

C

**ESTUDIOS FISIOLÓGICOS Y DE FUNGICIDAS SOBRE PELLICULARIA,
"MAL DE HILACHAS", ESPECIALMENTE EN CAFE**

Por

**✓
Carlos L. Bianchini P.**

**Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas
Turrialba, Costa Rica
Noviembre de 1956**

**ESTUDIOS FISIOLÓGICOS Y DE FUNGICIDAS SOBRE PELLICULARIA,
"MAL DE HILACHAS", ESPECIALMENTE EN CAFÉ**

Tesis

**Sometida al Consejo de Estudios Graduados
como requisito parcial para optar al grado**

de

Magister Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADO:

Jesús de Wellmann Consejero

J. J. J. J. Comité

S. P. P. Comité

J. J. J. Comité

Lucy Hastings de Gutiérrez Comité

Noviembre de 1956

A

MIS PADRES

AGRADECIMIENTOS

Con el reconocimiento que merecen las nobles acciones, por este medio el autor deja constancia de su sincera gratitud, por el apoyo moral y la orientación científica que en cada momento le brindó el Doctor Frederick L. Wellman, tanto en materia de estudios, como en la elaboración del presente trabajo.

También hace extensivo ese reconocimiento, a los señores Doctores Jorge León, Pierre Sylvain, Eddie Echandi y Rodrigo Orellana, lo mismo que al siempre recordado Ing. Rodolfo Quesada y a la señora Lucy H. de Gutiérrez, quien con las personas anteriores integró el Comité de asesoramiento que tan valioso fue a mi labor.

Al Ingeniero don Mario Gutiérrez Jiménez, quien colaboró en la revisión de los manuscritos.

Asimismo, debo agradecer al Ministerio de Agricultura e Industrias, por haber patrocinado mis estudios en el Instituto, y a los señores Ingeniero Juan Pérez y Rodrigo Umaña, por su desinteresada y oportuna colaboración en los análisis estadísticos que, junto con los factores suministrados por otras personas, hicieron posible llegar a esta mi modesta pero feliz realización.

BIOGRAFIA

Carlos L. Bianchini Pirera, nació en la ciudad de Cartago, República de Costa Rica, el 22 de marzo de 1930. En la misma ciudad inició estudios en la Escuela de Enseñanza Primaria, "Jesús Jiménez", para pasar luego a realizar sus estudios de secundaria en el Colegio San Luis Gonzaga, de prestigio nacional, en su ciudad natal; obtuvo en esta institución el título de bachiller en ciencias y letras, en el año 1947. Los cursos universitarios los realizó en la Facultad de Agronomía, de la Universidad de Costa Rica, de 1948 a 1951, donde se graduó de Ingeniero Agrónomo. De 1952 a 1954 trabajó como auxiliar en la Sección de Fitopatología del Ministerio de Agricultura e Industrias de la República, pasando luego a realizar estudios de posgraduado en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, de Turrialba, hasta optar al título de Magistri Agriculturae.

Sirvió interinamente la cátedra de Fitopatología en la Universidad de Costa Rica, en el curso lectivo de 1955.

Actualmente desempeña el cargo de Jefe de la Sección de Fitopatología del Ministerio de Agricultura e Industrias de Costa Rica.

TABLA DE CONTENIDO

Agradecimientos.	1
Biografía.	11
Tabla de Contenido.	111
INTRODUCCION.	1
REVISION DE LITERATURA.	3
SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD.	6
MATERIALES Y METODOS.	7
Métodos de aislamiento.	7
Método estandar de inoculación	8
Inoculaciones cruzadas.	9
Influencia de diferentes fuentes de carbohidratos en el cre- cimiento de los <u>Pellicularias</u>	10
Crecimiento de los <u>Pellicularias</u> en medios líquidos de extractos de plantas adultas y jóvenes de café.	11
Crecimiento de <u>Pellicularia</u> sp. de cacao y <u>Pellicularia</u> <u>koleroga</u> de café en medio líquido de plantas adultas de cacao.	12
Cultivos de <u>Pellicularias</u> en diferentes medios sólidos para tratar de obtener producción de basidios y basidiosporas. Inoculaciones en el laboratorio y el campo bajo condiciones de luz y oscuridad.	12
Crecimiento de <u>Pellicularia koleroga</u> de café a diferentes temperaturas.	14
Efecto del pH sobre el crecimiento del <u>Pellicularia koleroga</u> de café.	15
Evaluación en el laboratorio de fungicidas y adherentes para el control de <u>Pellicularia koleroga</u> de café.	15
RESULTADOS EXPERIMENTALES.	18
Aislamientos de organismos.	18
Efecto de las inoculaciones.	20
Inoculaciones cruzadas.	21
Efecto de diferentes fuentes de carbohidratos.	25
Efecto de extractos de plantas de café y cacao.	28
Características culturales en medios líquidos.	29
Características culturales en medios sólidos.	34
Producción de basidios y basidiosporas en medios sólidos.	38

Efecto de la luz y la oscuridad en el comportamiento del <u>Pellicularia</u> de café.	40
Penetración del <u>Pellicularia</u> de café en los tejidos.	42
Efecto de la temperatura.	42
Efecto del pH en el crecimiento del hongo.	43
Efecto de fungicidas y adherentes sobre el micelio del <u>Pellicularia</u> de café.	43
DISCUSION Y CONCLUSIONES.	46
RESUMEN.	55
SUMMARY.	58
LITERATURA CITADA.	61
APENDICE	

INTRODUCCION

Entre las enfermedades fungosas que atacan al café, tanto en los trópicos como en los subtropicos está la producida por el hongo Pellicularia koleroga Cooke. Este organismo se encuentra distribuido en todos los países cafetaleros del mundo en donde hay estaciones lluviosas de larga duración y cuya consecuencia es afectar la economía nacional de esos países. Duruz (6) dice que en Nicaragua en algunas áreas cafetaleras destruyó el 10% y en otras el 50% y 70%; si las pérdidas sólo hubieran sido del 10% éstas representarían más de dos millones de dólares. Mathew (10) informa que en el sur de la India (Mysore) se han estimado pérdidas de un 10% y 20% de la cosecha. Flores, Le Beau y Straube (8), en 1955, en Chocó (Guatemala), calcularon pérdidas del 15% de la producción. En Costa Rica ha aumentado la incidencia de la enfermedad, adquiriendo importancia económica, pues se encuentra presente en casi todas sus zonas cafetaleras; en los lugares en donde no se han hecho prácticas de control las pérdidas expresadas anteriormente no son sorprendentes.

En las lenguas española e inglesa se le conoce con diferentes nombres como: mal de hilachas, arañera, moho de hilachas, pellejillo, pelicularia, pudrición de la hoja, mancha negra, candelillo, koleroga, web blight, thread blight, leaf rot y black rot.

El organismo no es específico; por el contrario, ataca a gran variedad de huéspedes. Hasta el momento los estudios realizados sobre esta enfermedad en América Latina son bastante limitados, y hay necesidad de aclarar muchos conceptos fundamentales que aun no están completamente claros.

En vista de la poca investigación que se ha hecho sobre este parásito, los objetivos de este estudio son los siguientes:

1. Identificar diferentes colecciones de Pellicularias aisladas de plantas de café, cacao, frijol, crotalaria e hibiscus.
2. Estudios fisiológicos y morfológicos de los hongos aislados.
3. Estudios de temperatura, pH y luz, como posibles factores de influencia en el desarrollo de la enfermedad.
4. Evaluaciones preliminares de fungicidas en el control del Pellicularia de café.

REVISION DE LITERATURA

En el año 1876, de unas colecciones enviadas del sur de la India (Mysore), Cooke citado por Burt (3) descubrió el hongo que originalmente llamó Pellicularia koleroga. Dos años más tarde en Venezuela, Ernst, citado por Burt (3) en sus investigaciones describió el hongo como un Powdery Mildew (Erysiphe scandens). Von Höhnel mencionado por Coleman y otros (5) en 1910 cambió el nombre por Corticium koleroga y demostró que la descripción de Cooke como un hongo hyphomycete, de esporas equinuladas, globosas, hialinas y sésiles, era incorrecta. Burt (3) en 1918 informó haber encontrado especies diferentes. Britton-Jones y Baker (1) y Matsumoto y Yamamoto citados por Mathew (10), estaban de acuerdo con él. En 1927 Wolf y Bach (22) informaron que no eran suficientes las razones dadas por los autores anteriores para considerarlas como especies diferentes. Rogers (15) en 1943 consideró la necesidad de adoptar el viejo género y especie Pellicularia koleroga Cooke incluyendo en él a los géneros Hypochnus, Corticium, Peniophora y Botryobasidium y consideró sinónimos de Pellicularia koleroga a Erysiphe scandens Ernst, Hypochnus ochroleucus Noack, Hypochnopsis ochroleuca Noack, Corticium ochroleucum Burt, Corticium stevensii Burt, y Corticium koleroga v. Höhnel; además incluyó dentro del género y especie Pellicularia filamentosa (Pat) Rogers, a Hypochnus filamentosus Pat., Hypochnus solani Prill. y Del., Corticium vagum sensu Burt., Corticium vagum var. solani Burt., Corticium vagum subsp. solani (Prill. y Del.) Bourd y Goly., Corticium microsclerotia (Matz) Weber., Corticium areolatum Stahel., Oidium citri Bondar y Botryobasidium solani (Prill. y Del.). Mathew (10) en 1954 siguió la clasificación de Rogers.

Con relación a especies de café resistentes a la enfermedad, Wellman (20) informa que no ha encontrado evidencia científica que muestre claramente la existencia de algún café resistente a esta enfermedad; sin embargo, dice que no hay pruebas de que no exista tal resistencia. Mathew (10) encontró en Mysore (India) que Coffea liberica y Coffea canephora aparentemente se presentaban inmunes. Flores y otros (8) en observaciones efectuadas en Chocolá (Guatemala) encontraron que la variedad Murta presentaba un alto grado de susceptibilidad, la variedad San Ramón se mostraba poco atacada y las especies Canephora y Libérica se mostraron inmunes a la enfermedad.

En cuanto a su control Wellman (19) informa que los primeros estudios sobre el combate de la enfermedad se efectuaron en la India hace unos cincuenta años, usando el caldo bordelés.

En 1916, Fawcett (7) demostró que atomizando con caldo bordelés 4-8-50 se obtuvo buenos resultados. Coleman, Venkata Rao y Narasimhan (5) aconsejan remover las partes enfermas y aplicar caldo bordelés y resina de soda como adherente.

En 1929 Bruner (2) recomienda el mismo tratamiento aconsejado por Fawcett y dice que la extirpación completa del hongo no es factible aun con atomizaciones repetidas del fungicida. Mayne, Narasimhan y Srinivasan (12) hicieron una revisión en 1933 del control de la enfermedad por medio de atomizaciones a base de caldo bordelés.

En 1951, Bal y Thomas citados por Mathew (10) informaron sobre un control eficiente, según la severidad de la infección, con atomizaciones pre-monzones de caldo bordelés 2-2-40.

En 1955, Flores, Le Beau y Straube (8) recomendaron prácticas

culturales y la aplicación de fungicidas a base de cobre tales como:
Cupravit, Cuprocide, Perenox, Copper Compound A o caldo bordelés.

SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD

El "mal de hilachas" aparece principalmente en las hojas y demás partes tiernas de los órganos aéreos de la planta de café. Cuando el hongo alcanza a cada par de hojas, se extiende por el envés formando una película más o menos blanca; el haz se torna de color oscuro y pierde su lustre; finalmente, las hojas se secan y toman una coloración café-oscuro, permaneciendo sujetas a las bandolas por medio de micelio de color café, siendo ésta una característica muy peculiar de la enfermedad. Algunas veces las hojas atacadas presentan una apariencia polvosa, debido a la presencia de las basidiosporas. Las ramitas jóvenes y las bandolas aparecen también cubiertas por el micelio. Los frutos, principalmente los jóvenes, que son los más susceptibles, son cubiertos por el micelio y, a medida que transcurre el tiempo, se tornan necróticos y se desprenden.

Narasimhan (13) divide el transcurso de la enfermedad en dos fases: la pelicular superficial, en la que el organismo se extiende sobre la hoja sin causar daños, y la esclerotial, en la que el hongo produce esclerosios; penetra y comienzan a notarse los efectos del mismo. Mathew (10) afirma que ambas fases pueden aparecer simultánea e independientemente en diferentes hojas. Las observaciones hechas durante este estudio confirman las afirmaciones de Mathew, notándose que en ambas fases el organismo llega a penetrar y matar las hojas.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en los laboratorios y en el campo del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en Turrialba, Costa Rica. El área de Turrialba en la parte plana principal tiene una altitud de 610 mts.; una precipitación promedio anual de 2.820 mm. y una temperatura media anual de 22.7°C, medias extremas de 17.8 a 27.2°C.

Métodos de aislamiento

Se aislaron Pellicularias de 5 huéspedes diferentes: café (Coffea arabica), cacao (Theobroma cacao), frijol (Phaseolus vulgaris), crotalaria (Crotalaria anagyroides), y clavelón (Hibiscus rosa-sinensis).

Para aislar los organismos de los diferentes huéspedes se tomaron pequeños pedazos de material aun no descompuesto y se desinfectaron con bibloruro de mercurio al 1/1000 durante medio a un minuto; luego se lavaron con agua destilada y esterilizada y se sembraron en papa dextrosa agar (PDA), según la fórmula de Riker y Riker* (14). Este medio, fue acidificado después de esterilizado con una gota de ácido láctico al 25%, en cada tubo de ensayo que contenía aproximadamente 10 ml. del medio, obteniéndose un pH de 4.0 a 4.5, lo que evitó la contaminación bacteriana.

Finalmente, se cumplió con los postulados de Koch en pruebas realizadas en el campo, usando inóculos de un mismo origen.

Se hicieron transferencias cruzadas en platos de Petri con papa

*

Bacto agar	17 gms.
Papa	200 "
Dextrosa	20 "
Agua	1000 cc.

dextrosa agar de los 5 Pellicularias, usando discos de PDA en los que desarrollaban los organismos, obtenidos con un perforador de corcho No. 2 de 5 mm. de diámetro. Se colocaron 2 discos en los extremos de cada plato, en posición contraria. Se prepararon 4 repeticiones; en cada repetición todos los Pellicularias estaban representados.

Método estandar de inoculación

Para obtener un método estandar de inoculación y además comprobar si existen diferencias en el comportamiento del Pellicularia kole- roga de café, sobre plantas adultas y plantas jóvenes de 2 años de edad de la variedad Arábica (typica); se usó un diseño experimental de bloques completos al azar para cada uno de los experimentos. En cada uno de ellos se emplearon 12 tratamientos replicados 6 veces.

Para las inoculaciones se usaron en todos los casos discos extraídos de cultivos en medio papa dextrosa agar de 8 días de edad, por medio de un perforador de corcho No. 2 de 5 mm. de diámetro.

Las inoculaciones se efectuaron sobre hojas y nudos de café; se emplearon 36 hojas por tratamiento, después de inoculadas, a unas se les dobló y sujetó con prensas de madera, en el sentido del inóculo, a otras se les hizo una pequeña raspadura, tanto en el haz como en el envés, y luego se inocularon; otras se inocularon en el haz y en el envés en estado normal.

Se inocularon 18 nudos por tratamiento; a unos se les inoculó en el haz y envés colocando debajo de los inóculos tiras húmedas de papel secante que se sujetaron con prensas de ropa; otros fueron inoculados y envueltos con gasa húmeda. En otros solamente se colocó el inóculo en el haz y envés. En todas las inoculaciones se

emplearon aislamientos de un mismo origen.

Inoculaciones cruzadas

Se efectuaron inoculaciones cruzadas con los 5 Pellicularias aislados, sobre plantas de café de la variedad Bourbon de un año de edad; sobre plantas de cacao de la variedad corriente de Turrialba, procedente de semilla de un año de edad; de crotalaria de 8 meses de edad; de hibiscus, sobre estacas previamente enraizadas y ramas de plantas adultas; y de frijol de la variedad Rico de 30 días de edad. Todas las plantas, excepto las de frijol que crecieron en un propagador de cacao, se colocaron en el invernadero, sembradas en macetas de arcilla bajo cubiertas de tela de yute; se regaban 2 ó 3 veces al día para mantener condiciones altas de humedad. Para cada organismo se emplearon 4 plantas con sus respectivos testigos. Se hizo un arreglo factorial de 5 Pellicularias por 5 huéspedes en bloques al azar. Antes de ser inoculadas estas plantas se mantuvieron varios días bajo el efecto de las cubiertas para adaptarlas al medio.

Las inoculaciones se hicieron con aislamientos de un mismo origen, usando discos estandar de agar papa dextrosa en los que desarrollaban los Pellicularias. Las plantas de café se inocularon en los nudos y envés de las hojas; en los demás huéspedes se efectuaron en la base del pecíolo y envés de las hojas. Se inoculó el mismo número de hojas en un mismo tipo de huésped.

Para cada organismo se emplearon cuatro plantas con sus respectivos testigos. Los datos se tomaron después de los 6 días cuando las plantas mostraron los primeros síntomas de infección.

Influencia de diferentes fuentes de carbohidratos en el crecimiento de los Pellicularias

Se evaluó el efecto de diferentes carbohidratos en el crecimiento de los Pellicularias en medio de cultivos artificiales. Los carbohidratos empleados fueron Maltosa, Sorbitol, Lactosa, Dextrosa y Sacarosa.

A través de todo el experimento se usó, como medio basal, caseína hidrolizada, a la que se adicionó por separado cada uno de los carbohidratos, según el método de Leonian y Lilly citado por Lilly y Barnett (9), cuya composición es la siguiente:

Caseína hidrolizada	
equivalente a	2 gms.
KH_2PO_4	1 "
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$.5 "
Na_2CO_3	1.12 gms.
Fe ††† como Sulfato	.2 gms.
Zn †† como Sulfato	.2 "
Mn †† como Sulfato	.2 "
Agua destilada hasta hacer 1 litro	

La caseína hidrolizada empleada estaba exenta de vitaminas. Los carbohidratos fueron adicionados por separado al medio basal en la proporción de 25 gms. por litro. Como testigo se usó el medio basal sin carbohidratos.

Las soluciones fueron distribuidas en frascos erlenmeyers Pyrex de 125 ml. a razón de 25 ml. por recipiente; los que se inocularon con porciones de cultivos jóvenes y de un mismo aislamiento de los 5 Pellicularias desarrollados sobre papa dextrosa agar en platos de Petri. Durante el experimento, los cultivos se mantuvieron a la temperatura de laboratorio. Se tomó el pH de los medios antes y después de esterilizados por medio del potenciómetro Beckman.

A los 30 días fueron tomados los datos determinándose el crecimiento vegetativo; éste se expresó en miligramos de micelio seco. Se cosecharon seis cultivos por tratamiento que se pesaron en dos grupos de tres cada uno. Se hizo un arreglo factorial de 6 Pellicularias por medios en bloques al azar.

El micelio se separó del medio de cultivo por medio del filtrado al vacío, en papel de filtro No. 1 previamente tarado y secado a 60°C durante 24 horas.

Crecimiento de los Pellicularias en medios líquidos de extractos de plantas adultas y jóvenes de café

Con el objeto de comprobar si había diferencias en el crecimiento de los Pellicularias en extractos de plantas de café jóvenes y adultas y diferencias dentro de un mismo extracto, se cortaron en pequeñas porciones hojas y tallos de café que se sometieron a cocción durante 10 minutos. Se usaron 200 gramos del material por cada litro de agua. Se distribuyó el medio en erlenmeyers Pyrex de 125 ml. a razón de 25 cc. por frasco, los que se inocularon con porciones jóvenes de los 5 Pellicularias desarrollados sobre papa dextrosa agar en platos de Petri a la temperatura de laboratorio. Se emplearon 18 frascos para cada Pellicularia. Se tomó el pH de los medios antes y después de esterilizados.

A los 15, 30 y 45 días de incubación se tomó el peso seco del micelio en miligramos y se promedió el crecimiento en cada tiempo. Se tomaron datos de las características fisiológicas de los hongos.

Crecimiento de Pellicularia sp. de cacao y Pellicularia koleroga de café en medio líquido de plantas adultas de cacao

Se preparó un extracto de hojas y tallos de cacao obtenidos de plantas del clon U.F. 667, haciendo una cocción durante 10 minutos de 200 gramos del material en 1000 cc. de agua. El medio se distribuyó en erlenmeyers Pyrex de 250 ml. a razón de 30 cc. por frasco. Se inocularon con discos de agar papa dextrosa que contenían Pellicularias de café y de cacao; se inocularon 18 frascos con cada uno de los Pellicularias y se determinó el crecimiento en miligramos de peso seco del micelio a los 15, 30 y 45 días de incubación. Los cultivos se mantuvieron bajo las condiciones de laboratorio. Se determinó el pH del medio antes y después de esterilizado a 5 libras de presión durante 15 minutos.

