos que las esporas jóvenes. A los 15 días su tasa de germinación es casi insignificante (15).

Humedad: Las uredosporas de H. vastatrix solo germinan en presencia de agua en estado líquido (16). En agua destilada es donde se obtiene el mayor porcentaje de germinación (6).

Temperatura: La temperatura óptima para germinación está entre 22° y 24° C (15, 12). A temperaturas mayores de 28° C y menores de 15° C la germinación disminuye (15).

Luz: La germinación se ve favorecida por la oscuridad y es inhibida por la luz (13, 15).

Tiempo de germinación: Se inicia con el contacto de las esporas con el agua y concluye en 7 a 10 horas (16).

Edad de las hojas: Hay mayor germinación sobre hojas jóvenes que sobre hojas viejas (15).

Diluciones de fungicidas: Fungicidas cúpricos muy diluidos estimu-

lan la germinación de esporas de baja viabilidad (14).

Razas del hongo: La viabilidad de las esporas está influida por la constitución genética de las razas del hongo (5).

#### Desarrollo del tubo germinativo y formación de apresorios

El desarrollo del tubo germinativo y la formación de apresorio están influenciados por los mismos factores que afectan a la germinación de las uredosporas en sí.

Ward, según Rayner (16) 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. Pero según Rayner (16) aún en el envés de las hojas solamente una parte de los tubos germinativos producen normalmente apresorios. El porcentaje más alto obtenido fue de 68% pero el promedio fue de un 25%. Según Nutman y Roberts, citados por Rayner (16) un 14% de los tubos habían penetrado estomas sin la formación de un apresorio.

Rayner (16) encontró en un experimento que era necesario un período mínimo de 4 1/2 horas para el comienzo de la producción de apresorios. En un segundo ensayo el tiempo fue de 7 1/2 horas y el 50% del número total de apresorios fueron producidos en 8 1/2 horas y el 95% en 10 horas.

Nutman y Roberts, según Rayner (16) siguieron el efecto de la temperatura sobre el porcentaje de esporas que germinan formando apresorios sobre discos foliares; encontraron una relación similar a la reportada para la germinación.

Según Montoya (12) el crecimiento del tubo germinativo siguió la misma tendencia que la germinación en cuanto se refiere a la germinación de las uredosporas cuando fueron expuestas a diferentes períodos de luz y oscuridad durante 24 horas. Sin embargo, el alargamiento del tubo germinativo prácticamente se completó con exposiciones a la oscuridad de hasta 16 horas. Por su parte la luz, también inhibió el crecimiento del tubo germinativo.

En relación con la temperatura el resultado fue contrario al obtenido con la germinación ya que a mayor temperatura, la longitud del tubo germinativo fue mayor (12).

Las diferentes razas del hongo estudiadas presentaron distintos comportamientos en lo referente a la ramificación del tubo germinativo. La raza XIV presentó el mayor porcentaje de ramificación y el tubo germinativo más largo, mientras que las razas I, II, y XXIV tuvieron tubos medios y el tubo germinativo más corto correspondió a la raza VII (5).

Masumeci (10) reporta la diferenciación de las estructuras especializadas de H. vastatrix sobre membranas de colodión más parafina.

### Infección

Ward, citado por Rayner (15) encontró que se obtenía infección al dejar una gotica de agua con uredosporas 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. El podía detectar la presencia de micelio en las hojas dentro de un lapso de tres o cuatro días después de la inoculación.

Los estudios de Ward demostraron que la penetración siempre ocurría en una estoma y que era precedida por la formación de un apresorio. Puesto que en las hojas de café existen estomas solamente en el envés, la conclusión lógica es que las infecciones pueden tener lugar solo en este lado de la hoja. Rayner (16) inoculó hojas de diversos estados de desarrollo, árboles de alto y bajo rendimiento y no detectó diferencia alguna entre hojas de distintas edades ya que se logró igual porcentaje de infección en todas ellas. Solo fue bastante difícil inocular hojas muy jóvenes con un tamaño menor de 5 cm. Esto posiblemente se deba a que su superficie no permite la permanencia del agua sobre ella. En el campo se observan infecciones naturales en hojas de todas las edades, con excepción de aquellas de apariencia juvenil (brillantes). Esta apariencia 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 (16).