Cultivos de Pellicularias en diferentes medios sólidos para tratar de obtener producción de basidios y basidiosporas

Los medios empleados para tratar de obtener las fructificaciones de los Pellicularias fueron los siguientes:

a) Infusión de suelo

suelo	100 gms.
Bacto agar (Difco)	17 "
agua	1000 cc.

b) Infusión de "All Bran"

"All Bran"	200 gms.
Bacto agar (Difco)	17 "
agua	1000 cc.

c) Infusión de paja

paja	200 gms.
Bacto agar (Difco)	17 "
agua	1000 cc.

d) Infusión de extracto de hojas
adultas de café

hojas de café	200 gms.
Bacto agar (Difco)	17 "
agua	1000 cc.

e) Infusión de extracto de hojas
adultas de cacao

hojas de cacao	200 gms.
Bacto agar (Difco)	17 "
agua	1000 cc.

La preparación de los 4 medios se efectuó por separado, en la siguiente forma: el "All Bran", la paja y las hojas de café se sometieron a cocción durante 10 minutos, luego se les agregó agua hasta completar 1000 cc. Para preparar el agar de suelo se tomaron 100 gramos de suelo de alto contenido en materia orgánica, se mezcló en agua y se mantuvo en solución durante 24 horas; se separó el líquido de la tierra decantada y se filtró; se agregó agar agua y se esterilizó en la autoclave a 20 libras de presión durante 20 minutos. En este experimento se usó la técnica empleada por Carpenter (4) en agar de tierra, modificada.

Todos los medios fueron distribuidos en botellas de leche de media pinta, a los que se dejó enfriar en posición horizontal; se inocularon con discos de 5 mm. de diámetro, de papa-dextrosa-agar en los que crecían los 5 Pellicularias. Se usó siempre inóculos de un mismo origen. Se colocaron portaobjetos esterilizados en posiciones opuestas al inóculo, para que las esporas producidas cayeran sobre ellos. Finalmente, se sometieron 4 repeticiones de los distintos medios y Pellicularias a la oscuridad completa y a la luz de laboratorio.

Inoculaciones en el laboratorio y el campo bajo condiciones de luz y oscuridad

Con el propósito de comprobar si existían diferencias en el comportamiento de inóculo joven y viejo de Pellicularia koleroga de café, sobre plantas jóvenes y adultas de café, y para comprobar si había diferencias de patogenicidad en el haz y envés de las hojas, y el efecto de la luz y oscuridad, se efectuaron inoculaciones en el laboratorio y el campo.

El primer experimento de laboratorio se realizó en platos de Petri de 90 mm. de diámetro; se les cubrió el fondo con una fina capa de algodón, a la que se agregaron 30 cc. de agua de grifo bien distribuida, luego se colocó sobre el algodón un papel de filtro de 15 cms. de diámetro. En el segundo experimento de plantas de café jóvenes y adultas de la variedad arábica típica se cortaron hojas en pares, distribuyendo uno en cada plato; se colocaron unos pares con el haz y otros con el envés hacia arriba. Las hojas fueron inoculadas en la parte inferior con discos de papa dextrosa agar que contenían al organismo. Se usaron 6 repeticiones por tratamiento; hojas sin inóculo sirvieron de testigo. La mitad de los platos con sus respectivos testigos fueron sometidos a oscuridad completa y la otra mitad se dejó a la luz del laboratorio, después de inoculadas las hojas.

En igual forma se efectuaron inoculaciones en el campo sobre plantas adultas y jóvenes de café de la misma variedad. En ambos experimentos se emplearon inóculos de un mismo origen.

Crecimiento de Pellicularia koleroga de café a diferentes temperaturas

Con el objeto de determinar posibles diferencias en el crecimiento

del Pellicularia de café a diferentes temperaturas se efectuó un experimento usando como medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Los cultivos se preparon en platos de Petri, utilizando como inóculo estandar porciones circulares extraídas de cultivos de 8 días de edad. Las temperaturas empleadas fueron de 23 a 25°C (temperatura de laboratorio) 28°C y 32°C. Se tomaron medidas del crecimiento diametral cada 24 horas de 6 repeticiones por tratamiento y se promediaron.

Efecto del pH sobre el crecimiento del Pellicularia koleroga de café

Para determinar el efecto del pH sobre el crecimiento de Pellicularia de café, se empleó como medio papa-dextrosa agar con los siguientes grados de acidez: pH.4.5, 5.5, 6.5, 7.0 y 7.5. Se utilizó Hcl para acidificar y NaOH como alcalinizante. Los cultivos se hicieron en platos de Petri, utilizando como inóculo discos tomados de cultivos de 8 días de edad; se mantuvieron a la temperatura ambiente. Se tomó el crecimiento diametral cada 24 horas de 6 repeticiones por tratamiento y se promediaron.

Evaluación en el laboratorio de fungicidas y adherentes para el control de Pellicularia koleroga de café

Para evaluar el poder fungicida en el laboratorio se sometió el Pellicularia koleroga de café en soluciones acuosas de los siguientes fungicidas y adherentes:

Fungicidas:

1. Copper A (Tetra-oxicloruro de cobre y calcio)
2. Cupravit (Oxicloruro de cobre al 85%)
3. Fermate (Dimetil-ditiocarbamato férrico)
4. Orthocide 75 (Derivado de ftalimidas)
5. Crag 658 (Cromatos de cobre y zinc)
6. Caldo bordelés 3-3-50
7. Testigo

Todos se emplearon en la concentración de 3 libras en 100 galones de agua.

Adherentes:

1. V.L. 600
2. Peps (Polisulfuro polietilénico)
3. Triton (Eter polietilénico-glicol-monoiso-octil-tolil)
4. Dupont Spreader Sticker (Mezcla de sulfato de cobre y ésteres de alcohol)
5. X.750 (750 x 102)

6. Testigo

Todos se emplearon en la proporción de una pinta en 100 galones de agua.

Discos de 5 mm. de diámetro de papa-dextrosa agar que contenían al hongo con 6 días de incubación, se sumergieron en las soluciones de fungicidas y separados de adherentes durante 10, 20, 40 y 60 minutos, luego fueron lavados con agua destilada esterilizada y transferidos a platos de Petri que contenían papa dextrosa agar.

En cada colonia se tomó el incremento cada 24 horas del crecimiento diametral, y se promediaron 6 repeticiones de cada tratamiento. Estos experimentos fueron repetidos 2 veces. En igual forma se realizó otro experimento, excepto que los cilindros tratados no fueron enjuagados con agua destilada y esterilizada.

Para evaluar los fungicidas y adherentes a las concentraciones antes citadas, en el control del mismo organismo sobre hojas de café, se cortaron pares de éstas, de plantas adultas de la variedad Arabica typica, y se atomizaron por separado con los fungicidas y adherentes; luego se dejaron secar y se colocaron en platos de Petri preparados con algodón, papel de filtro y agua de grifo. En cada plato se pusieron 2 hojas, usando 4 platos por tratamiento. Los resultados se

interpretaron de acuerdo al número de hojas promedio infectadas. Cada hoja fue inoculada con discos de agar-papa dextrosa que contenían al hongo de 6 días de edad. En todos los experimentos se usaron inóculos de un mismo origen.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Aislamientos de organismos

Al aislar e inocular los Pellicularias en cada uno de sus huéspedes, se produjeron los síntomas característicos de la enfermedad. Las Figs. 1, 2, 3, 4, y 5 muestran la sintomatología producida por los Pellicularias en los diferentes huéspedes.

Exámenes microscópicos de los organismos comparados con el Pellicularia de café comprobaron diferencias en el grueso de las hifas, mostrando mayor grosor las de frijol y crotalaria que fueron idénticas, siguiéndoles las de cacao y por último las de hibiscus, que se presentaban más finas (Figs. 6, 7, 8, 9 y 10)

Mathew (10) informa que algunos autores han tenido dificultades al tratar de aislar el organismo del material infectado que contenía micelio vegetativo y esclerosios, y que él siempre fracasó en los aislamientos del organismo del mismo material, a pesar de usar diferentes medios y desinfectantes; él obtuvo éxito al aislar el organismo de basidiosporas, purificando los cultivos al cortar las puntas hifales y transferirlas a medio de cultivo; en estos estudios el autor no tuvo dificultad al aislar los Pellicularias de los diferentes huéspedes por el procedimiento citado en el párrafo de Materiales y Métodos. Las Figs. 11, 12, 13, 14 y 15 muestran por separado el desarrollo de los 5 Pellicularias en PDA al cuarto día de efectuadas las transferencias.

En las transferencias cruzadas de los Pellicularias en platos con PDA, se observaron diferencias claras en el crecimiento, grosor y color de las colonias. Cuando se hicieron crecer inóculos de una



Fig. 1. Bandola de café atacada por Pellicularia koleroa; mostrando diferentes fases de la enfermedad sobre las hojas. Nótese la diferencia en el grueso de las hifas, con respecto a la Figura No. 2.



Fig. 2. Hojas de cacao mostrando ataque por Pellicularia sp. de cacao.



Fig. 3. Rama de frijol, atacada por Pellicularia filamentosa (?) de frijol.

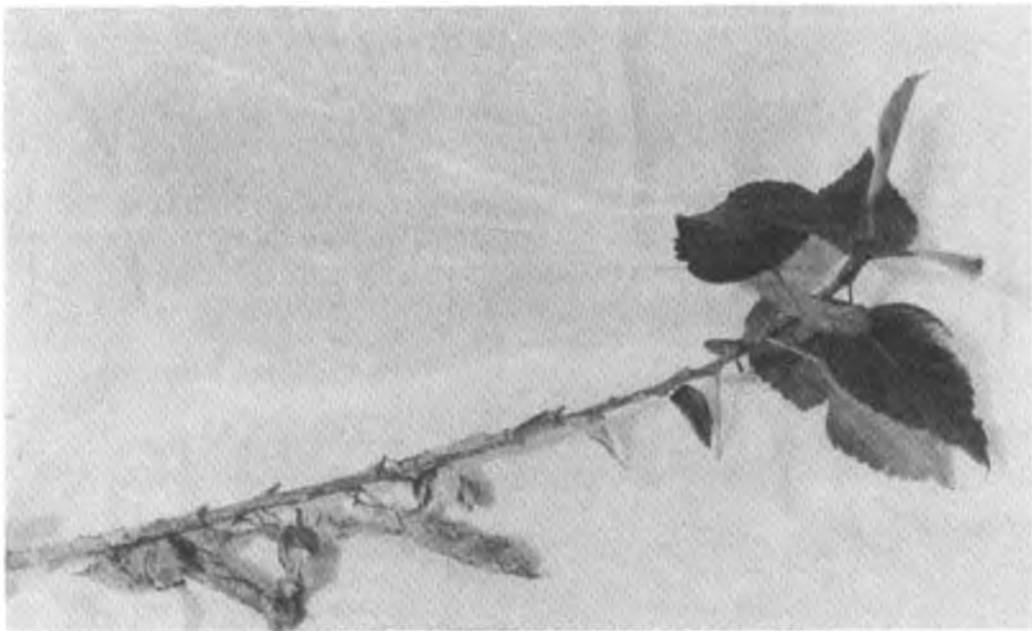


Fig. 4. Rama de hibiscus, la cual muestra infección de Pellicularia sp. de hibiscus.



Fig. 5. Planta de crotalaria mostrando un fuerte ataque de Pellicularia sp. de crotalaria.

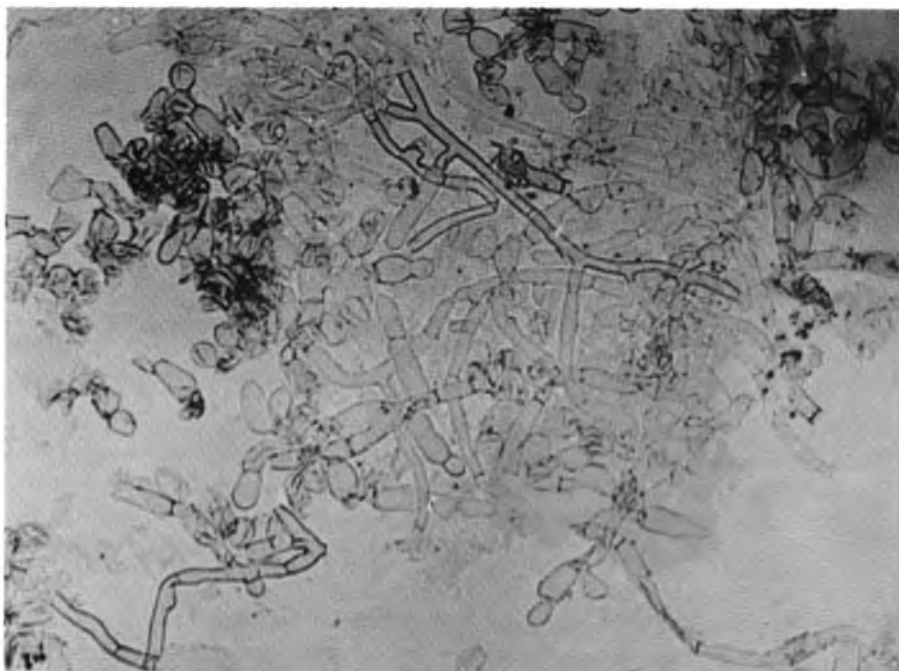


Fig. 6. Micelio de Pellicularia koleroga aislado de planta de café, desarrollado en PDA. Pueden observarse sus ramificaciones de crecimiento Rhizoctonia y formación de algunos basidios.



Fig. 7. Micelio de Pellicularia sp. aislado de planta de cacao, desarrollado en PDA. Nótese la formación en el centro de basidios. (Microfotografía)

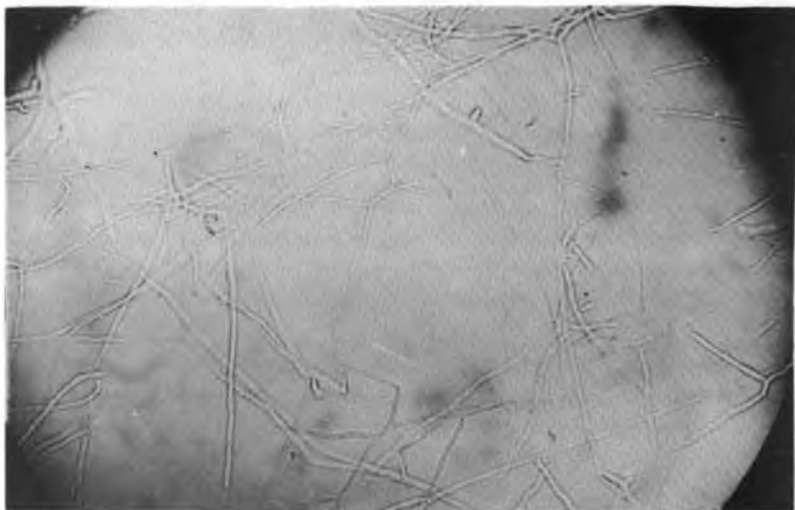


Fig. 8. Hifas de Pellicularia sp. aislado de planta de hibiscus, mostrando la anastomosis corriente. Nótese el micelio más fino comparado con el de los otros Pellicularias. (Microfotografía 200 X).

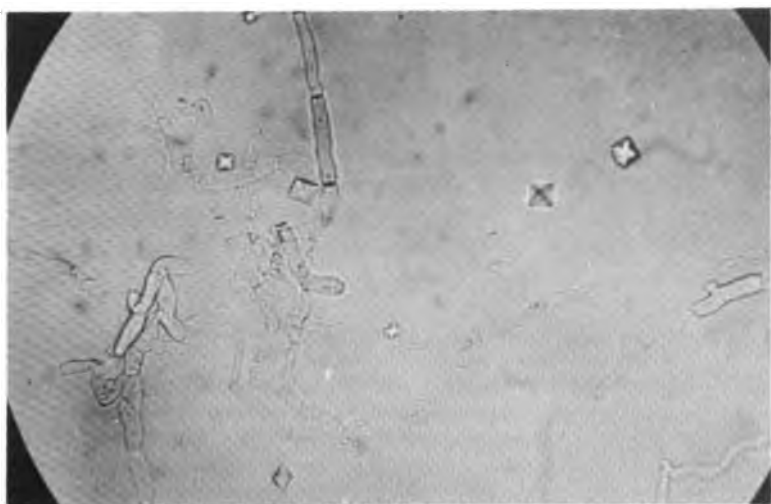


Fig.9. Micelio de Pellicularia filamentosa (?) aislado de planta de frijol, desarrollado en PDA. mostrando gruesos micelios. Obsérvese la presencia de cristales de oxalato de calcio.

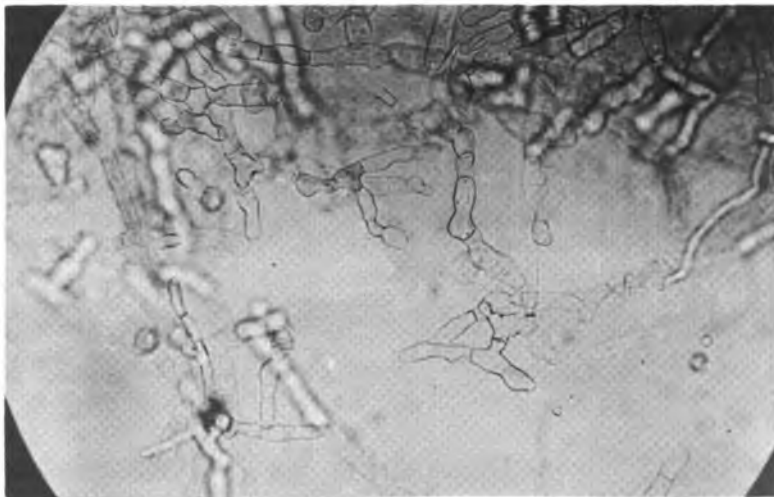


Fig. 10 Micelio de Pellicularia filamentosa (?) aislado de planta de crotalaria, desarrollado en PDA, mostrando micelios gruesos idénticos a los del Pellicularia aislado de plantas de

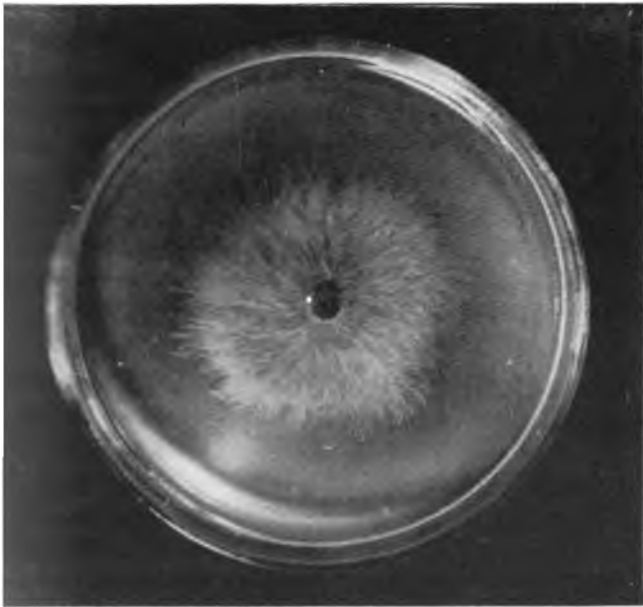


Fig. 11. Colonia de Pellicularia koleroga, aislada de planta de café, a los cuatro días de incubación. Desarrollo en papa dextrosa agar (PDA)

Fig. 12. Colonia de Pellicularia sp. aislado de planta de cacao a los cuatro días de incubación, crecimiento en PDA.

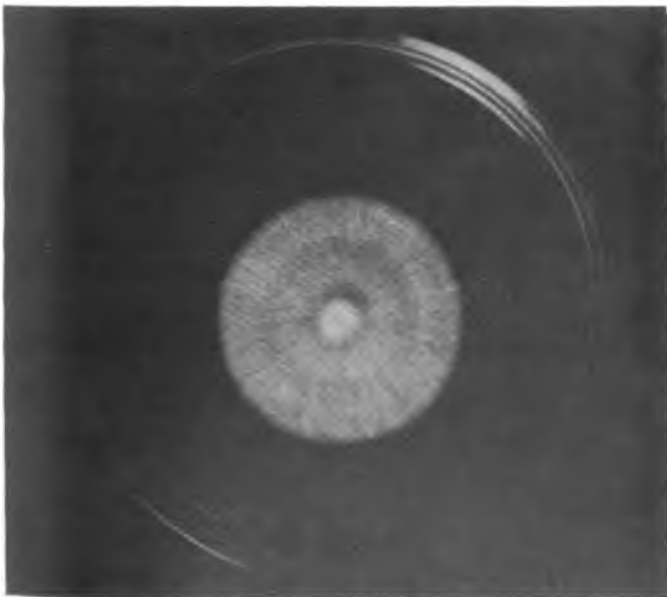
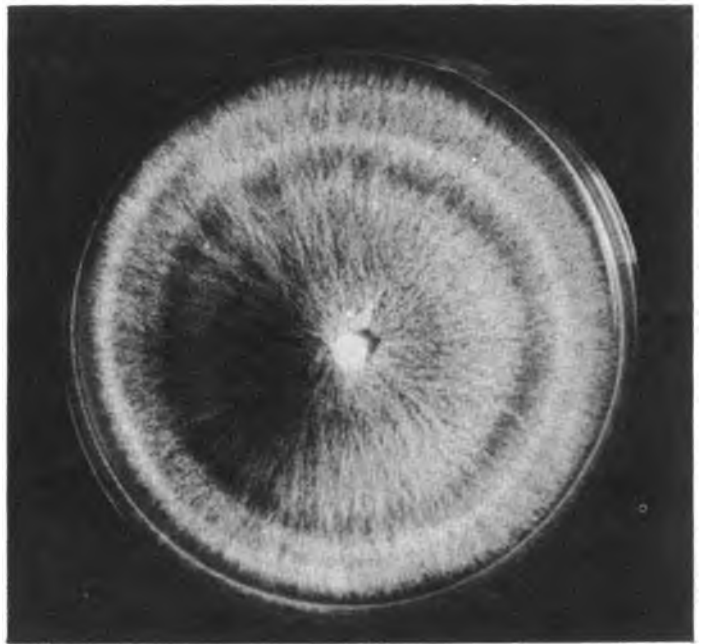


Fig. 13. Cultivo de Pellicularia sp. aislado de planta de hibiscus; a los cuatro días de incubación, desarrollo en PDA.

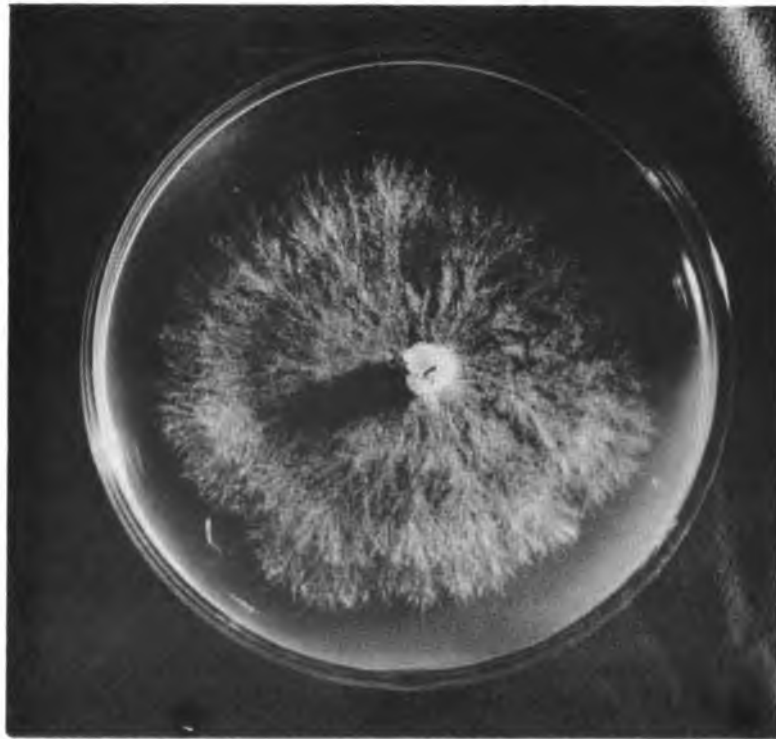


Fig. 14. Cultivo de Pellicularia filamentosa (?) aislado de planta de frijol a los cuatro días de incubación; crecimiento en PDA.

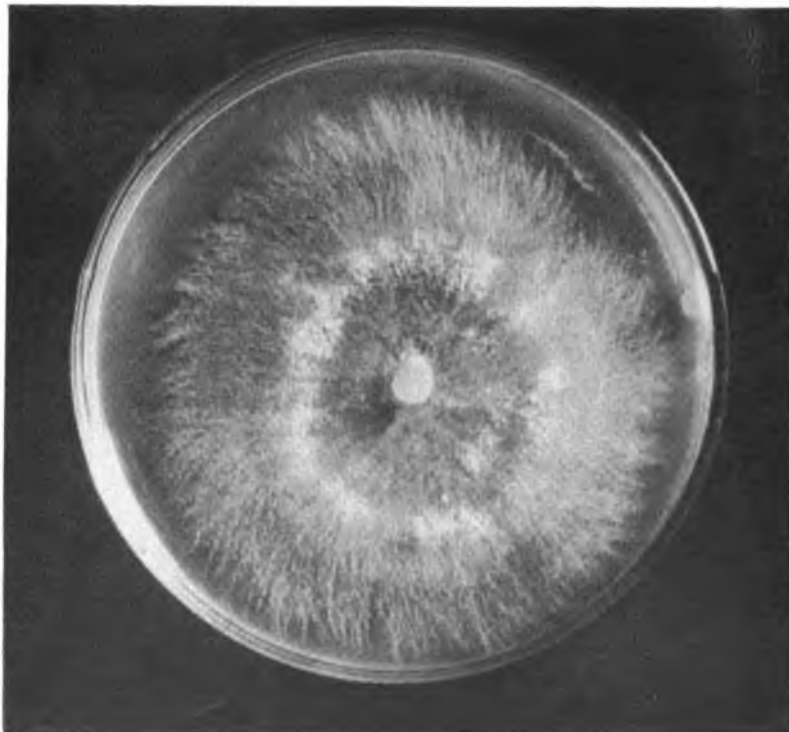


Fig.15. Colonia de Pellicularia filamentosa (?) aislada de planta de crotalaria, a los cuatro días de incubación; desarrollo en PDA.

misma cepa y en un mismo plato, no hubo diferencias en el color, grosor y crecimiento del micelio, uniéndose simétricamente en el centro.

La Fig. 16 muestra las diferencias observadas entre las Pellicularias de café y cacao.

Al hacer los primeros aislamientos del Pellicularia de café se observó tanto en las hojas infectadas como en el medio de cultivo (PDA) la presencia de cristales que fueron identificados por el Dr. E. De Girolami* como cristales de oxalato de calcio; más tarde se observaron en otros medios de cultivo. Estuvieron además presentes en aislamientos de los otros Pellicularias, en diferentes medios de cultivo. La Fig. 9 muestra la presencia de cristales de oxalato de calcio en asocio de Pellicularia de frijol.

Mathew (10) informa sobre la presencia de estos cristales asociados con los tejidos podridos, sugiriendo que el hongo produce ciertas secreciones en exceso, el cual se convierte en cristales insolubles, los cuales, ya sea por su acción tóxica o porque sólo provean un pH apropiado para aumentar la habilidad infecciosa del parásito, ayudan al hongo a penetrar los tejidos.

En plantas de hibiscus infectadas por Pellicularia sp. se observó en tres ocasiones que el hongo parasitaba a chapulines que fueron muertos por él y que fueron identificados por el Ing. L. A. Salas** como Idiarthron sp. (posiblemente atriscinum Stal.) que ataca a las plantas de café; el hongo desarrolló sobre las patas, entre el tórax y el abdomen y sobre la cabeza, sujetándolos a los tallos y

* De Girolami, E. Profesor de Histología de la Universidad de Costa Rica.

** Salas, L. A. Profesor de Entomología de la Universidad de Costa Rica.

hojas (Fig. 17). Cerca de los hibiscus crecían plantas de café.

Efecto de las inoculaciones

En los experimentos realizados sobre plantas adultas y jóvenes de café, para obtener un método estandar de inoculación, los análisis de variación según se observa en los Cuadros 1 y 2, indican que los tratamientos fueron significativos tanto para plantas adultas como para plantas jóvenes. Además, los errores experimentales para plantas adultas y jóvenes son casi iguales. Hay concordancia entre la posición relativa que ocupan los promedios en plantas jóvenes y en plantas adultas (Cuadro 3).

Los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos efectuados en el envés de los nudos con papel secante húmedo y en el envés de los nudos con gasa húmeda; no hubo diferencia significativa entre estos, pero se usó el primero por ser más sencillo. La infección en el envés de las hojas tanto con prensas como sin ellas, fue bastante alta.

Además, estos experimentos demuestran que el comportamiento del organismo fue igual sobre plantas de café adultas y jóvenes.

Cuadro No. 1. Análisis de variancia para el método estandar de inoculación sobre plantas adultas de café.

Fuente de variancia	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F
Repeticiones	5	1.57		
Tratamientos	11	67.15	6.10	6.35 *
Error	55	52.93	0.96	
Total	71	121.65		

* Significativo al 5%



Fig. 16. El primer plato muestra igualdad de crecimientos correspondiente a las transferencias de una misma cepa (Pellicularia koleroga de café) de coloración oscura y micelio más grueso, que difiere del plato del centro con cultivo de Pellicularia sp. de cacao cuyo micelio es más fino y de coloración más clara, uniéndose como en el primero simétricamente en el centro. El plato de la derecha muestra desigualdad de crecimiento de las colonias de Pellicularia sp. de cacao y Pellicularia koleroga de café.



Fig. 17. Chapulín, Idiarthron sp. (posiblemente atrispinum Stal), muerto sobre rama de hibiscus por el hongo Pellicularia sp. (de hibiscus). Obsérvese en el insecto al hongo emergiendo entre el tórax y el abdomen, parasitando sobre la cabeza y las piernas, entre el fémur y la tibia.

Cuadro No. 2. Análisis de variancia para el método estandar de inoculación sobre plantas jóvenes de café.

Fuente de variancia	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F
Repeticiones	5	0.33		
Tratamientos	11	85.50	7.77	8.01**
Error	55	53.67	0.97	
Total	71	139.50		

** Significativo al 1%

Cuadro No. 3. Totales y promedios del número de hojas infectadas por tratamiento de plantas de café adultas y jóvenes

Tratamientos	Total		Promedio		
	adul- tas	jóve- nes	adul- tas	jóve- nes	
Hojas con el haz con prensas	1	19	15	3.16	2.50
Hojas con el envés con prensas	2	29	31	4.83	5.16
Hojas con el haz sin prensas	3	20	19	3.33	3.16
Hojas en el envés sin prensas	4	29	30	4.83	5.00
Hojas en el haz con raspadura	5	18	15	3.00	2.50
Hojas en el envés con raspadura	6	30	28	5.00	4.66
Nudos en el envés con papel secante	7	35	34	5.83	5.66
Nudos en el haz con papel secante	8	21	25	3.50	4.16
Nudos en el envés sin papel secante	9	32	31	5.33	5.16
Nudos en el haz sin papel secante	10	29	29	4.83	4.83
Nudos con gasa en el envés	11	34	35	5.66	5.83
Nudos con gasa en el haz	12	23	26	3.83	4.33

D.M.S. al nivel del 5%: 1.16 para promedios de tratamientos de plantas adultas.

D.M.S. al nivel del 5%: 1.16 para promedios de tratamientos de plantas jóvenes.

Inoculaciones cruzadas

Al interpretar estadísticamente los resultados de las inoculaciones cruzadas sobre el número de hojas infectadas, el análisis de variancia

indica que hubo significación para los cuadrados medios de huéspedes, Pellicularias y la interacción huéspedes-Pellicularias (Cuadro No. 4), demostrando que el efecto de las Pellicularias no fue el mismo para todos los huéspedes. El Cuadro No. 5 muestra los totales de hojas infectadas, para todos los tratamientos. Se observó el desarrollo y el inicio de algunas infecciones al quinto día de inoculados los organismos en el envés y base del peciolo de las hojas. Entre los 15 y 20 días se observaron claros los efectos patogénicos progresivos de los Pellicularias sobre los huéspedes infectados.

Cuadro No. 4. Análisis de variancia para las inoculaciones cruzadas.

Fuente de variancia	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F
Repeticiones	3	8.19		
Huéspedes	4	797.06	199.26	72.19**
Pellicularias	4	100.96	25.24	9.14**
Huéspedes x Pellicularias	16	178.94	11.18	4.05**
Error	72	198.56	2.76	
Total	99	1283.71		

** Significativo al 1%

Cuadro No. 5. Total de hojas infectadas de 5 Pellicularias en 5 huéspedes.

Huéspedes	Aislamientos de <u>Pellicularias</u>					Total
	café	cacao	hibiscus	frijol	crotalaria	
Café	16	12	8	0	0	36
Cacao	24	19	17	7	10	77
Hibiscus	13	17	14	8	13	65
Frijol	19	26	14	17	18	94
Crotalaria	30	56	26	42	47	201
Total	102	130	79	74	88	473

D.M.S. al nivel del 5%: 21.46 para totales de huéspedes y Pellicularias, de tratamientos principales.

D.M.S. al nivel del 5%: 9.60 para la interacción.

El Pellicularia de café causó daño a todos los huéspedes, y fue el más patógeno de todos los Pellicularias, a las plantas de café y cacao tomando el segundo lugar en cuanto al ataque a todas las plantas en general.

El Pellicularia de cacao infectó a todas las plantas inoculadas y fue el más patógeno de los Pellicularias a las plantas de frijol y crotalaria; en general, fue el que infectó el mayor número de hojas, tomando el primer lugar. Los Pellicularias de hibiscus, frijol y crotalaria no presentaron diferencias significativas en el total del número de hojas atacadas. Sin embargo, el Pellicularia de hibiscus fue patógeno a todos los huéspedes, no presentando estos mismos efectos los de frijol y crotalaria que no infectaron a las

plantas de café.

Es interesante el efecto producido por todos los Pellicularias sobre las plantas de cacao, cuando se inoculó la base del pecíolo de las hojas; sin llegar el organismo a la lámina foliar se produjo una clorosis progresiva en las hojas, desprendiéndose más tarde de las plantas. Exámenes microscópicos comprobaron la presencia de los organismos inoculados. Se observó en las plantas de cacao que algunos de los inóculos, junto con las lesiones producidas por éstos, fueron devorados por insectos que no se identificaron.

Los síntomas presentados al iniciarse el ataque del Pellicularia de café fueron los siguientes: las hojas mostraban lesiones necróticas irregulares de color café oscuro, casi negro; algunas bien distantes del inóculo, en forma similar, se presentaban las hojas de café inoculadas con este Pellicularia.

Las inoculadas con Pellicularia de cacao, presentaban lesiones necróticas menos irregulares y en todos los casos se produjeron debajo del inóculo, arrugándose las hojas alrededor de las lesiones y formando una aureola amarillo-rojiza. Las plantas de café inoculadas con Pellicularia de cacao, presentaban síntomas similares y mostraban alrededor de las lesiones el arrugado y decoloración menos marcados.

El Pellicularia de hibiscus produjo sobre las hojas de café manchas necróticas irregulares de color café claro y sobre las de cacao, lesiones necróticas más grandes y de un color similar a las anteriores.

Todas las Pellicularias produjeron síntomas similares sobre

las plantas de crotalaria y desde antes de ser infectadas las hojas mostraban una inclinación hacia abajo, muy característica.

Algunas plantas de frijol, mostraban lesiones necróticas en los tallos producidas por los Pellicularias de frijol, hibiscus y crotalaria doblándose varias de ellas en el punto de infección. En general todos los Pellicularias inoculados produjeron síntomas similares en estas plantas. La Fig. 18 muestra el ataque de Pellicularia de café y cacao en plantas de café a los 25 días de inoculadas y una sana (sin inocular) bajo condiciones altas de humedad.

Al inocular algunos frutos de cacao de diferentes edades en el laboratorio, y colocados en cámaras húmedas, con Pellicularia sp. de cacao, se observó la formación de áreas necróticas debajo del inóculo, que progresivamente aumentaron de tamaño; en el campo no se observó infección de éstos.

Efecto de diferentes fuentes de carbohidratos

Este experimento se realizó con el propósito de investigar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre el crecimiento de los 5 Pellicularias.

El análisis de variancia (Cuadro No. 6) muestra que hubo significancia para Pellicularias, medios, y la interacción medios-Pellicularias, lo que indica que los Pellicularias no se comportaron igual en todos los medios. Al ser significativa la interacción, pierde importancia la significación de Pellicularias y medios.

Los resultados obtenidos (Cuadro No. 7) indican que la lactosa fue el mejor carbohidrato para el desarrollo del micelio del Pellicularia de café, mostrando significancia este medio sobre todos



Fig. 18. Plantas de almácigo de un año de edad de la variedad Bourbon; la primera inoculada con Pellicularia sp. de cacao; la segunda sin inocular y la tercera inoculada con Pellicularia koleroga de café.



los demás. Creció bien en maltosa y sacarosa y menos en sorbitol y dextrosa. En ausencia de carbohidrato hubo un crecimiento muy pobre.

El sorbitol fue la mejor fuente de carbohidrato para el desarrollo del micelio del Pellicularia de cacao; hubo significancia de éste sobre los demás carbohidratos, tomando el segundo lugar la lactosa, y en orden decreciente, la dextrosa, sacarosa y maltosa. En el medio basal, sin adición de carbohidratos, el crecimiento fue poco; sin embargo, este hongo fue el que más creció en el medio basal.

Los carbohidratos con los que se obtuvieron los mayores pesos de Pellicularia de frijol, fueron: lactosa, y sorbitol; no hubo significancia entre estos carbohidratos. Tomaron el segundo lugar: maltosa, sacarosa y dextrosa; no hubo diferencia significativa entre ellas. En el medio sin carbohidrato creció muy poco.

Los pesos más altos del Pellicularia de crotalaria se obtuvieron con los mismos carbohidratos que para el de frijol (lactosa y sorbitol); no hubo significancia entre ellos. La sacarosa estuvo en segundo lugar, luego maltosa y dextrosa y en el medio sin carbohidrato el crecimiento fue similar al Pellicularia de frijol, es decir, creció muy poco.

La maltosa fue el mejor carbohidrato para el desarrollo del micelio de Pellicularia de hibiscus. La sacarosa, el sorbitol y lactosa fueron fuentes satisfactorias de carbohidrato, no mostrando diferencias significativas entre ellas: la dextrosa estuvo en el último lugar; sin embargo, comparada con el medio sin adición de carbohidrato, la significancia es grande.

En general la lactosa fue el carbohidrato en el que crecieron

más los Pellicularias, siguiéndole en orden descendente el sorbitol, la sacarosa, maltosa, dextrosa y por último el medio libre de carbohidratos, en el que desarrollaron muy poco.

El Pellicularia de cacao en general fue el que más desarrolló en los distintos medios, siguiendo en orden decreciente el Pellicularia de hibiscus, crotalaria, frijol y café.

De acuerdo con los resultados obtenidos se infiere que los carbohidratos son necesarios para el desarrollo de los 5 Pellicularias. Las Figs. 19, 20, 21, 22 y 23 muestran el crecimiento de los 5 Pellicularias en los diferentes carbohidratos.

En un medio de cultivo preparado con musgo (Musci sp.) colectado de plantas de café, al que se agregó agua de grifo y esterilizó, el Pellicularia de café tuvo buen desarrollo. En el campo en algunas ocasiones se observó la presencia del organismo en el musgo.

Cuadro No. 6. Análisis de variancia para el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos.

Fuentes de Variancia	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F
Repeticiones	1	1316.96		
Pellicularias	4	1704270.02	426067.5	144.44**
Medios	5	2649984.29	529996.86	179.67**
Pellicularias x medios	20	1816536.00	90826.80	30.79**
Error	29	85546.05	2949.86	
Total	59	6257653.32		

** Significativo al 1%



Fig. 19. Crecimiento de *Pellicularia* sp. de hibiscus en el medio líquido basal carbohidratos-caseína hidrolizada sin vitaminas. T 1) sin carbohidratos, So 1) sorbitol, D 1) dextrosa, Sr 1) sacarosa, L 1) lactosa, M 1) maltosa.