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 (16).

Nutman y Roberts, según Rayner (16) estudiaron los efectos de algunas variables sobre la infección, con base en la formación de lesiones bajo condiciones de laboratorio. 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 tendencias bimodal, probablemente debido a que la concentración de inóculo se mantuvo baja.

Montoya (12) registra que un alto grado de infección fue obtenido con exposiciones iniciales de 12 horas a la oscuridad y que a mayor porcentaje de germinación de las uredosporas corresponde una mayor infectividad.

En relación con el número de esporas para lograr infección, Nutman y Roberts, citados por Rayner (16) encontraron que las esporas individuales no pueden producir lesiones, aunque otros autores han registrado infecciones exitosas a partir de una sola spora inoculada.

No todos los tubos germinativos que penetran la hoja pueden sobrevivir para producir lesiones comenta Rayner (16). En variedades de café resistentes se ha demostrado que la penetración si ocurre pero ninguna de las infecciones resultantes esporulan. 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.

Cadena (4) registra un menor número de lesiones por  $\text{cm}^2$  de área foliar en plántulas de la variedad Conilón consideradas como resistentes que en plántulas de la variedad Mundo Novo, inoculada con la misma concentración y calidad de esporas bajo condiciones de invernadero y sometidas a las mismas condiciones climáticas. Sin embargo, el número de lesiones fue menor también cuando las plantas inoculadas permanecieron durante menos tiempo en la oscuridad inmediatamente después de la inoculación.

Según Montoya (12) el proceso de germinación y penetración se realiza por completo en 24 horas, siendo afectada la infectividad por la temperatura y la luz que actúan durante este período.

### Resumen

La infección de Hemileia vastatrix está afectada por los mismos factores que actúan sobre el proceso de germinación. Sin embargo, el éxito de la infección también se ve influido por la cantidad de inóculo, su viabilidad y especialmente por las características genéticas del hospedante. En variedades susceptibles es mayor el número de lesiones producidas que en variedades con resistencia. Bajo condiciones óptimas, el proceso desde la germinación hasta la infección parece completarse en 24 horas dependiendo de los factores ambientales predominantes. El estado de desarrollo de las hojas también influye sobre la infección, la cual solo puede ocurrir por el envés ya que el hongo penetra por los estomas y éstos se encuentran únicamente en la parte inferior de las hojas de café.

### Período de incubación

Una vez el hongo ha penetrado exitosamente los tejidos del hospedante, se inicia la colonización y con el tiempo dependiendo de la naturaleza genética del hospedante, de la agresividad del patógeno y de los factores ambientales que los rodean, se manifiestan los síntomas visibles de la enfermedad (lesiones).

Los estudios sobre el período de incubación (PI) de H. vastatrix

para determinar los factores que lo afectan han sido realizados desde la época de Marshal Ward. Dicho autor, según Rayner (16) inoculó plantas bajo una temperatura de 25,5° C y detectó lesiones descritas como áreas amarillentas, pálidas después de 10 a 16 días de la inoculación pero más frecuentemente a los 14 días.

Mayne, según Rayner (16) estudió el PI en hojas separadas. Manchas amarillas podían notarse después de 7 a 12 días en café de la variedad Coorg (C. arabica) y después de 20 días en café Robusta.

Bock (2) efectuó en el campo un estudio de la relación entre la incidencia de aguaceros y la primera aparición de manchas foliares incipientes. El período promedio de incubación para la primera aparición de manchas incipientes visibles fue de 23 días, períodos ligeramente más largos o sea hasta 27 días se observaron en tiempo fresco. En distritos bajos y más calientes al oeste del Valle del Rift, los promedios fueron tan bajos como 20 días y se observaron períodos tan cortos como 18 ó 19 días. El máximo período observado fue de 42 días, en la estación fría del este del Valle del Rift. Bock concluye que el PI raramente excedió de 35 días.