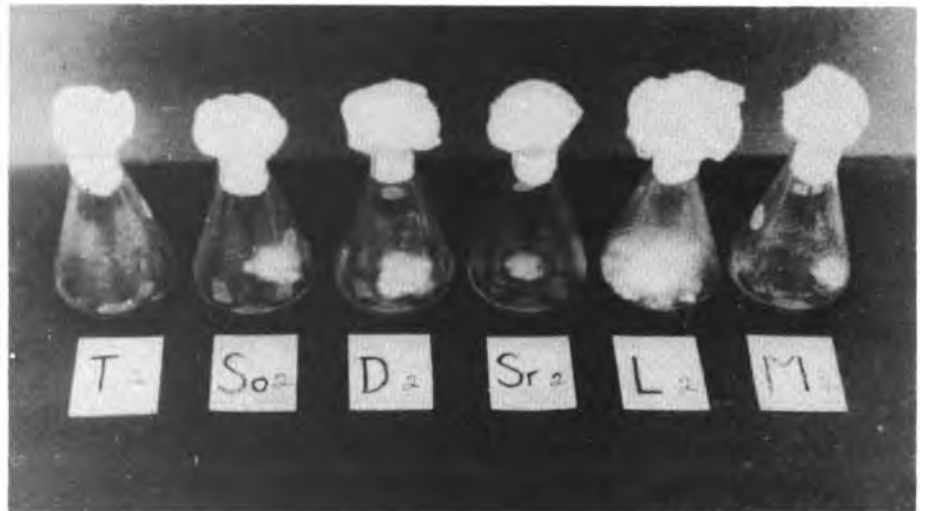


Fig. 20. Crecimiento de *Pellicularia koleroga* de café en el medio líquido basal carbohidratos-caseína hidrolizada sin vitaminas. T 2) sin carbohidratos, So 2) sorbitol, D 2) dextrosa, SR 2) sacarosa, L 2) lactosa, M 2) maltosa.

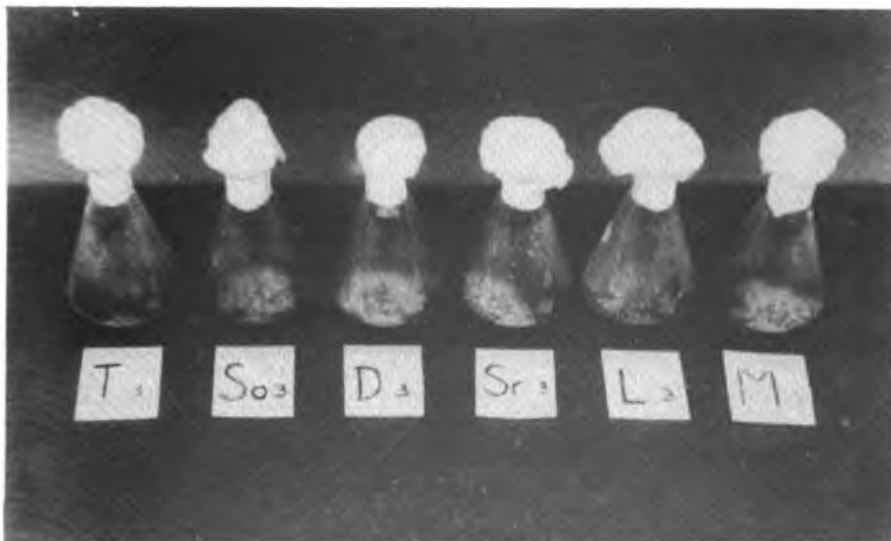


Fig. 21. Crecimiento de *Pellicularia filamentosa* (?) de frijol en el medio líquido basal carbohidratos-caseína hidrolizada sin vitaminas. T 3) sin carbohidratos, So 3) sorbitol, D 3) dextrosa, Sr 3) sacarosa, L 3) lactosa, M 3) maltosa.

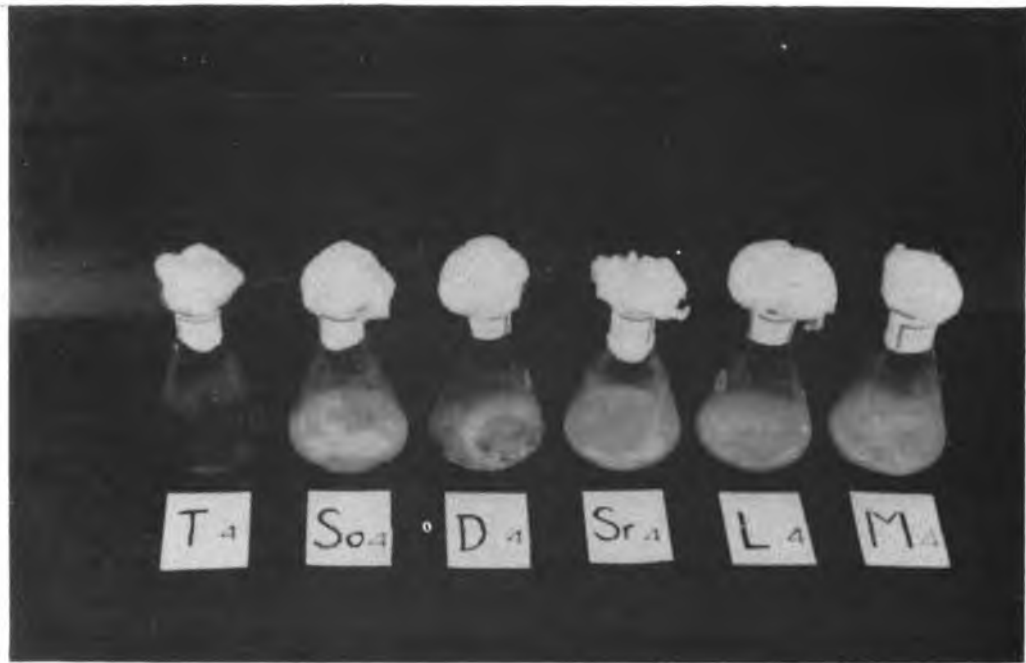


Fig. 22. Crecimiento de Pellicularia sp. de cacao en el medio líquido basal carbohidratos caseína hidrolizada sin vitaminas. T 4) sin carbohidratos, So 4) sorbitol, D 4) dextrosa, Sr 4) sacarosa, L 4) lactosa, M 4) maltosa.

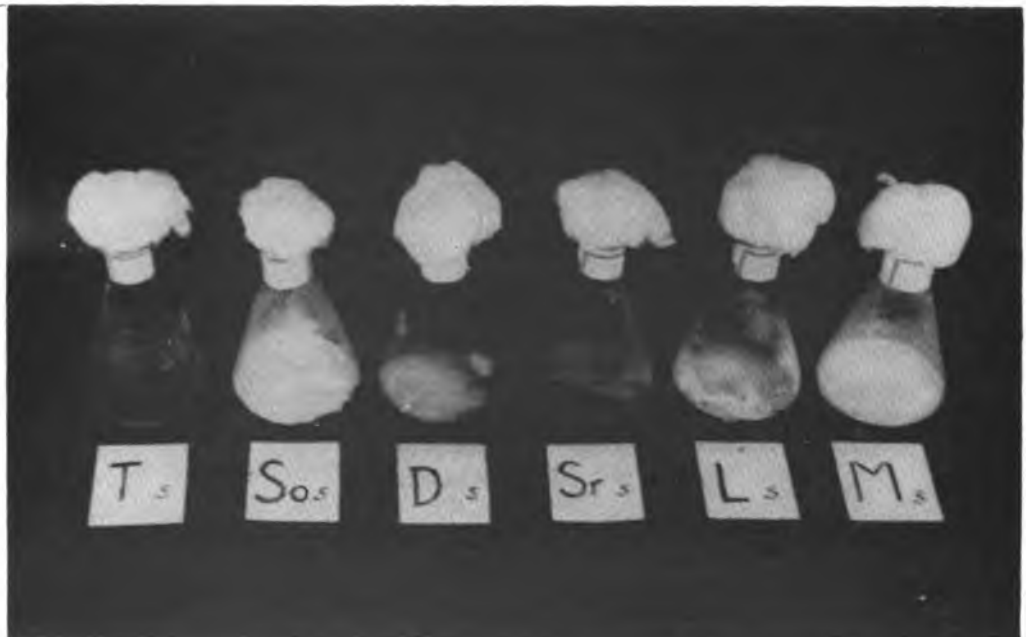


Fig. 23. Crecimiento de Pellicularia filamentosa (?) de croto laria en el medio líquido basal carbohidratos-caseína hidrolizada sin vitaminas. T 5) sin carbohidratos, So 5) sorbitol, D 5) dextrosa, Sr 5) sacarosa, L 5) lactosa, M 5) maltosa.

Cuadro No. 7. Pesos secos promedio de micelio en miligramos de los 5 Pellicularias en 6 medios.

Medios	P. café	P. cacao	P. frijol	P. crota- laria	P. hibis- cus	Total
Maltosa	603.9	676.8	1037.9	901.6	1720.0	4940.2
Testigo	152.6	300.9	365.8	206.2	228.8	1154.3
Sorbitol	324.1	2799.3	1064.8	1183.7	1448.3	6820.2
Lactosa	1304.8	2522.4	1082.2	1523.3	1479.5	7912.2
Dextrosa	271.1	1718.6	872.8	866.3	1188.2	4917.0
Sacarosa	426.3	975.1	942.2	1140.0	1524.0	5007.6
Total	3082.8	8993.1	5265.7	5821.1	7588.8	30751.5

D.M.S. al nivel del 5%: 544.13 para comparar los totales de Pellicularias.

D.M.S. al nivel del 5%: 496.73 para comparar los totales de medios de cultivo.

D.M.S. al nivel del 5%: 222.13 para comparar el desarrollo de Pellicularias en un mismo o diferentes medios de cultivo.

Efecto de extractos de plantas de café y cacao

En el experimento de crecimiento de los Pellicularias en medio líquido de extracto de plantas adultas y jóvenes de café, no hubo diferencias entre los medios ya que el crecimiento de los Pellicularias fue similar. Las Figs. 24 y 25 muestran los valores obtenidos del peso seco promedio de 6 cultivos expresados en miligramos a los 15, 30 y 45 días de incubación. Se comprobaron diferencias entre los Pellicularias en un mismo medio. El Pellicularia de cacao fue el que más desarrolló,

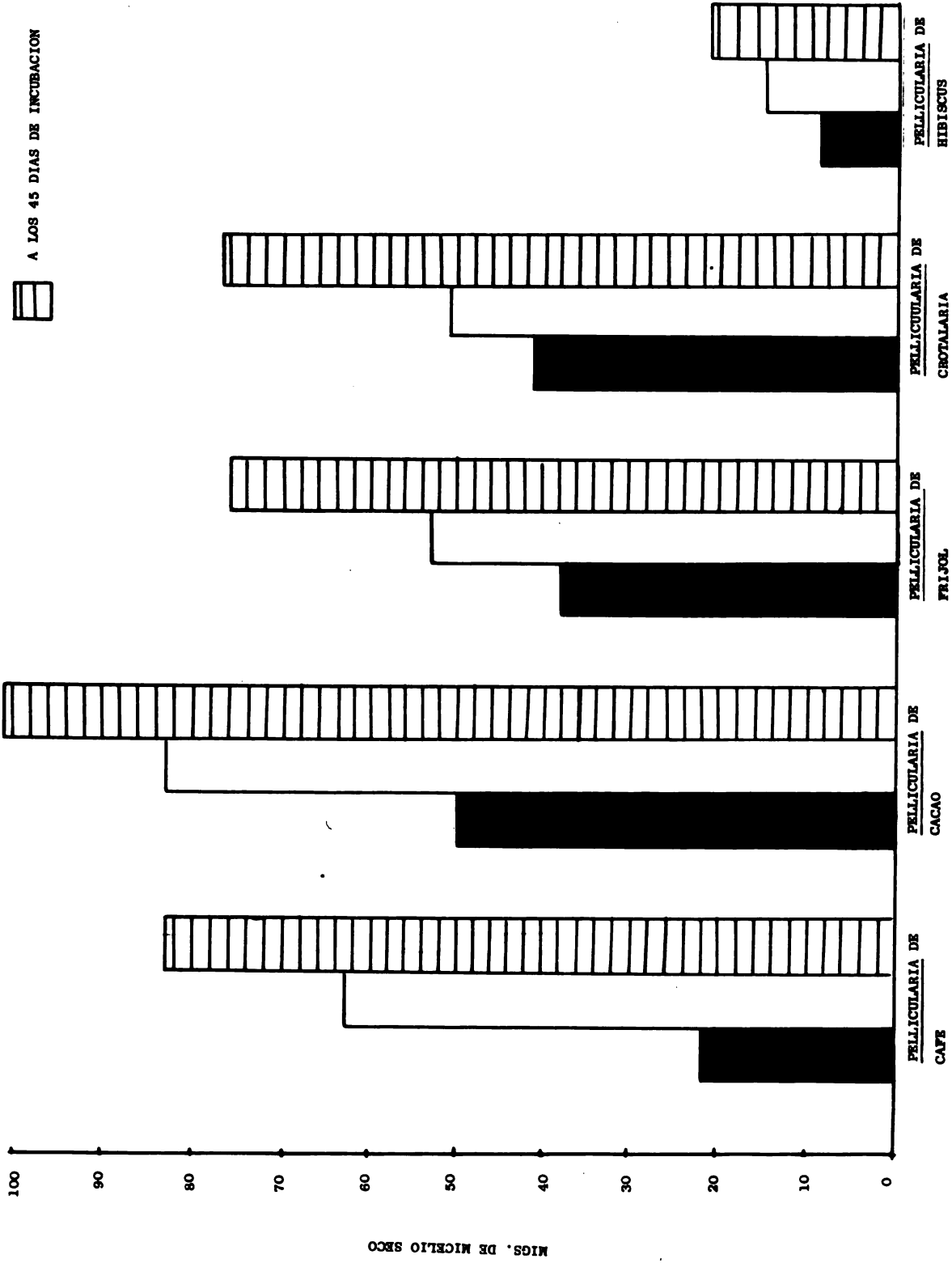
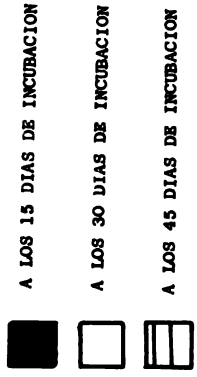


Fig. 24. Pesos de micelio seco de 6 cultivos de 5 Pellicularias, a los 15, 30 y 45 días de incubación, desarrollados en plantas adultas de café.

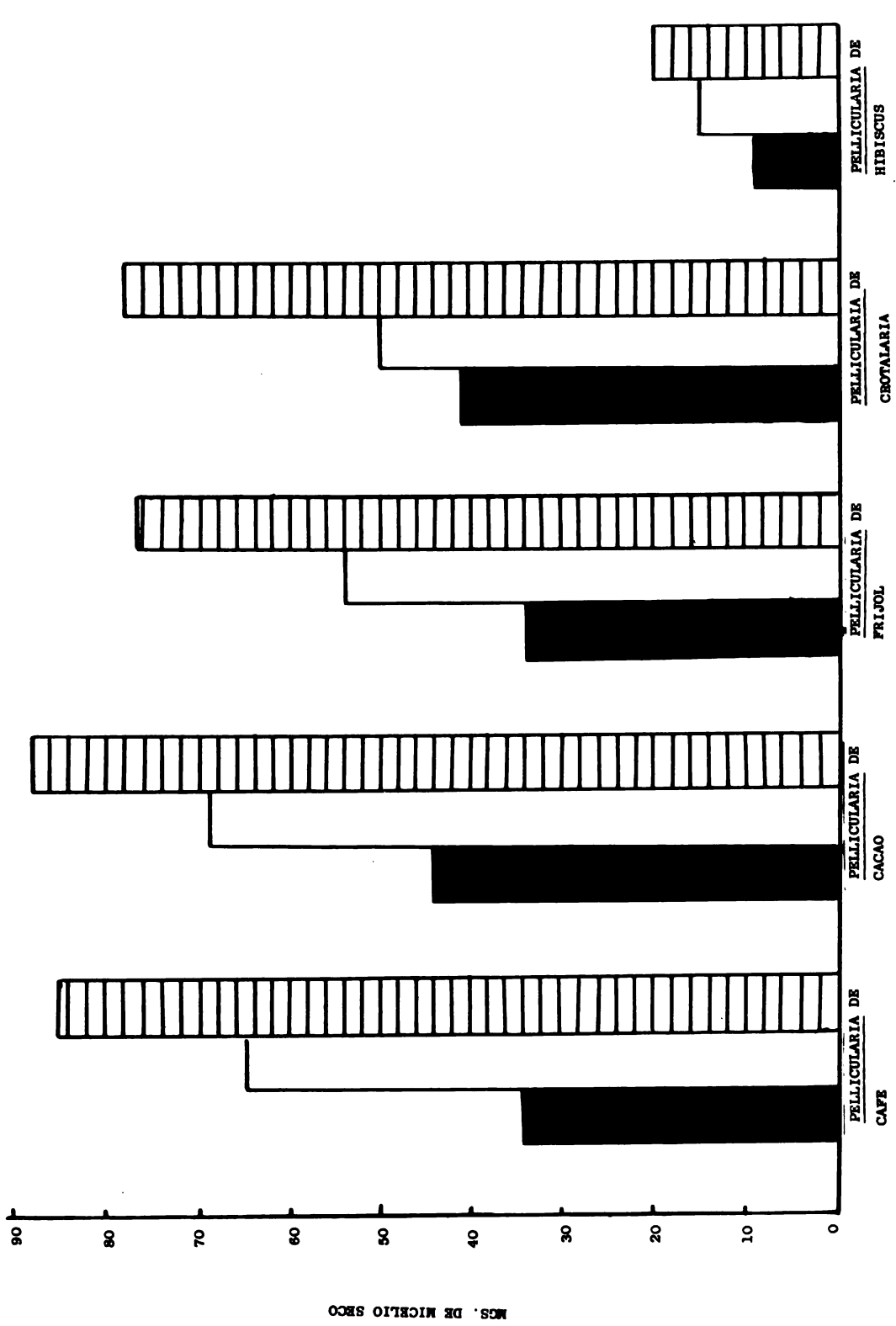


Fig. 25. Pesos de micelio seco de 6 cultivos de 5 *Pellicularias*, a los 15, 30, y 45 días de incubación, desarrollados en extracto de plantas jóvenes de café.

siguiéndole el de café; sin embargo, este último no mostró diferencias grandes con relación al primero; los Pellicularias de frijol y crotalaria, tuvieron crecimiento similar, y el de hibiscus desarrolló pobremente. En general, se comprobó un desarrollo ascendente de los Pellicularias al final del experimento.

En el medio líquido de extracto de plantas adultas de cacao en el que desarrollaban los Pellicularias de café y cacao, los promedios del peso seco expresados en miligramos de 6 repeticiones a los 30 y 45 días fueron superiores para el cacao y a los 15 días para el de café (Fig. 26). Se observó además que el crecimiento del micelio del Pellicularia de café en medio de cultivo fue más grueso que el de cacao, siendo al contrario el comportamiento de éstos en el campo (Fig. 27).

Características Culturales en Medios Líquidos

En el medio basal, con carbohidratos y sin adición de éstos, a los 10 días de incubación se anotaron las siguientes características:

Medio basal y lactosa:

Pellicularia de café. Micelio aéreo abundante, algodonoso, compacto y grueso. El substrato tomó una coloración café oscura.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo abundante, algodonoso, poco compacto y fino, de color grisáceo, cubriendo parte de las paredes de los frascos. El medio se tornó de un color casi negro.

Pellicularia de frijol. Formación de abundantes esclerosios, micelio fino ralo y poco algodonoso, de color gris claro, invadiendo las paredes de los frascos. El color del substrato varió poco, tornándose de color café claro.

Pellicularia de café



Pellicularia de cacao

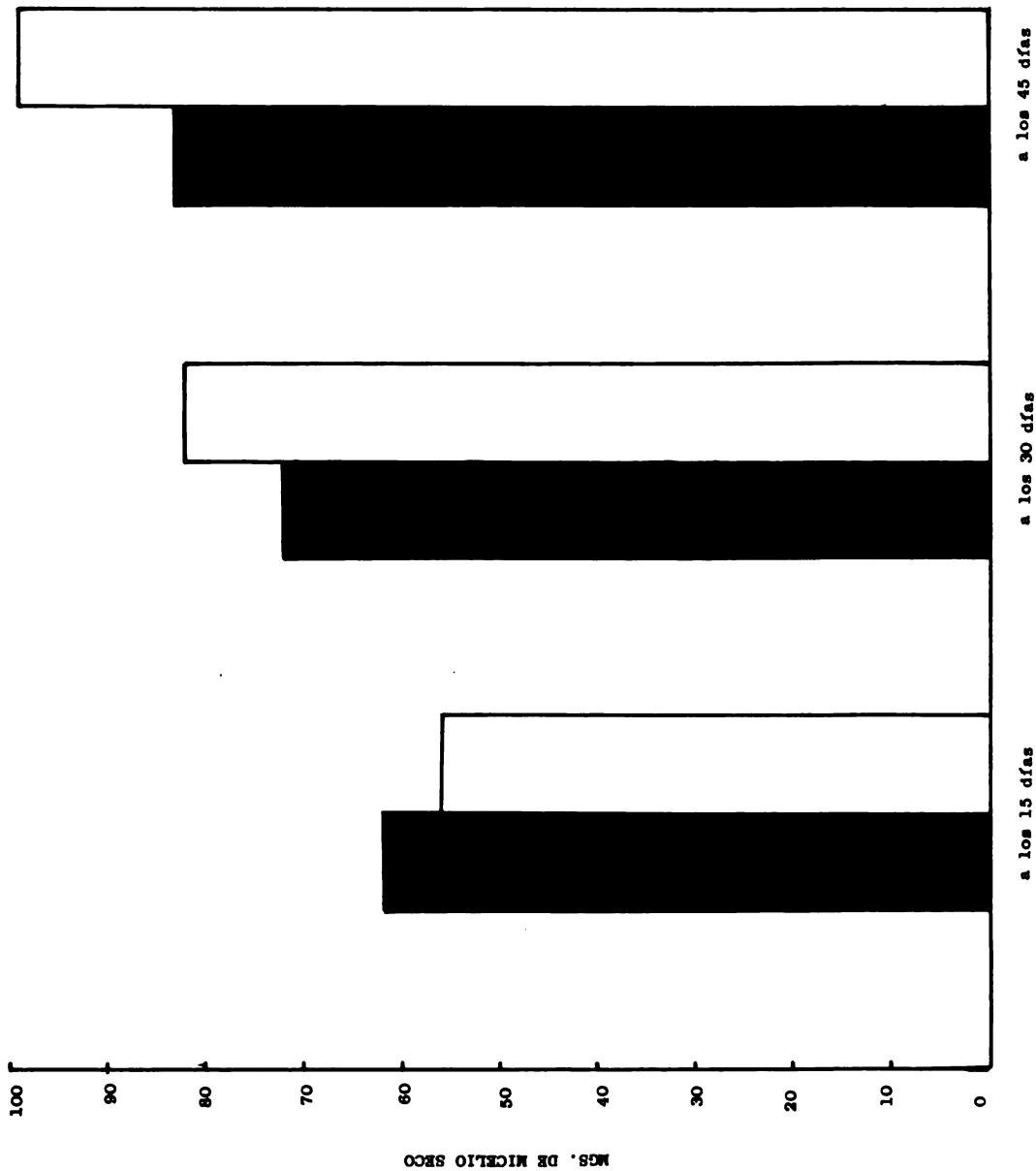


Fig. 26. Pesos de micelio seco de 6 cultivos de Pellicularias de café y cacao, a los 15, 30 y 45 días de incubación, desarrollados en extracto de plantas adultas de cacao.

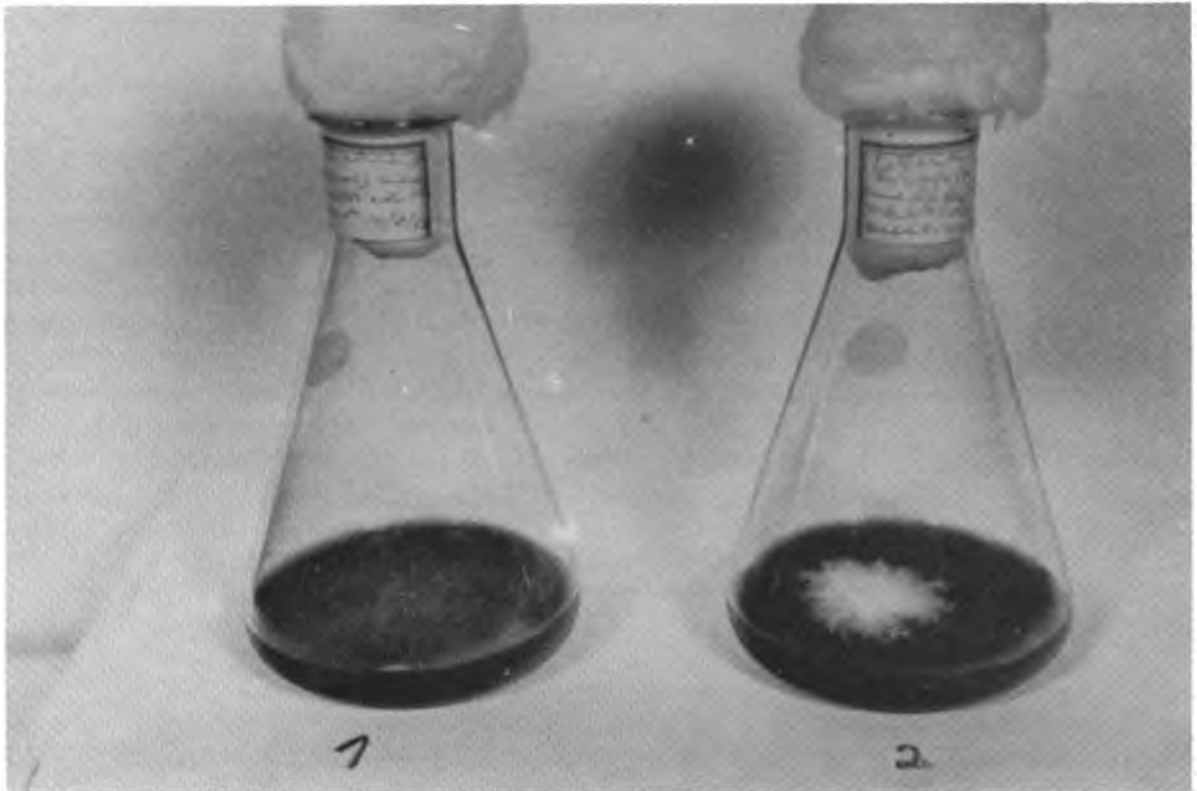


Fig. 27. No. 1, crecimiento de Pellicularia sp. de cacao. No. 2, de Pellicularia koleroga de café en medio líquido de plantas adultas de cacao, mostrando el primero un crecimiento fino del micelio y el segundo un crecimiento más lento compacto y de micelio grueso.

Pellicularia de crotalaria. Abundante formación de esclerosios, de tamaño similar a los del Pellicularia de frijol; micelio fino, poco compacto y más algodonoso que el Pellicularia anterior; de color blanco opaco. El color del substrato fue igual que el anterior.

Pellicularia de hibiscus. Desarrollo abundante de micelio aéreo, muy algodonoso y fino; de color blanco crema. No se formaron esclerosios. El substrato no presentaba alteración del color.

Medio basal y maltosa:

Pellicularia de café. Micelio compacto grueso, de crecimiento radial lento. No se observó formación de esclerosios. El color del substrato cambió a café oscuro.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo abundante, ralo y algodonoso que cubrió parte de las paredes de los frascos. No hubo formación de esclerosios. El substrato tomó una coloración oscura casi negra.

Pellicularia de frijol. Formación de esclerosios característicos de color café; micelio aéreo ralo, fino de color grisáceo, moderadamente compacto. El medio se tornó un poco más oscuro.

Pellicularia de crotalaria. Micelio aéreo algodonoso, poco compacto y fino. Formación de esclerosios grandes en el centro de la colonia; de color café, cubiertos por micelio gris muy claro. El medio tomó una coloración más oscura.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo algodonoso de crecimiento muy vigoroso, denso y fino; de color blanco crema, llegando a cubrir las paredes de los frascos. No se formaron esclerosios. No hubo alteración en el color del medio.

Medio basal y sacarosa:

Pellicularia de café. Colonias de topografía plana y muy compacta, formando un anillo radial intermedio bien definido de color oscuro, que dividía dos zonas; la del inóculo y la de los bordes, de color blanco crema. No hubo formación de esclerosios. El medio adquirió una coloración café oscura.

Pellicularia de cacao. Colonias muy diferentes a las anteriores, mostrando micelio aéreo muy algodonoso, abundante fino y de rápido crecimiento, invadiendo parte de las paredes de los frascos. El substrato tomó una coloración café muy oscura.

Pellicularia de frijol. Formación abundante de esclerosios de color café oscuro, cubiertos por un micelio fino y ralo, poco algodonoso, de color gris. No hubo cambio del color en el medio.

Pellicularia de crotalaria. Formación de esclerosios de color café, cubiertos por un micelio más algodonoso que el anterior; fino, más denso y de color gris muy claro. No varió el color del medio.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo muy algodonoso, abundante, fino y denso, de color blanco crema, que cubrió parte de las paredes de los frascos. No hubo variación en el color del medio.

Medio basal y sorbitol

Pellicularia de café. Micelio aéreo, compacto y grueso, de crecimiento lento. Las colonias presentaban en el centro un anillo circular de color café intenso y las zonas adyacentes a él mostraban color blanco, que progresivamente se tornaron café claro, destacándose siempre la zona central por su color más fuerte. El medio adquirió una coloración café.



Pellicularia de cacao. Micelio aéreo algodonoso de desarrollo muy vigoroso, denso y fino. No se observó la formación de esclerosios. El substrato en conjunto presentó una coloración oscura casi negra.

Pellicularia de frijol. Micelio fino y ralo de color gris. Topografía ondulada debido a la formación de abundantes esclerosios de color café. El medio adquirió una coloración violácea oscura.

Pellicularia de crotalaria. Desarrollo similar al Pellicularia de frijol, excepto que algunos esclerosios tenían mayor tamaño. Se observó la misma coloración en el substrato.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo abundante, muy algodonoso, denso y fino, de color blanco crema; se extendió rápidamente sobre la superficie del medio y paredes de los frascos. El substrato no se alteró.

Medio basal sin carbohidratos:

Pellicularia de café. Micelio aéreo muy ralo, mederadamente fino; de color café claro y crecimiento lento. El medio se tornó de color café oscuro.

Pellicularia de cacao. Crecimiento relativamente rápido del micelio aéreo, algodonoso y ralo, invadiendo con una fina película las paredes de los frascos. El substrato se tornó violáceo, casi negro.

Pellicularias de frijol y crotalaria. Desarrollo lento similar en ambos Pellicularias, micelio aéreo poco algodonoso, ralo y muy fino de color gris oscuro casi negro. Formación de pocos esclerosios pequeños. El medio se tornó de color muy oscuro, casi negro.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo muy fino y ralo, algodonoso de color gris claro, creciendo poco sobre las paredes de los frascos

como una película muy fina. El substrato no cambió de color.

Las características culturales de los 5 Pellicularias en medio líquido de extracto de plantas adultas y jóvenes de café a los 15 días de incubación fueron las siguientes:

Extracto de plantas adultas de café:

Pellicularia de café. Micelio aéreo, algodonoso, compacto y grueso de color crema. Formación de pocos esclerosios. El medio tomó una coloración oscura, casi negra.

Pellicularia de cacao. Formación abundante de esclerosios, micelio aéreo algodonoso muy fino y poco denso; de color gris y crecimiento rápido. El medio se tornó en conjunto completamente negro.

Pellicularias de frijol y crotalaria. Las características de ambos Pellicularias fueron similares. Se formó gran cantidad de esclerosios de tamaño, forma y color semejantes. Micelio aéreo más fino que el Pellicularia de cacao, poco algodonoso; de color gris. El substrato adquirió color café oscuro.

Pellicularia de hibiscus. Desarrollo muy lento de una pequeña roseta alrededor del inóculo, de micelio algodonoso poco compacto; en el resto del medio se formó una fina película fácilmente quebradiza, aparentemente constituida por el mismo medio. El substrato tomó una coloración violácea casi negra.

En el medio de extracto de plantas jóvenes de café los Pellicularias presentaron las mismas características culturales antes descritas.

Las siguientes características culturales a los 15 días de incubados los Pellicularias de café y cacao en extracto líquido de

plantas adultas de cacao fueron observadas.

Extracto de plantas adultas de cacao:

Pellicularia de café. Micelio aéreo grueso, poco algodonoso, compacto, de color café claro y de crecimiento lento. El substrato tomó una coloración café muy oscura casi negra.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo algodonoso muy fino, de crecimiento rápido y coloración grisácea. El medio se tornó de color café oscuro.

Características Culturales en Medios Sólidos

A los 8 días de incubados los Pellicularias, se tomaron las características culturales en los medios sólidos expuestos a la luz.

Infusión de suelo:

Pellicularia de café. Micelio grueso adherido al substrato, de crecimiento muy lento y ralo; pocos filamentos colgando del medio hacia abajo. No se observó cambio en el color del medio.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo fino, poco abundante, cubriendo más de la mitad del substrato, colgando del medio hacia abajo algunos filamentos. No se observó variación en el color del medio.

Pellicularia de frijol y crotalaria. Micelio aéreo muy fino y ralo, similar en ambos Pellicularias, de color gris y lento desarrollo. Formación de esclerosios esféricos grandes de color café. No hubo variación en el color del medio.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo fino y escaso, de color blanco amarillento, cubriendo toda la superficie del medio y colgando de él hacia abajo en grupos. El substrato no cambió de color.

Infusión de "All Bran":

Pellicularia de café. Micelio aéreo de color café, algodonoso, poco compacto, grueso y abundante, cubriendo casi todo el substrato. El medio no había cambiado de coloración.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo, fino, algodonoso, denso, de color café claro y desarrollo rápido, colgando de toda la superficie del substrato. El medio no cambió de color.

Pellicularia de frijol y crotalaria. Desarrollo rápido de los dos Pellicularias, micelio aéreo fino poco algodonoso y ralo; formación abundante de esclerosios, esféricos grandes, de color café oscuro. No se observaron cambios en el medio.

Pellicularia de hibiscus. Crecimiento vigoroso de micelio aéreo, fino muy algodonoso y de color blanco amarillento, filamentos colgando hacia abajo de varias partes del medio y del inóculo. No varió la coloración del substrato.

Infusión de paja:

Pellicularia de café. Crecimiento lento del micelio, adherido al substrato, poco colgante, grueso y compacto. El medio se tornó de color café.

Pellicularia de cacao. Crecimiento más acelerado comparado con los otros Pellicularias sin cubrir toda la superficie del medio; micelio aéreo fino, poco algodonoso y muy filamentosos, colgante. El medio adquirió un color café muy oscuro.

Pellicularia de frijol y crotalaria. Crecimiento lento, similar en ambos Pellicularias; micelio fino, algodonoso y ralo, pocos filamentos colgaban del medio. Formación de muy pocos esclerosios de color

café claro. No se apreció cambio de color en el medio.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo colgante, poco algodonoso y ralo; de crecimiento lento. No coloreó el substrato ni se observó la formación de esclerosios.

Infusión de extracto de hojas de plantas adultas de café expuesta a la luz:

Pellicularia de café. Micelio compacto poco algodonoso, de crecimiento lento y color café claro; formó en algunos casos un anillo de color café intenso, igual al observado por Narasimhan (13) y Mathew (10) que creen sea debido al tanino presente en las hojas de café. El medio fue progresivamente tornándose de color negro.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo moderadamente algodonoso, filamentos colgando del medio, se extendió muy rápido sobre la superficie del substrato comparado con los otros Pellicularias. El medio se volvió negro.

Pellicularia de frijol y crotalaria. Algunos inóculos no desarrollaron y los que lo hicieron mostraban características muy similares en ambos Pellicularias; crecimiento de micelio fino, poco denso, filamentos colgante. No se observó variación de color en los medios.

Pellicularia de hibiscus. En algunas de las botellas no desarrolló; en otras creció el micelio muy lento, con pocos filamentos de color blanco amarillento. El substrato no mostró cambio de color.

Infusión de extracto de hojas de plantas adultas de cacao, expuesta a la luz:

Pellicularia de café. Micelio compacto grueso, de color café claro, extendiéndose lentamente sobre la superficie. El medio tomó

una coloración café oscura.

Pellicularia de cacao. Micelio aéreo algodonoso fino, poco compacto de color café claro, filamentosos colgando de toda la superficie del medio. El substrato se tornó de color café.

Pellicularia de frijol y crotalaria. Las características de estos dos Pellicularias fueron muy semejantes; micelio aéreo fino, algodonoso, que se extendió muy rápido sobre la superficie del medio, moderadamente denso. Formación abundante de esclerosios que mostraban exudados acuosos en forma de gotas, de color ambar.

Pellicularia de hibiscus. Micelio aéreo fino, algodonoso, denso, de color blanco crema, extendiéndose muy rápido sobre la superficie del medio. No se observó la formación de esclerosios. El substrato no cambió de color.

A los 8 días de incubación, en la oscuridad, los Pellicularias de café, cacao e hibiscus en algunos medios, mostraron características culturales diferentes a las descritas anteriormente.

Infusión de extracto de hojas de plantas adultas de café expuesta a la oscuridad:

Pellicularia de café. Formación abundante de esclerosios pequeños, esféricos de color café. Crecimiento del micelio más acelerado que los expuestos a la luz, más algodonoso y colgante.

Pellicularia de cacao. Micelio menos fino y más compacto que los expuestos a la luz, formación de gran número de esclerosios pequeños esféricos de color café claro. Algunos adheridos al micelio colgante.

Infusión de extracto de hojas de plantas adultas de cacao expuesta a la oscuridad:

Pellicularia de café. Formación abundante de esclerosios, pequeños esféricos, en mayor cantidad que en el medio anterior.

Pellicularia de cacao. Micelio menos fino que el expuesto a la luz y más compacto. Formación abundante de esclerosios pequeños, esféricos de color café claro.

Pellicularia de hibiscus. Por primera vez se observó la formación de esclerosios, pequeños, esféricos de color blanco amarillento, abundantes, adheridos algunos al micelio colgante.

Producción de basidios y basidiosporas en medios sólidos

Por no haber encontrado en cantidad suficiente para estudio en el campo los cuerpos fructíferos de los Pellicularias, se prepararon diferentes medios sólidos para tratar de obtenerlos. Carpenter (4) en un estudio sobre la producción y descarga de basidiosporas del Pellicularia filamentosa en Hevea brasiliensis, al usar agar de tierra, tuvo éxito en la producción de basidios y basidiosporas en este medio, siendo mayor la descarga por la noche. En este experimento no fue posible obtener los basidios y basidiosporas y los pocos observados en infusión de suelo y paja de los Pellicularias de café, cacao, frijol y crotalaria, se obtuvieron indistintamente en los medios expuestos a la luz y a la oscuridad.

En todos los medios empleados, se observó en los frascos en que se hizo el cultivo y que estaban en posición horizontal, el interesante crecimiento del micelio de los Pellicularias colgando del substrato hacia abajo, sugiriendo este comportamiento una posible reacción

geotrópica.

Las hifas de los Pellicularias se mostraron hialinas al principio, cambiando de color progresivamente a café claro, y más oscuro en los Pellicularias de frijol y crotalaria; con frecuencia se observó la formación de anastomosis en esas hifas septadas.

Los basidios del Pellicularia de café se observaron en forma oval, redondos o piriformes, hialinos, con 4 esterigmas largos de forma de cuerno; en cada uno de ellos se formaron separadamente basidiosporas hialinas, de forma oval que medían de 5.4 a 9.6 u de diámetro. El autor siguió la clasificación de Rogers (15) para el Pellicularia koleroga de café. De los pocos basidios y basidiosporas observadas del Pellicularia sp. de cacao, se notó que mostraban algunas variaciones en el tamaño con respecto a los otros Pellicularias de 7.0 a 12.5 u de diámetro. Los Pellicularias de frijol y crotalaria produjeron basidios con esterigmas más cortos y basidiosporas más pequeñas, siempre mostrando las hifas más gruesas que los otros Pellicularias. Estos Pellicularias se ajustan más a la clasificación dada por Rogers (15) como Pellicularia filamentosa. Weber (18) informa que el Corticium microsclerotia es el causante de una enfermedad en el frijol, que es similar en algunos aspectos a la producida por el Pellicularia aislado de frijol y crotalaria durante este estudio. Rogers (15) incluye a este Corticium dentro del género y especie Pellicularia filamentosa. Sin embargo, el autor cree que estas pocas observaciones de los cuerpos fructíferos no son suficientes para incluir en forma definitiva a estos Pellicularias en la especie filamentosa. A pesar de haber efectuado muchas preparaciones con muestras de

campo y laboratorio, no fue posible observar las fructificaciones del Pellicularia sp. de hibiscus. Mathew (10) incluye a un Pellicularia aislado de Hibiscus rosa-sinensis en la especie filamentosa.

Al hacer aislamientos de un mismo hibiscus (Hibiscus rosa-sinensis) se comprobó la presencia de 2 Pellicularias fisiológicamente diferentes, y al inocularlos repetidas veces en el campo sobre su huésped, uno de ellos infectó más rápidamente a las plantas. Durante este estudio se trabajó únicamente con aislamientos del Pellicularia que infectó más rápidamente a las plantas.

En general, fisiológicamente, los Pellicularias de café, cacao e hibiscus fueron diferentes; los de frijol y crotalaria fueron idénticos y muy diferentes a los primeros.