De Moraes y colaboradores (13) determinaron el PI de H. vastatrix bajo condiciones de campo a pleno sol y a la sombra. Encontraron que el PI tiende a acortarse en los meses más calientes y se alarga en los más fríos. Registran que a pleno sol cuando las temperaturas medias máximas microclimáticas estaban por encima de 32° C ocurre un efecto depresivo sobre el PI, pues este era mayor en aquella condición que en la sombra. En los meses fríos, el PI era menor a pleno sol que en la sombra.

Según Figueiredo y Vaz de Arruda (5) el PI varía de acuerdo con las razas fisiológicas de H. vastatrix. Así las razas I y XXIV presentaron PI inferior a 20 días, la raza XIV 20 días y entre 20 y 30 días, las razas II y VII.

#### Período de latencia

Después de la aparición de los primeros síntomas visibles transcurre un lapso antes de iniciarse la producción de uredosporas. La suma de estos dos períodos: período de incubación más tiempo desde que se completó el PI hasta la esporulación, se denomina período de latencia. Los distintos autores lo relacionan indistintamente como la primera esporulación o cuando el 50% de las lesiones han esporulado.

Ward según Rayner (16) registró que la esporulación se iniciaba, 1 a 4 días después del PI y Mayne registra períodos de latencia de 15 a 24 días para C. arabica y 29 a 35 días para C. canephora.

Rayner (16) realizó observaciones bajo condiciones de campo y registró el tiempo necesario para que el 5, el 50 y el 95% de las

lesiones resultantes de dichas inoculaciones, esporularan. Según las épocas del año, la diferencia entre los puntos del 5 y el 50% varía de 1 a 9 días y entre los puntos del 50 y el 95% 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 no se produjo defoliación. (figura 7).

El efecto de la época del año sobre la esporulación varió de 25 a 45 días para que el 5 por ciento de las lesiones produjeran esporas y de 27 a 45 días para el 50%.

Con base en la relación aparente entre temperatura y duración del período de latencia (PI según Rayner) se calculó una regresión múltiple con los máximos promedios (X1) y promedios mínimos (X2) durante cada período.

La ecuación obtenida fue de  $Y = 90,61 - 0,408 X_1 - 0,440 X_2$ , donde Y era el período de incubación estimado para que el 50% de lesiones llegaran a esporular.

Montoya (12) denomina período de generación al tiempo transcurrido desde la inoculación hasta que el 50% de las lesiones esporularan. El encontró en plantas de la variedad Catuai que dicho período de generación (o de latencia) varió de 33 a 50 días y estuvo relacionado con el grado de infección. El período de generación fue más corto a la temperatura de 24° C (33 días) que a 4° C (49 días). Trabajando con temperatura constante de 24° C y variando la exposición de las plantas a la luz el período de generación aumentó con el tiempo de exposición a la luz hasta un máximo de 9,5 horas de luz donde el período llegó a 49 días aproximadamente. A partir de este punto el período de generación desciende hasta un mínimo de 20,5 horas de exposición a la luz, donde el período alcanzó 41,8 días.

Cadena (4) quien trabajó con plantas de la variedad Conilón (C. canephora) y Mundo Novo (C. arabica) registra variaciones en el período de latencia (denominado período de incubación por el autor) desde 87 días para plantas de Conilón a 44 días para las de Mundo Novo. En otros ensayos registra una variación en el período de incubación dependiendo de la época de la inoculación pero siendo siempre mayor para las plantas resistentes en relación con las susceptibles.

Rayner (16) también registra este tipo de variaciones en el período de latencia, según las variedades y las razas empleadas en las inoculaciones. El rango observado osciló entre 19 y 63 días con la raza I, y de 26 a 48 días con la raza II. Los períodos más largos correspondieron a la variedad K 7 que es resistente a la raza II.