Mathew (10) al hacer un estudio sobre la viabilidad de las basidiosporas, encontró que el 90% de éstas en el laboratorio germinaron, pero después de 2 días hubo rápida disminución del número de basidiosporas germinadas reduciéndose a un 45%; a los 14 días sólo germinó el 21%. En observaciones diarias, en la naturaleza comprobó el mismo autor, que a los 10 días de presentar las hojas esporulación, no se encontraron cuerpos fructíferos dando indicación que el período de viabilidad fue más alto en el laboratorio que en la naturaleza.

Efecto de la luz y la oscuridad en el comportamiento del Pellicularia de café

Un experimento se efectuó para investigar si existían diferencias en el comportamiento de micelios jóvenes y viejos del Pellicularia de café, inoculando el envés y el haz de hojas de café en el campo y en el laboratorio, bajo condiciones de luz y oscuridad; se

comprobó que en los experimentos realizados a la luz con micelio joven, el organismo atacó indistintamente a las hojas de plantas adultas y jóvenes tanto en el campo como en el laboratorio al cuarto y quinto día de inoculadas, prefiriendo el envés de éstas en todos los casos. Sin embargo, pocas hojas fueron infectadas en el haz y una vez que el hongo penetró los tejidos continuó creciendo por el envés. Algunos de los inóculos con micelio viejo no desarrollaron y los que lo hicieron produjeron sus efectos entre los 17 y 18 días de inoculados, prefiriendo también el envés de las hojas; los resultados fueron iguales en el campo y en el laboratorio. La Fig. 28 muestra idénticos resultados obtenidos en hojas de plantas adultas y jóvenes inoculadas con micelio viejo y joven.

Las hojas sometidas a la oscuridad e inoculadas con micelio joven y viejo no fueron infectadas en ningún caso. El Pellicularia creció con finos micelios sobre el haz y envés, formando pequeños esclerosios esféricos de color café claro.

En un cultivo de 6 días de edad de Pellicularia de café, contaminado por una bacteria en uno de los bordes del plato, se observó que ésta inhibía el desarrollo del hongo, formando éste un borde más grueso que el resto de la colonia de color café claro, que rápidamente se tornó a café oscuro, lo mismo que el resto de la colonia. Al aislar la bacteria y transferirla a platos de Petri en donde se desarrollaba el hongo, se comprobaron los mismos efectos. Al inocular varias veces el micelio del hongo sobre hojas sanas de café se comportó como micelio viejo, siendo joven.



Fig. 28. El primer plato muestra hojas de planta adulta de café, la primera inoculada con micelio viejo y la segunda con micelio joven; el segundo plato presenta hojas de planta de café de un año de edad inoculadas con micelio viejo y joven respectivamente. Los resultados son idénticos.

Penetración del Pellicularia de café en los tejidos

Varios investigadores (5) han manifestado que el Pellicularia kole-
leroga de café crecía superficialmente, produciendo secreción de toxinas que mataban los tejidos, y absorbiendo elementos nutritivos por osmosis. Burt (3) fue el primero en informar de la penetración del micelio intercelular en los tejidos de las hojas por el hongo. Otros autores como Wolf y Bach (22) demostraron que el organismo penetraba a través de los estomas, creciendo intercelularmente y envolviendo todos los tejidos. Narasimhan (13) comprobó los mismos resultados. Mathew (10) informa que obtuvo los mismos resultados que el autor anterior, y que el hongo en la fase pelicular era superficial. Durante este trabajo se efectuaron cortes microtomales de hojas sanas e infectadas, tanto de la fase pelicular como de la esclerotial (Figs. 29 y 30); con estos cortes se comprobaron los resultados obtenidos por Mathew.

Efecto de la temperatura

Se realizó este experimento con el objeto de comprobar la influencia de la temperatura en el crecimiento del Pellicularia kole-
leroga de café. La Fig. 31 muestra que el hongo creció mejor a la temperatura ambiente (23 a 25°C) y en orden decreciente a 28°C, 30°C y 32°C en que el crecimiento fue lento; la temperatura óptima obtenida en este experimento para el crecimiento de este organismo coincide con los resultados obtenidos por Matsumoto y Yamamoto, citados por Mathew (11) en Mysore, en que el organismo creció mejor de 22 a 25°C, pero estos mismos autores informaron que a 31°C el hongo no creció. Mathew (11) informa que la temperatura óptima para el desarrollo del

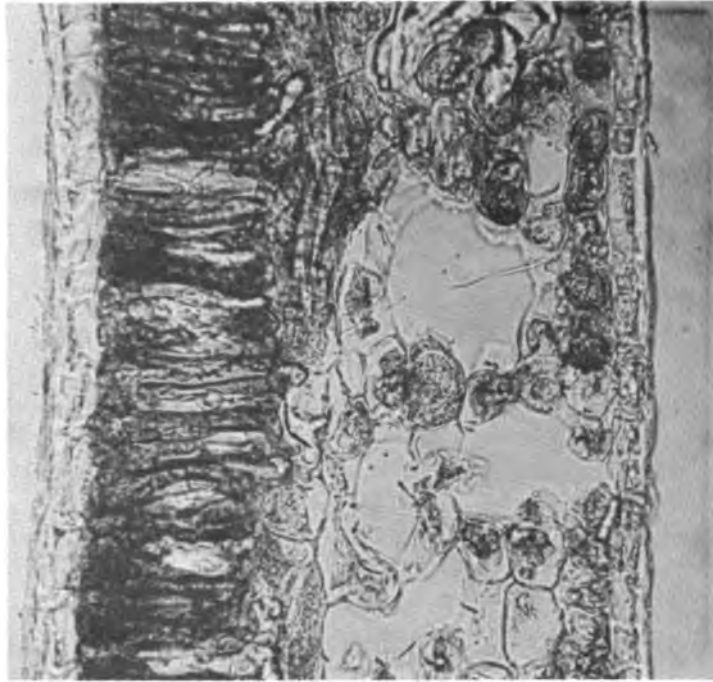


Fig. 29. Corte transversal de una hoja de café atacada por Pellicularia koleroga. Nótese la hifa que discurre intercelularmente; en ambas epidermis se ven células débiles, perdiendo turgencia. (Microfotografía 200 X).

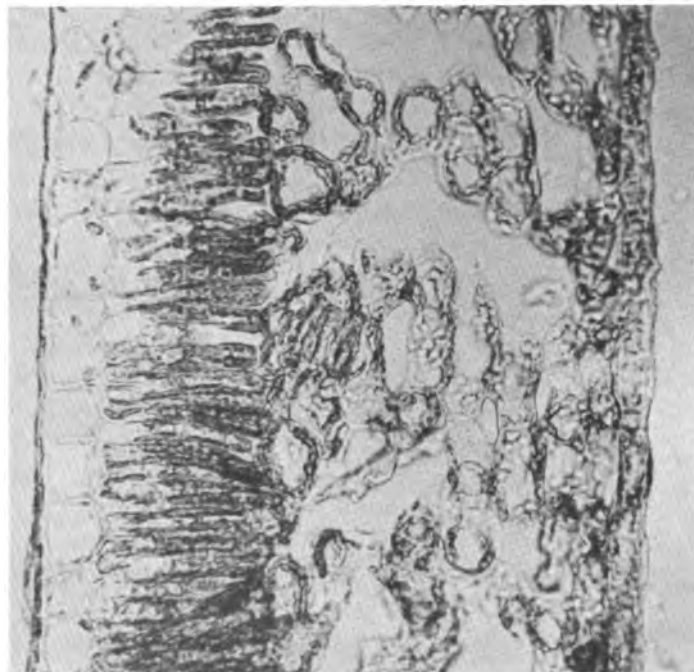


Fig. 30. Corte transversal de una hoja de café sana. (Microfotografía 200 X).

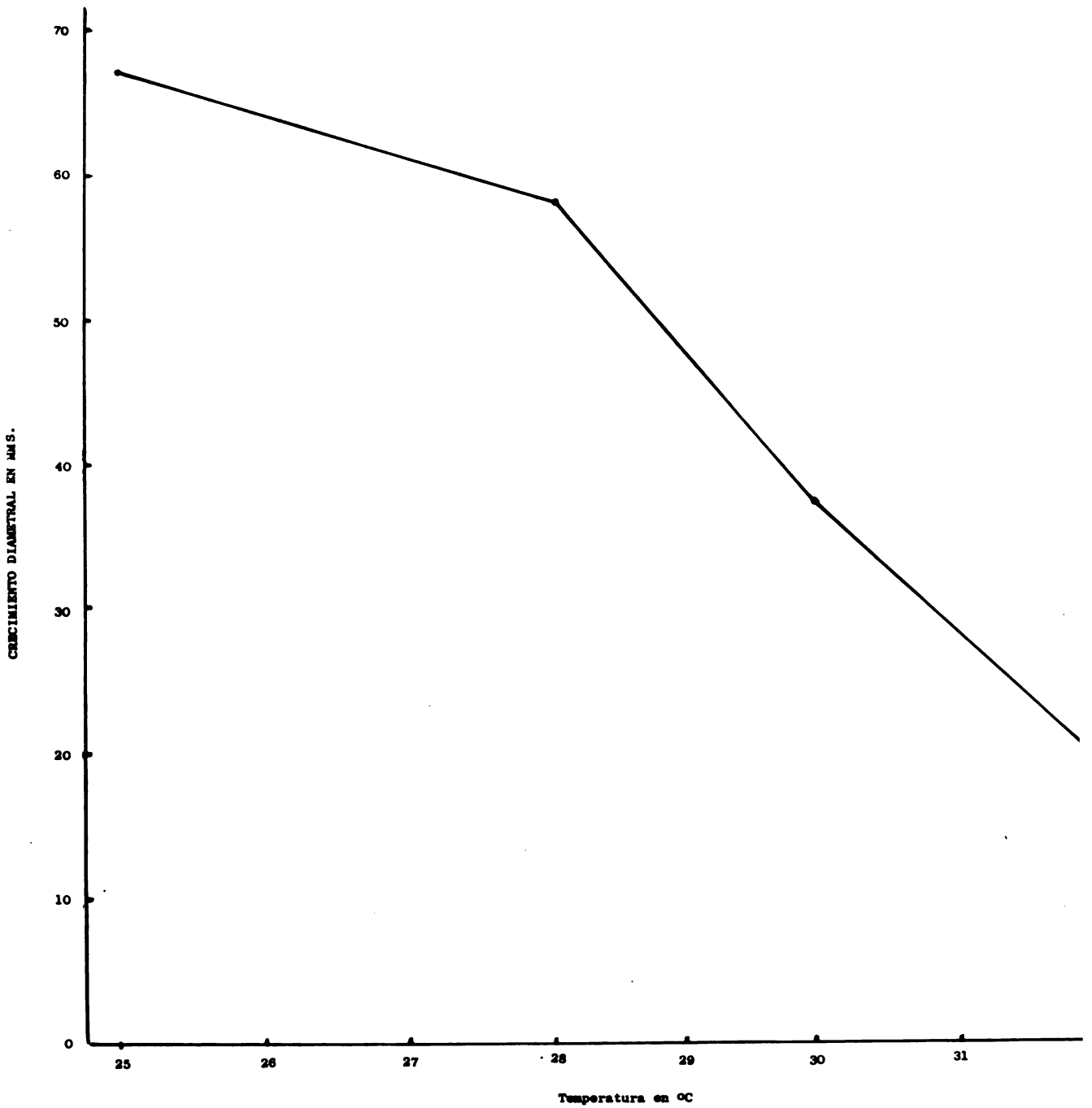


Fig. 31. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de Pellicularia koleroga de café en medio sólido pa-dextrosa-agar.

organismo la obtuvo entre 21 a 23°C y que de 17 aislamientos de Pellicularia koleroga de café, crecieron 12 a 31 y 32°C. Sin embargo, el aislamiento 17 no creció a 32°C. Wellman y otros (21) encontraron que un cultivo de Costa Rica tenía un crecimiento óptimo a 28°C y que el hongo creció bien a 32°C y no desarrolló a 8 y 36°C.

Efecto del pH en el crecimiento del hongo

Este experimento se efectuó para determinar el efecto de las diferentes concentraciones de iones hidrógeno sobre el Pellicularia koleroga de café. Como puede apreciarse en la Fig. 32 el mejor crecimiento del hongo se obtuvo con el pH 6.5 y en el que creció menos fue en el pH 4.5; sin embargo, no hubo mucha variación en el crecimiento del organismo en las diferentes concentraciones de iones hidrógeno. Mathew (11) encontró que el mejor pH en el desarrollo del Pellicularia koleroga de café fue pH 7.3 pero que en general obtuvo buen crecimiento del hongo sobre un amplio radio de pH que varió de 3.8 a 7.3.

Efecto de fungicidas y adherentes sobre el micelio del Pellicularia de café

Al evaluar los fungicidas y adherentes en el laboratorio en el control del Pellicularia koleroga de café fue evidente el poder inhibitorio del fungicida Fermate en todos los tiempos empleados (10, 20, 40 y 60 minutos). En el fungicida Orthocide 75, el organismo desarrolló muy poco a los 10 y 20 minutos y no creció del todo a los 40 y 60 minutos; en orden decreciente estuvieron los fungicidas Cupravit, Caldo Bordelés, Crag; el Copper A y el testigo (sin tratamiento) estuvieron en una posición similar, teniendo los promedios de crecimiento más altos.

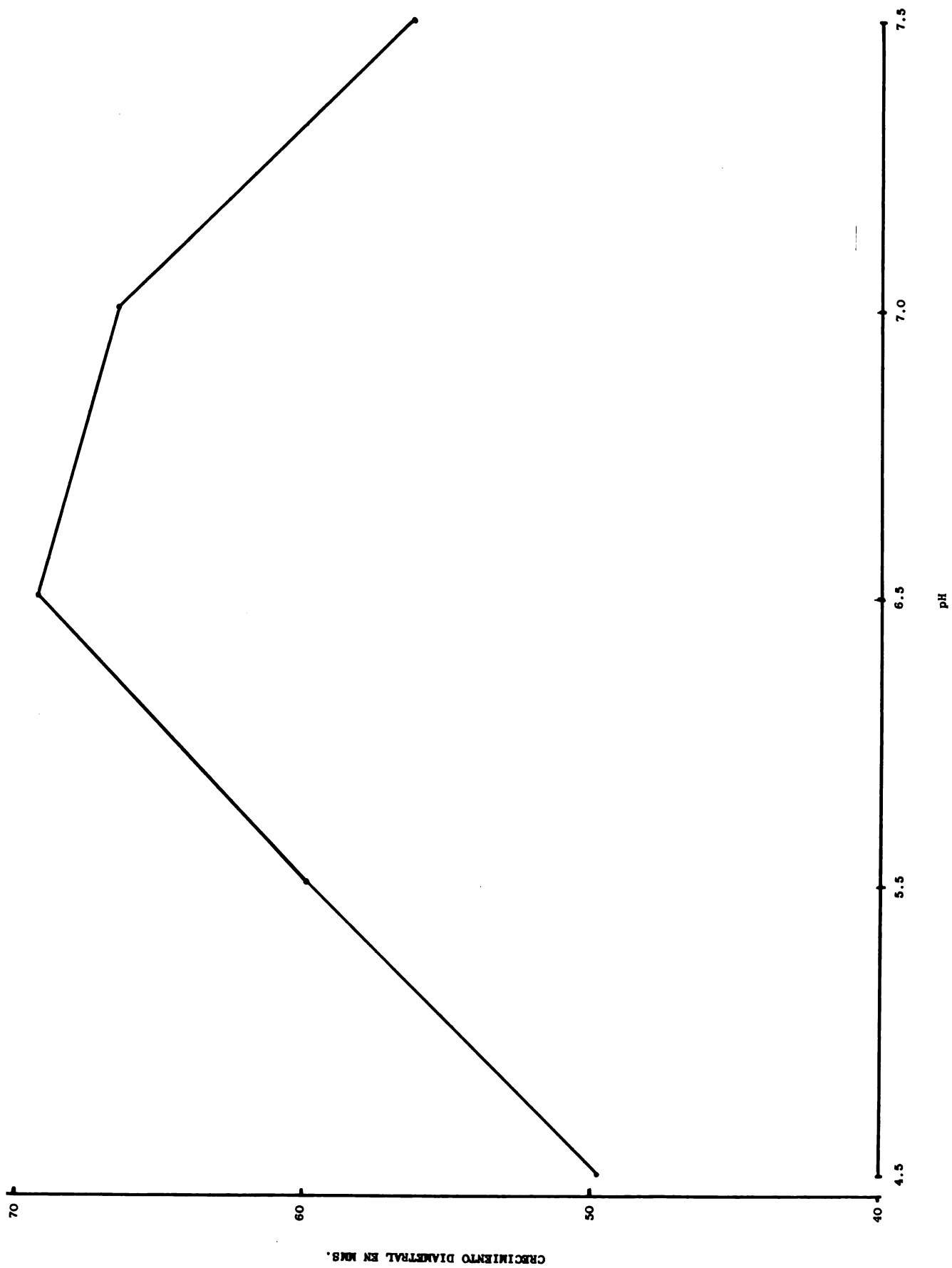


Fig. 32. Efecto de la concentración de iones hidrógeno en el crecimiento del *Pellicularia koleroga* de café en medio sólido papa-dextrosa-agar.

Al repetir estos ensayos 2 veces se obtuvieron resultados similares.

En el experimento en que los cilindros de papa dextrosa agar fueron enjuagados en agua destilada y esterilizada, se comprobaron resultados iguales al experimento anterior, en las 2 repeticiones que se hicieron. La Fig. 33 representa el crecimiento promedio expresado en milímetros de 6 repeticiones a diferentes tiempos.

En el experimento realizado para evaluar el poder fungicida de los adherentes empleados en el control del mismo organismo, el triton tuvo el promedio más bajo de crecimiento, mostrando éste un efecto fungicida apreciable. El Dupont Spreader Sticker y el V. L. 600 mostraron algún poder fungicida, especialmente el primero, a los 60 minutos. El Peps y el X-750 (750 x 102) no mostraron poder fungicida, desarrollando igual que los testigos. La Fig. 34 muestra el crecimiento diametral promedio de 6 repeticiones, expresado en mm. a diferentes tiempos a que fue sometido el hongo.

Se hizo un pequeño ensayo en igual forma que los anteriores, para evaluar el efecto de los fungicidas antes mencionados en el control de los 5 Pellicularias. Los resultados obtenidos en este ensayo con los fungicidas Fermate y Orthocide fueron idénticos al experimento anterior; ninguno de los Pellicularias desarrolló a ningún tiempo en Fermate y hubo muy poco desarrollo a los 10 y 20 minutos en el Orthocide; a los 40 y 60 minutos no desarrolló. Hubo pequeñas variaciones en el efecto de los otros fungicidas sobre algunos Pellicularias.

En la evaluación de fungicidas y adherentes sobre hojas de café se comprobó que los fungicidas Fermate y Orthocide 75, no permitieron la infección de las hojas, en orden descendente de control estuvieron

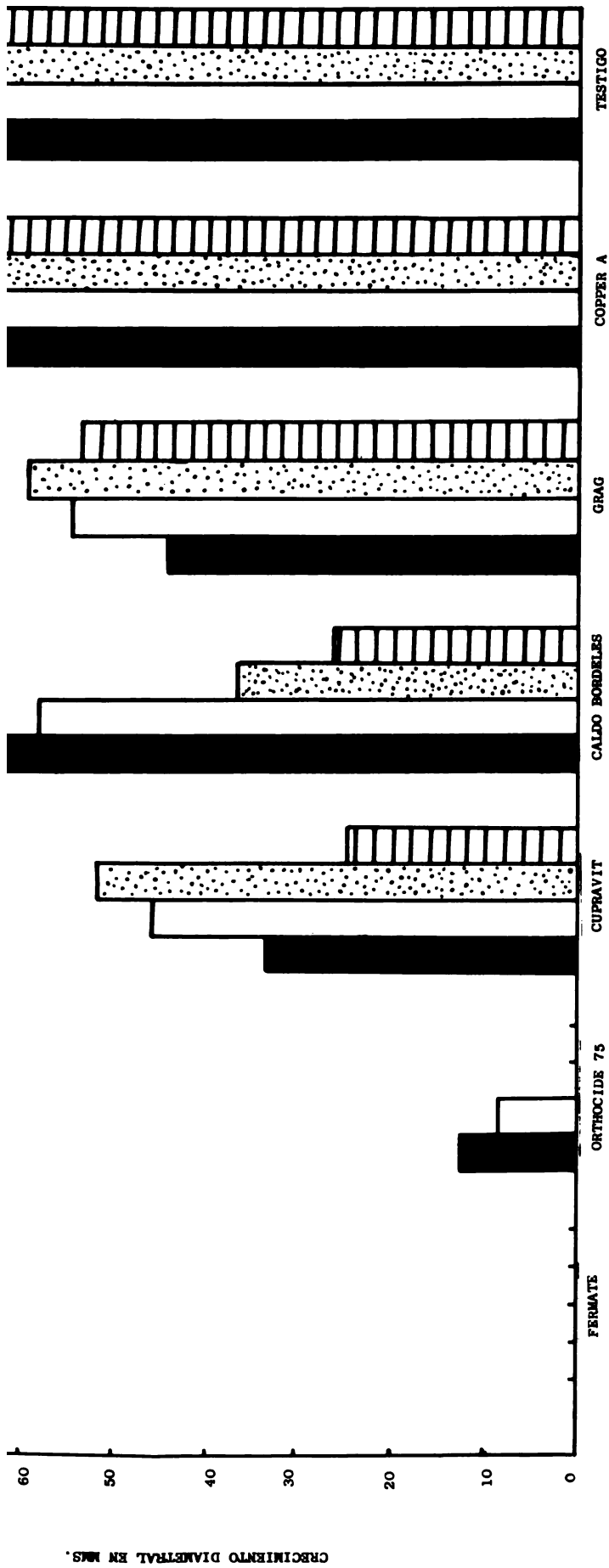


Fig. 33. Crecimientos diametrales de Pellicularia de café a los 10, 20, 40 y 60 minutos de sumergidos en 6 fungicidas y un testigo.

SUMERGIDOS:

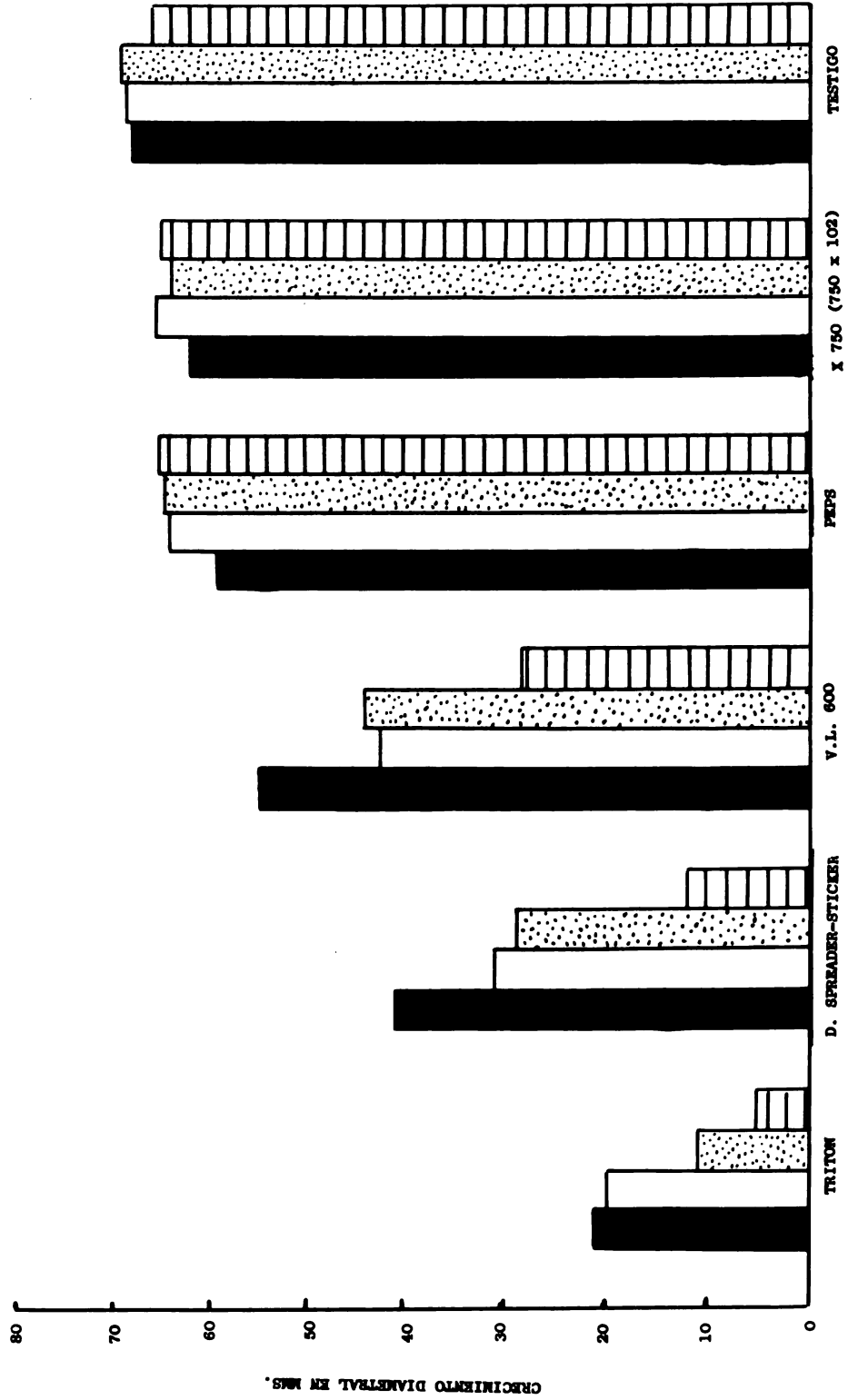
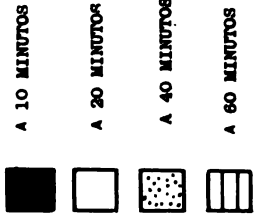


Fig. 34. Crecimientos diametrales de Pellicularia de café a los 10, 20, 40 y 60 minutos de sumergidos en 5 adherentes y un testigo.

los fungicidas caldo bordelés, Crag, Copper A y por último el testigo. El Tritón fue el adherente que menos permitió la infección de las hojas, en orden decreciente de control estuvieron el Peps, Dupont Spreader Sticker, X 750 (750 x 102) y el testigo.

Los resultados del fungicida Cupravit y el adherente V.L. 600 no se incluyeron ya que mostraron toxicidad sobre las hojas, intoxicándolas antes de obtener los resultados. La Fig. 35 muestra la infección promedio de hojas de 4 repeticiones.

Es de interés informar, como una simple observación, que en un ensayo efectuado en la Sección de Fitopatología del Ministerio de Agricultura de Costa Rica para el control de una enfermedad de café en que había además ataque de Pellicularia koleroga, que los fungicidas Emi (a base de mercurio) y Tritoflorol (a base de zinc), aplicados a la concentración de 115 gramos en 100 galones de agua del primero y 3 libras en 100 galones de agua del segundo, aplicados cada 15 días, después de la segunda atomización, se notó que estos fungicidas paralizaron el crecimiento del organismo. En hojas que mostraban la fase pelicular, cubriendo el hongo parte o todo el envés de éstas, se observó que éste no avanzó mostrándose seco; estos efectos se presentaron menos marcados en el follaje atomizado con Tritoflorol. En la fase esclerotial el organismo también fue inhibido. En ensayos futuros de control serán probados estos fungicidas y los citados anteriormente.

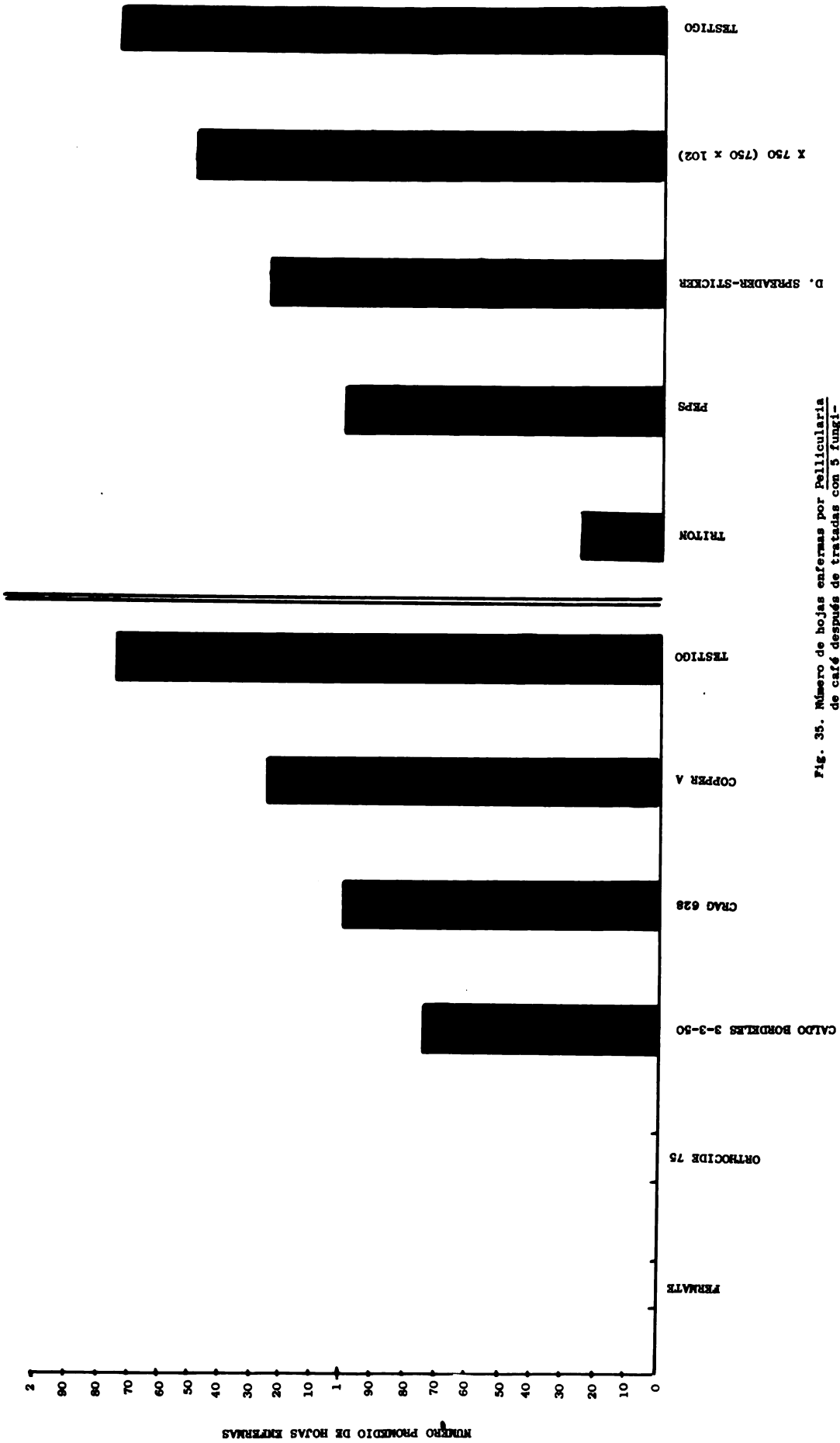


Fig. 35. Número de hojas enfermas por Pellicularia de café después de tratadas con 5 fungidas y 4 adherentes.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En los estudios realizados con el hongo Pellicularia koleroga en Costa Rica, el autor encontró que este patógeno se propaga principalmente por medio del micelio vegetativo, aunque produce basidiosporas que al caer sobre la superficie de las plantas, germinan. En el curso del estudio no fue fácil encontrar tales basidiosporas en el campo, a pesar de que fueron buscadas en diferentes épocas del año, por ser la propagación de estos cuerpos fructíferos bastante limitada; esto comprueba la observación hecha por Mathew (10) quien encontró que la viabilidad de estas esporas dura poco tiempo. El autor observó que además de perder rápidamente su poder germinativo, se producen bajo condiciones especiales del medio ambiente.

Al hacer aislamientos en papa dextrosa agar de los 5 Pellicularias se comprobaron diferencias fisiológicas bien definidas en cuanto al crecimiento, grueso y color del micelio, y además se observaron algunas diferencias morfológicas en los basidios, basidiosporas y grueso de las hifas; idénticas diferencias fisiológicas a las anteriores se confirmaron en las inoculaciones cruzadas efectuadas en el laboratorio, en el mismo medio y con los mismos Pellicularias; no se encontraron diferencias en los Pellicularias de un mismo origen, y sí fueron evidentes cuando se cruzaron, excepto los Pellicularias de frijol y crotalaria, que siempre se comportaron fisiológica y morfológicamente iguales.

Se comprobó la presencia de cristales de oxalato de calcio asociados con los Pellicularias, tanto en el campo como en los medios de cultivo de infusión de suelo, extractos de plantas y papa dextrosa

Si estos cristales asociados con los tejidos que el hongo produce ciertas secreciones en s convertido en cristales insolubles, los sa o porque provean un pH apropiado, ayudan e los tejidos. El autor cree que posible- químicos o mecánicos; en el primer caso lo oxálico, que daña bioquímicamente a los con iones de calcio, y en el segundo caso, so, el cual forma cristales muy pronto, tejidos; además podría ocurrir que el cias que provean o estimulen la síntesis del huésped. Es de importancia realizar ia de estos cristales en la infección ca de su formación.

andar de inoculación para el Pellicularia e el organismo ataca tanto a las plantas nes; en el laboratorio el organismo tu-ecer en forma similar en extracto de s. Al inocular plantas de semillero adas por el hongo; sin embargo, el P. koleroga en plantas de semillero e temporal) en Costa Rica, posible- cas menos favorables.

adas de los 5 Pellicularias sobre los as condiciones, se comprobaron dife- licularias de café, cacao, e hibiscus,

-

fectos patogenicos similares, no
lo hecho de que estos 2 Pellicu-
s, no implica que se trate de
comprobó que Pellicularia fila-
le café que el Pellicularia ko-
hubiera diferencia significativa
arias y sí entre los otros Pelli-
licularia sp. de cacao al inocu-
cacao, produjo infecciones pro-
loración alrededor de las lesio-
e en ambos huéspedes y bajo las
ial en algunas partes de las ho-
ta el momento no se conoce cuál
miento.

de las hojas de cacao de un año
dujo clorosis y más tarde la
aforma que una especie de Colle-
ipales de la marchitez y caída

Es difícil comprender por qué
tiene ese efecto que es diferente
el huésped. Se podría suponer
el mismo efecto mecánico, que se
cristales en las hojas, habiendo
la lámina media al actuar el
no presente en esa membrana.
al inocularlo en el laboratorio

iferentes edades, produjo lesiones necróticas; embargo, el autor no ha observado ataque por este organismo.

straron diferente comportamiento en las dietas usadas, excepto las de frijol y trigo, que presentaron un crecimiento similar, siendo para éstos, los mejores carbohidratos para su desarrollo. El extracto de malta más en lactosa. En presencia de extracto de malta que varió en su composición al usado en el estudio, encontró que los mejores carbohidratos para el crecimiento fueron la maltosa y el crecimiento fue pobre en presencia de lactosa. En este estudio, antes de ser comprobado que el mayor desarrollo lo lograba el extracto de malta. El mismo Mathew cita a Brown, quien dice que en algunos casos la anastomosis de las células, tales como se observan muy frecuentemente en Aspergillus; esto puede explicar la ocurrencia de requerimientos de crecimiento ligeros que el extracto de malta usado tuviera que haber favorecido la mutación. El cultivo de Pellicularia de cacao fue el mejor en maltosa. En general, todos los Pellicularias crecen con azúcares que en medios sin estas dietas de carbohidratos, el crecimiento es pobre. El metabolismo entre otros elementos, tales como el carbohidrato; no todos los Pellicularias

carbohidrato para obtener su óptimo desarrollo, sería conveniente hacer o datos de crecimiento a diferentes aislamientos de un mismo hongo y de diver-

En el desarrollo del Pellicularia de otros investigadores (11) obtuvieron otros (21) comprobaron que la temperatura de desarrollo de este hongo fue de 28°C. En todos los aislamientos de Pellicularia. Mathew (11) observó que de 17 aislamientos creció a 32°C y los otros no. El autor informa que no todos los aislamientos de riboflavina, biotina y ácido pantotémico. En el trabajo de diferentes experimentos, se comprobó que el micelio viejo (6 a 8 días de edad) y el micelio nuevo crecieron muy diferentemente. Son necesarias estas diferencias de comportamiento a causa de ellas.

En los pH usados se comprobó que el P. kole- en pH de 6.5; sin embargo, el organismo crece mejor en los cambios de pH.

Otra hecha por Mathew (11), aunque el óptimo crecimiento del hongo con un pH de

), cuando se desarrolla en frascos

muestra un crecimiento hacia abajo, efecto geotrópico; en iguales condiciones de oscuridad completa, se comportó en forma que no hay efectos fototrópicos.

sobre el haz y el envés de hojas de plantas jóvenes, tanto a la luz como en la oscuridad comprobó que el organismo creció, pero no creció en la oscuridad; es difícil explicar estos efectos, y toda suposición sería arbitraria. Se necesitan más estudios al respecto. Fue necesario probar con plantas jóvenes como adultas, respuestas a patógeno, y que el micelio joven infecta al micelio viejo; este último en condiciones de campo; se observó, además que el hongo penetra en las hojas para desarrollarse y probablemente los estomas, por encontrarse importante en el desarrollo y ataque a las hojas. Wolf y Bach (22) demostraron que el hongo penetra en los estomas.

Un desacuerdo entre los investigadores se refiere a la nomenclatura de los géneros y especies de Pellicularia koleroga y Pellicularia filiformis. Se ha producido frecuentemente una confusión. El autor siguió usando el Pellicularia koleroga del café, y

supone que los Pellicularias aislados a, pertenecen a Pellicularia filamen-mitido que el Pellicularia que ataca el koleroga. Sin embargo, por los estudios hee que la especie estudiada en Costa ite dentro de la descripción de Rogers ente, ambos organismos son muy diferen- ortamiento en los diferentes medios etidos; al ser inoculados sobre plan- algunos síntomas diferentes y mostra- atogenicidad. Morfológicamente se ob- ero estas pocas observaciones no son especie se trata. El comportamiento o al de los Pellicularias de frijol y n una estrecha identidad en sus carac- ológicas, durante el transcurso de este oratorio realizados con el fin de hacer adherentes, demostraron que el FERMATE desarrollo del Pellicularia koleroga de vó al someter el hongo a la acción de da, a diferentes tiempos (10, 20, 40 dos se obtuvieron al atomizar con los é inoculadas con el organismo, el cual da Orthocide 75, en el primer experi-) y 20 minutos y no desarrolló en los

otros tiempos a que fue expuesto; al inocularlo sobre las hojas atomizadas no creció. En ambos casos parece evidente que la efectividad de estos fungicidas consistió en la destrucción del organismo infeccioso y en su acción protectora sobre las hojas tratadas. Es de gran importancia ensayar estos fungicidas en el campo a fin de comprobar si ofrecen igual efectividad que en el laboratorio.

En el laboratorio al ser sometidos los 5 Pellicularias a la acción de los mismos fungicidas, se comprobó que respondían igual que el Pellicularia de café a la acción del Fermate y Orthocide, por lo que se supone que bajo condiciones de campo, resultados semejantes podrían obtenerse con los Pellicularias aislados durante este estudio con los fungicidas anteriormente citados.

Hasta el momento, en todos los países en donde existe la enfermedad, se han usado fungicidas a base de cobre, para controlar este patógeno; sin embargo, según Bruner (2) no se logra la extirpación completa del hongo, aun con atomizaciones repetidas con caldo bordelés.

La razón por la cual en las experiencias de laboratorio en las que se sometió el organismo a diferentes tiempos en soluciones acuosas de caldo bordelés, y otros fungicidas a base de cobre no se hubiera logrado un control igual al obtenido en el campo, hace suponer que esta mezcla actúa más como protector de estas plantas que como fungicida.

Se observó en la segunda atomización quincenal que plantas de café atacadas por Pellicularia koleroga y asperjadas con los fungicidas Emi y Tritoflorol detuvieron en forma evidente el desarrollo del organismo. Sería de mucha utilidad encontrar un fungicida erradicante que controlara, además del Pellicularia koleroga, otras enfermedades que

afectan al cultivo del café; sería interesante también comprobar el poder residual de esos fungicidas, con el fin de poder recomendar con más certeza el número de aplicaciones requeridas para controlar la enfermedad.

Es notorio el comportamiento del micelio joven de Pellicularia de café, que en comparación con el micelio viejo, desarrolla más rápidamente; este último, en algunos casos, no desarrolló y en los que sí lo hizo, sus efectos fueron más retardados. Esto sugiere que antes de iniciarse las lluvias y una vez establecidas éstas, las aplicaciones de fungicidas son necesarios; ya que cuanto más se destruya al micelio viejo habrá menos fuentes de infección al presentarse las condiciones favorables a su desarrollo, pues una vez que haya crecido se propaga rápidamente; sin embargo, queda aún por contestar en forma definitiva la pregunta de cuál es la mejor época para aplicar los fungicidas. Hasta tanto no se realicen más estudios al respecto, no podrá darse una contestación enteramente satisfactoria.