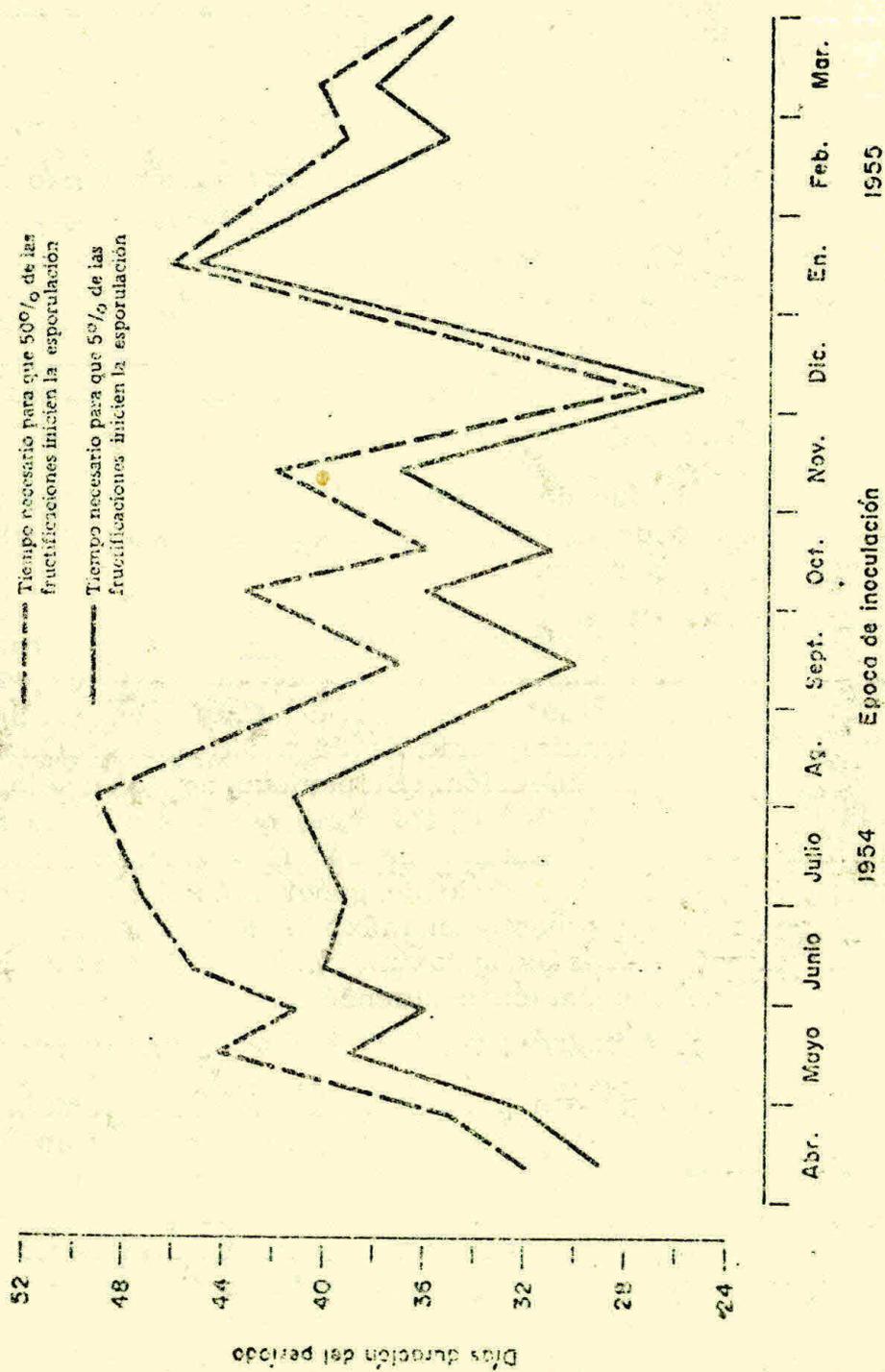


Figura 7.- EFECTO DE LA EPOCA DEL AÑO SOBRE EL PERIODO DE INCUBACION DE *H. vestatrix*, SEGUN RAYNER, 1972.