RESUMEN

1. El hongo Pellicularia koleroga Cook que causa el "mal de hilachas" del café se propaga en Costa Rica, principalmente por medio del micelio vegetativo; produce, también basidiosporas cuya propagación parece bastante limitada.
2. Se aislaron 5 Pellicularias, comprobándose que eran fisiológicamente diferentes los de café, cacao e hibiscus; además algunas diferencias morfológicas fueron observadas en ellos. Los Pellicularias de frijol y crotalaria se mostraron fisiológica y morfológicamente similares.
3. El Pellicularia de café en inoculaciones efectuadas, tanto en el laboratorio como en el campo, atacó indistintamente a plantas adultas y jóvenes de café; sin embargo, no se observó el ataque natural de éstas últimas en el campo.
4. Se comprobó que el Pellicularia sp. de hibiscus parasitó a un chapulín que ataca al café (Idiarthron sp. posiblemente I. artrispinum).
5. En inoculaciones cruzadas de los 5 Pellicularias sobre los diferentes huéspedes y bajo las mismas condiciones, se comprobaron diferencias de patogenicidad en los Pellicularias de café, cacao e hibiscus; los de frijol y crotalaria mostraron efectos patogénicos similares. Los Pellicularias de café y cacao, produjeron algunos síntomas diferentes sobre las plantas inoculadas. Se produjo la abscisión de las hojas de plantas de cacao de un año de edad por los Pellicularias, al ser inoculados en la base del pecíolo de éstas.

6. En inoculaciones de laboratorio el Pellicularia sp. de cacao, causó lesiones necróticas en frutos de cacao de diferentes edades.
7. Los Pellicularias necesitan de carbohidratos para su desarrollo normal. La lactosa fue el mejor carbohidrato para el crecimiento del Pellicularia de café; para el de cacao fue el sorbitol; para el de hibiscus la maltosa; los Pellicularias de frijol y crotalaria crecieron mejor en lactosa y sorbitol, respectivamente. No todos los Pellicularias estudiados requieren el mismo carbohidrato para obtener su óptimo desarrollo.
8. Se observó in vitro el posible fenómeno de geotropismo en el Pellicularia de café; no se constató fototropismo.
9. El Pellicularia koleroga de café creció mejor a temperaturas que oscilaron entre 23 y 25°C y no creció a 32°C.
10. Se obtuvo buen crecimiento en un pH que varió de 4.5 a 7.5 siendo mejor su desarrollo en un pH de 6.5
11. El Pellicularia de café no causó daño a las hojas sometidas a la oscuridad. Tanto en el campo como en el laboratorio, el micelio joven (6 a 8 días de edad) infectó más rápidamente las hojas que el micelio viejo (45 días en adelante), el cual en algunos casos, no desarrolló y cuando lo hizo, su crecimiento fue más lento.
12. En medio de cultivo una bacteria no identificada inhibió el desarrollo del Pellicularia de café; al inocular el hongo sobre hojas sanas, se comportó como micelio viejo siendo joven.
13. El Pellicularia sp. de cacao no parece caer estrictamente dentro de la descripción de Rogers para Pellicularia koleroga. Los Pellicularias de frijol y crotalaria mostraron una estrecha identidad

en sus características fisiológicas y morfológicas; posiblemente se trate de Pellicularia filamentosa.

14. Los fungicidas Fermate y Orthocide 75 inhibieron el desarrollo de los Pellicularias en pruebas de laboratorio. Las diferencias de comportamiento del micelio joven y viejo del Pellicularia kolero-
ga de café, sugiere la necesidad de aplicar los fungicidas, antes y después de establecidas las lluvias.

SUMMARY

1. The fungus Pellicularia koleroga Cook that causes the malady known as "mal de hilachas" in coffee trees has been studied in Costa Rica mostly in its vegetative stage. It also produces basidiospores whose propagation is apparently limited.
2. Five Pellicularias were isolated; there was evidence of physiological differences among the Pellicularias of coffee, cacao and hibiscus, and some morphological differences were observed in them. The Pellicularias of coffee and crotalaria showed physiological and morphological similarities.
3. The Pellicularia of coffee in laboratory and field inoculations, indistinctly attacked adult and young plants of coffee. However, no attack was observed on the latter in the nursery.
4. It was confirmed that Pellicularia sp. of hibiscus was parasited by a grasshopper (Idiarthron sp.; probably I. artrispinum) that attacks coffee.
5. In cross inoculations with the five Pellicularias on the five different hosts and under the same conditions, there was evidence of differences in pathogenicity in the Pellicularias from coffee, cacao and hibiscus while those from bean and crotalaria showed similar pathogenic effects. The Pellicularias of coffee and cacao produced some differences in symptoms in inoculated plants. Abscission was produced on the leaves of one year old cacao plants by all the Pellicularias when they were used for inoculation at the base of the petioles of the leaves.

6. In laboratory inoculations, the Pellicularia sp. of cacao produced necrotic lesions on cacao fruits of different ages.
7. The Pellicularias need carbohydrates for their normal growth. Lactose was the best carbohydrate for the growth of Pellicularia of coffee; sucrose for that of cacao; maltose for that of hibiscus. Pellicularias of beans and crotalaria grew better on lactose and sucrose, respectively. Not all the Pellicularias under study required the same carbohydrate to obtain optimum growth.
8. The possible phenomenon of geotropism was observed in vitro on Pellicularia from coffee and apparently no evidence of phototropism.
9. The Pellicularia koleroga of coffee grew better under temperatures that ranged from 23 to 25°C and did not grow at 32°C.
10. There was good growth at a pH range of 4.5 to 7.5, the best being 6.5.
11. The Pellicularia of coffee did not produce injury on leaves kept in the dark. Both under laboratory and field conditions, young mycelium (6 to 8 days old) infected the leaves more rapidly than old mycelium (45 days old and over). In a few cases the latter did not develop and when it developed, its growth was very slow.
12. In the culture media, a bacteria that has not been identified, inhibited the growth of Pellicularia of coffee; when inoculated on healthy leaves, the fungus behaved like old mycelium but it was in reality young .
13. The Pellicularia sp. of cacao does not seem to fall strictly under the description made by Rogers for Pellicularia koleroga. The Pellicularias from bean and crotalaria showed similarity in their

physiological and morphological characteristics and are probably Pellicularia filamentosa.

14. The fungicides Fermate and Orthocide 75 inhibited the growth of Pellicularia in laboratory tests. The differences in behaviour of young and old mycelium of Pellicularia koleroga of coffe, suggests the necessity of applying fungicides before and after the establishment of the rains.

LITERATURA CITADA

1. BRITON-JONES, H. R. & BAKER, R. E. D. Thread blights in Trinidad. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 11(3):55-67. 1934.
2. BRUNER, STEPHEN C. Reseña de las plagas del cafeto en Cuba. Cuba, Estación Experimental Agronómica (Santiago de las Vegas) Circular No. 68. 1929. 38 p.
3. BURT, EDWARD A. Corticiums causing Pellicularia disease of the coffee plant, hypochnose of pomaceous fruits, and Rhizoctonia disease. *Missouri Botanical Garden Annals* 5(2):119-132. 1918.
4. CARPENTER, J. B. Production and discharge of basidiospores by Pellicularia filamentosa (Pat.) Rogers on Hevea rubber. *Phytopathology* 39(12):980-985. 1949.
5. COLEMAN, L. C., VENKATA RAO, M. K. & NARASIMHAN, M. J. Black rot or Koleroga of coffee in Mysore. Mysore State Department of Agriculture. *Mycological Series Bulletin No. 5.* 1923. 12 p.
6. DURUZ, WILLIAM P. Spray controls coffee blight in Nicaragua. *Foreign Agriculture* 17(11-12):204-205. 1953.
7. FAWCETT, G. L. Enfermedades del café causadas por hongos en Puerto Rico. Puerto Rico, Estación Experimental Agrícola (Mayagüez) Boletín No. 17. 1916. 31 p.
8. FLORES, M. A., LE-BEAU, F. J. & STRAUBE, E. El Koleroga en el café. Guatemala, Instituto Agropecuario Nacional. Boletín Agrícola No. 4. 1955. 14 p.
9. LILLY, V. G. & BARNETT, H. L. The influence of pH and certain growth factors on mycelial growth and perithecial formation by Sordaria fimicola. *American Journal of Botany* 34(3):131-138. 1947.
10. MATHEW, K. T. Studies on the Black rot of coffee. I. The disease in South India and some general considerations. *Indian Academy of Sciences. Proceedings. Sec. B.* 39(4):133-170. 1954.
11. _____ Studies on the Black rot of coffee. II. Nutritional requirements of Pellicularia koleroga Cooke with special reference to growth substances. *Indian Academy of Sciences. Proceedings. Sec. B.* 39(5):179-211. 1954.
12. MAYNE, W. W., NARASIMHAN, M. J. & SRINIVASAN, K. H. Spraying of coffee in South India. *Mysore Coffee Experiment Station Bulletin No. 9.* 1933. 69 p.

13. NARASIMHAN, M. J. Black rot of coffee in Mysore. *Phytopathology* 23(11):875-886. 1933.
14. RIKER, A. J. & RIKER, R. S. Introduction to research on plant diseases; guide to the principles and practices for studying various plant-disease problems. St. Louis, John S. Swift C., 1936. 117 p.
15. ROGERS, DONALD P. The genus Pellicularia (Thelephoraceae). *Farlowia* 1(1):95-118. 1943.
16. _____ & JACKSON, H. S. Notes on the synonymy of some North American Thelephoraceae and other resupinates. *Farlowia* 1(2):263-328. 1943.
17. VIVERO, JOSE E. Estudio sobre la marchitez y caída de las hojas en almácigales de cacao. Tesis sin publicar. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica. 1950. 31 p.
18. WEBER, G. F. Web-blight, a disease of beans caused by Corticium microsclerotia. *Phytopathology* 29(7):559-574. 1939.
19. WELLMAN, F. L. Coffee diseases, insects, and weeds controlled by chemicals. *Advances in Chemistry Series, No. 13*. 1955. pp. 43-63.
20. _____ Evidencia de resistencia a las enfermedades en los cafetos. *Turrialba* 4(2):52-57. 1954.
21. _____ & OTROS. Effects of temperature on vegetative growth of five coffee disease fungi. En Asamblea Latinoamericana de Fitoparasitología, Ira., México D. F., 1950. Trabajos presentados. México, Secretaría de Agricultura y Ganadería, Oficina de Estudios Especiales, Folleto Misceláneo No. 4. 1951. pp. 251-257.
22. WOLF, F. A. & BACH, W. J. The thread blight disease caused by Corticium koleroga (Cooke) Hohn. on citrus and pomaceous plants. *Phytopathology* 17(10):689-709. 1927.

A P E N D I C E

CONTROL CON FUNGICIDAS DE PELLICULARIA, "MAL
DE HILACHAS" EN CACAO*

Rodrigo Orellana y C. Bianchini**

El "mal de hilachas" del cacao (Theobroma cacao L.) causado por Pellicularia es una de las enfermedades más extendidas de este cultivo. El daño es severo para las hojas bien desarrolladas y maduras de los árboles adultos durante los períodos prolongados de lluvia intensa. No se ha visto que el hongo haya infectado las hojas jóvenes. Se ha observado que la enfermedad se presenta en las plantaciones sin cuidado y con sombra densa, tanto en Costa Rica como en otras áreas donde se cultiva el cacao (1, 2).

En este trabajo se presentan los resultados del combate del "mal de hilachas" por medio de aspersiones con fungicidas en una plantación de 36 años del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, situada en La Lola, Madre de Dios, Costa Rica. Inicialmente los fungicidas fueron aplicados para combatir la podredumbre de la mazorca (Phytophthora), en 1953 y 1954.

Síntomas de la enfermedad: El primer síntoma que generalmente se nota es el de hojas muertas de color café que cuelgan de las ramas. Un crecimiento filamentososo se observa en la parte inferior de ramas y brotes tiernos, y de tal crecimiento los filamentos miceliales del hongo se ramifican profusamente, invadiendo el envés de las hojas. Pueden verse redes plateadas durante el tiempo en que las hojas mantienen su color

* Trabajo presentado en la Sexta Conferencia Interamericana del Cacao, celebrada en Salvador, Bahía, Brasil del 20 al 27 de mayo de 1956.

** Fitopatólogo y Asistente Graduado, respectivamente, del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica.

verde. Después de que las hojas se marchitan, los filamentos del hongo se vuelven de color blanco-opaco o cremoso. Posteriormente las hojas se desprenden y cuelgan del árbol adheridas a una rama por filamentos de conexión del hongo. Una vez que un brote o una rama es atacada, todas o casi todas sus hojas mueren.

Identidad del organismo causal: La especie de Pellicularia del cacao prevaeciente en Costa Rica no parece caer estrictamente dentro de la descripción de Rogers (3) para P. koleroga Cooke (Corticium koleroga (Cooke) von Hönnel). Sin embargo es un Pellicularia, pero no se ha intentado hasta ahora identificar la especie de que se trata.

Registro de la incidencia de Pellicularia: El experimento de campo en el cual se registró la incidencia de esta enfermedad consistía de un bloque de cinco tratamientos replicados cinco veces. Cada replicación contenía 49 parcelas de árboles con un promedio de 37 individuos vivos. Los fungicidas utilizados en los tratamientos fueron los siguientes: Caldo bordelés 4-4-50, Perenox, Crag 531 y Phygon XL, cada uno aplicado en concentraciones de 4 libras por 100 galones de agua, y el testigo (sin tratamiento). Se usó un pulverizador Royal Bean con una presión hasta de 800 libras en el tanque. Con el registro de los datos de la incidencia de la enfermedad, que sólo se tomó una vez, las sustancias químicas habían sido aplicadas por dos años a intervalos aproximados de 30 días. El registro se hizo quitando de los árboles todas las hojas infectadas y contándolas. No se intentó contar ni aún estimar el número de hojas sanas por árbol. Se obtuvieron promedios del número de hojas enfermas por árbol en cada una de las cinco replicaciones. Por consiguiente, estas cifras representan

la incidencia de la enfermedad en las plantaciones bajo estudio. Aunque los resultados se observaron fácilmente, todos fueron sometidos a un análisis de variancia significativa.

Resultados experimentales: En el gráfico, Fig. 1, se puede notar que el promedio de hojas infectadas por tratamiento varió notablemente, indicando el efecto de control diferencial de los fungicidas. Los análisis de variación mostraron que los tratamientos fueron altamente significativos, y los límites de confianza calculados revelaron la presencia de dos grupos de fungicidas en relación al control de la enfermedad. El primer grupo fue bajo en efectividad; mientras que el segundo grupo, constituido por caldo bordelés, Crag y Perenox fue de alta efectividad. Aparentemente Phygon no controló la enfermedad.

Sin embargo, este experimento está sujeto a críticas porque el error experimental de tratamiento a tratamiento no es homogéneo. Por otra parte, las diferencias entre tratamientos son tan grandes que la interpretación estadística de los datos sólo confirma los evidentes resultados obtenidos.

Cuadro 1. El efecto de las aspersiones con fungicidas sobre la incidencia del "mal de hilachas" en los árboles de cacao

Tratamientos	Número promedio de hojas infectadas por tratamiento
Caldo Bordelés	1.018
Perenox	14.696
Phygon	54.348
Crag	7.636
Testigo	65.696
L.D.S. 1%	8.41

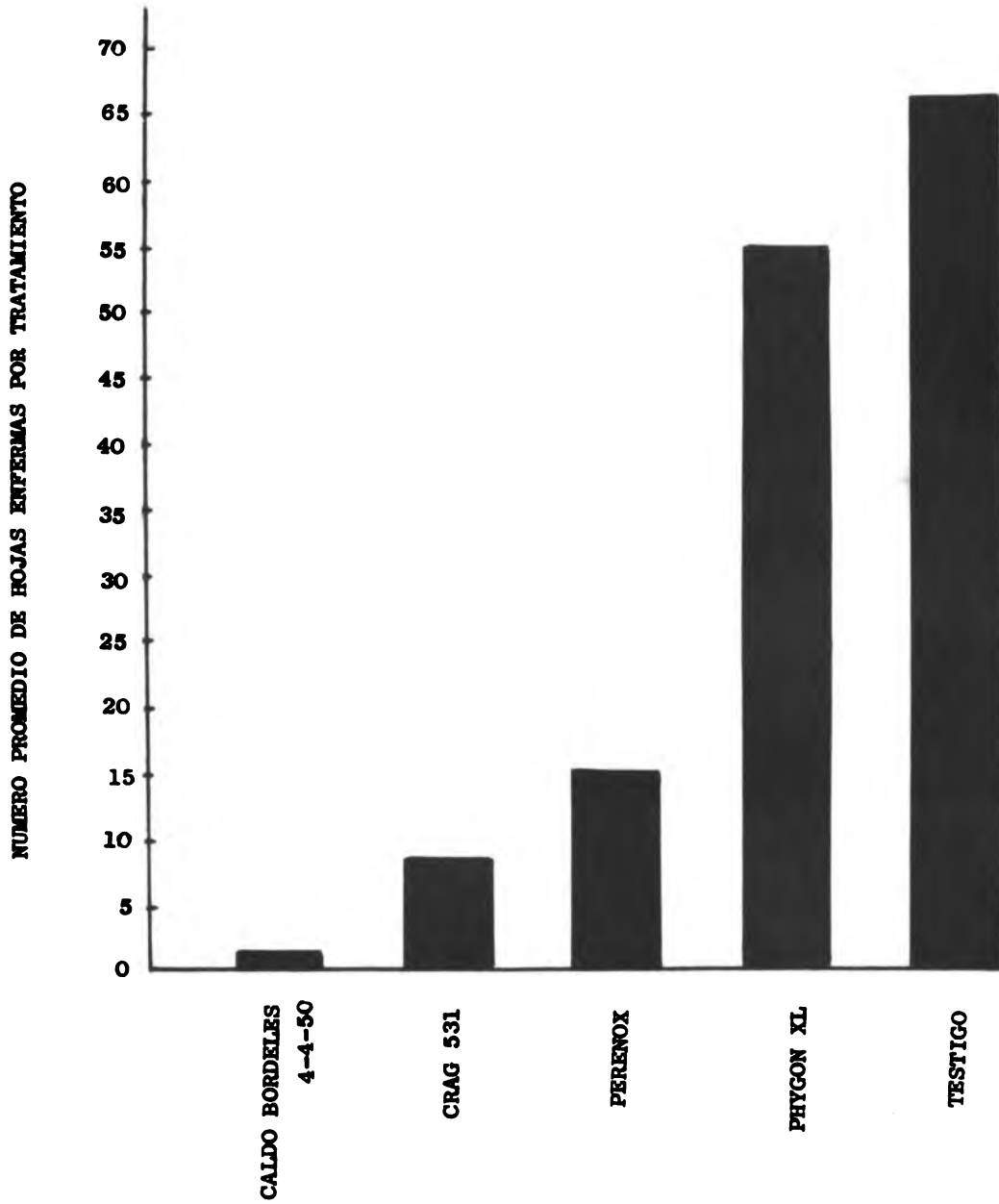


Fig. 1. Número de hojas enfermas por Pellicularia de cacao tratadas con 4 fungicidas.

De estos datos es posible concluir que el caldo bordelés, Perenox y Crag 531 fueron altamente eficaces para el control de la enfermedad. Phygion no controló la enfermedad; las plantas tratadas con este fungicida igualaron al testigo en cuanto al número de hojas infectadas de Pellicularia.

DISCUSION Y SUMARIO

Puesto que los fungicidas se aplicaron particularmente al dosel de los árboles, es evidente que el Pellicularia estaba localizado principalmente en esta parte, y el hongo podía ser fácilmente inhibido químicamente en su desarrollo y capacidades parasitarias mientras estuviera en el dosel en estado infeccioso. Los tratamientos impidieron eficazmente la propagación de la enfermedad, y para propósitos prácticos su acción se aproximó a la erradicación. Sin embargo, no es posible todavía predecir el tiempo que transcurre entre las últimas aplicaciones y una nueva aparición de la enfermedad. Será necesario efectuar investigaciones posteriores antes de poder dar una recomendación definitiva sobre el número de aplicaciones requeridas para controlar la enfermedad.

LITERATURA CITADA

1. ORELLANA, R. G. Chemical control of pests and diseases of cacao. *Advances in Chemistry Series No. 13.* 1955. pp. 21-30.
2. _____ Diseases of cacao in Mexico, Nicaragua, Jamaica and Costa Rica. (Presented at the III Latin American Conference of Plant Breeders, Plant Pathologists, Entomologists and Soil Technicians, Bogotá, 1955).
3. ROGERS, D. P. The genus Pellicularia (Thelephoraceae). *Farlowia* 1(1):95-118. 1943.