BIELIOGRAFIA

1. AINSWORTH, G.C.; SPARROW, F.K. and SUSSMAN, A.A. (eds.) The fungi an advanced treatise. Vol. IV B. A taxonomic review with keys: Basidiomycetes and lower fungi. Academic Press. New York. 504 p. 1973.
2. BOCK, K.R. Seasonal periodicity of coffee leaf rust and factors affecting the severity of outbreaks in Kenya Colony. Trans. Brit. Mycol. Soc. 45(3):289-300. 1962.
3. BURITICA, C.P. Los hongos de Colombia - II. Nuevas especies de Uredinales. Caldasia (Colombia) 12(57):165-170. 1973.
4. CADENA, G., G. Expresión de resistencia horizontal a la roya (Hemileia vastatrix) en la variedad Conilón (Coffea canephora). Tesis MSc. Programa de Graduados en Ciencias Agrarias UN-ICA. Bogotá, Colombia. 185 h. 1978.
5. FIGUEIREDO, P. e VAZ DE ARRUDA, H. Estudo da biologia de algumas racas de Hemileia vastatrix Berk. & Br. Arq. Inst. Biol. (Brasil) 41(1):47-51. 1974.
6. FUMIKO ITO, M.; SOAVE, J.; PARADELA FILHO, O. e RIBEIRO, I.J.A. Efectos do substratos agua sobre a germinacao de uredosporos de Hemileia vastatrix Berk. et Br. Summa Phytopathologica (Brasil) 4(2, 3, 4):83-88. 1973.
7. GUGGENHEIM, R. and HARR, J. Contributions to the biology of Hemileia vastatrix II. Sem- Investigations on sporulation of Hemileia vastatrix on leaf surfaces of Coffea arabica Phytoph. Z. 92:97-101. 1978.
8. HARR, J. and GUGGENHEIM, R. Contribution to the biology of Hemileia vastatrix. I. Sem- Investigations on germination and infection of Hemileia vastatrix on leaf surfaces of Coffea arabica. Phytoph. Z. 92:70-75. 1978.
9. HENNEN, J.F. and BURITICA, C.P. A brief summary of modern rust taxonomic and evolutionary theory. Rept. Tottori Mycol. Inst. (Japan) 18:243-256. 1980.
10. MASUMECL, M.R. Influencia de substratos artificiais na diferenciacao dos uredosporos de Hemileia vastatrix Berk. et Br. associado a estímulos de luz e calor. Summa Phytopathologica 2: 270-274. 1976.
11. MASUMECL, M.R.; MORAES, W.B.C. e STAPLES, R.C. Evidencia de un auto-inhibidor da germinacao nos uredosporos de Hemileia vastatrix Berk. et Br. O. Biologico (Brasil) 39(7):171-173. 1973.

12. MONTOYA, H.R. Influencia da temperatura e da luz na germinação infectividade e período de geração de Hemileia vastatrix Berk. et Br. Tese M.S. Universidade Federal de Viçosa, M.G. Brasil 60 h. 1974.
13. MORAES, DE. S.A.; SUGIMORI, M.H.; RIBEIRO, I.J.A.; ORTOLANI, A.A. e PEDRO JUNIOR, M.J. Período de incubação de Hemileia vastatrix Berk. et Br. em tres regiões do estado de São Paulo. *Summan Phytopathologica (Brasil)* 2:32-38. 1975.
14. NUTMAN, F.J. and ROBERTS, F.M. Stimulation of two pathogenic fungi by high dilutions of fungicides. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45(4):449-456. 1962.
15. NUTMAN, F.J. and ROBERTS, F.M. Coffee leaf rust. *PANS* 16(4):606-624. 1970.
16. RAYNER, R.W. *Micologia, historia y biologia de la roya del cafeto*. Trad. L. Muller. Turrialba (Costa Rica). IICA. 1972. 68 p. (Public. Misc. N° 94).
17. SUGIMORI, M.H.; SOAVE, J.; PARADELA FILHO, O.; MORAES, S.A.; RIBEIRO, I.J.A. & FUMIKO ITO, M. Constatação de teliosporos de Hemileia vastatrix Berk. & Br. no Brasil. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 2(4):299-302. 1976.