

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 39

TRIMESTRE JULIO-SEPTIEMBRE 1989

NUMERO 3

CODEN: TURRAB 39(3)279-427

Determinación del potencial agroecológico para el cultivo del café (<i>Coffea arabica</i>) en Costa Rica. O E Rojas	279
Efecto de la cianamida hidrogenada en la semilla de café (<i>Coffea arabica</i> L.) cv. 'Caturra' I. Influencia en la germinación. J. Herrera, E Guevara, R Barboza	287
Estudo do efeito do processamento sobre residuo de clorotalonil em grãos de café. A M S M. Llistó, L G. Souza	293
Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones del nematodo nodulador del cafeto <i>Meloidogyne exigua</i> (Nemata: Heteroderidae) R López L Salazar	299
Prolina em cafeeiros submetidos a déficit hídrico. P Mazzafera, J P F Teixeira	305
<i>Meloidogyne arabicida</i> sp. n. (Nemata: Heteroderidae) nativo de Costa Rica: un nuevo y severo patógeno del cafeto. R López, L Salazar	313
Estudo da microsporogenese e formação de sementes de uma planta monossômica de café (<i>Coffea arabica</i> L.). E R Forni-Martins, N D da Cruz	323
Efecto de diferentes adherentes y formulaciones de una bacteria parasítica en el combate del ojo de gallo <i>Mycena citricolor</i> (Berk & Curt) Sacc. en el cafeto. S Calvo, E Vargas	328
Resistencia induzida no complexo <i>Coffea arabica</i> L. <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. et Br.: Fenóis e enzimas. P Mazzafera, A C N Magalhães	334
Empleo de bacterias antagonistas en el combate de la enfermedad ojo de gallo del cafeto causada por <i>Mycena citricolor</i> (Berk & Curt) Sacc. F Mora, C Ramirez, E Vargas, T Rodriguez	346
Caracterización morfológica del nematodo nodulador del cafeto <i>Meloidogyne exigua</i> (Nemata: Heteroderidae). I. Hembras y huevos. L Flores, R López	352
Caracterización morfológica del nematodo nodulador del cafeto <i>Meloidogyne exigua</i> (Nemata: Heteroderidae). II. Machos. L Flores, R López	361
Caracterización morfológica del nematodo nodulador del cafeto <i>Meloidogyne exigua</i> (Nemata: Heteroderidae). III. Segundos estados juveniles. L Flores, R López	369
Evaluación del nivel de resistencia horizontal a <i>Hemileia vastatrix</i> Berk et Br. en germoplasma de <i>Coffea arabica</i> L. y Catimor. R Santacero	377
Evaluación del equipo de aspersión motorizado de espalda, a bajo volumen, en el combate de la broca del fruto del cafeto <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferr) en Guatemala. F Carrillo, H Ochoa, B Decazy	387
Dinámica poblacional del minador de la hoja del cafeto <i>Leucoptera coffeella</i> y sus enemigos naturales en la zona de Nuevo San Carlos, Retalhuleu, Guatemala. O G Campos, B Decazy, F Carrillo	393
Sistemas agroforestales de café (<i>Coffea arabica</i>) con laurel (<i>Cordia alliodora</i>) y café con poró (<i>Erythrina poeppigiana</i>) en Turrialba, Costa Rica. VI. Balances hídricos e ingreso con lluvias y lixiviación de elementos nutritivos. A C Imbach, H W Fassbender, J Beer, R Borel, A Bonnemann	400
Ciclo biológico y reproducción partenogénica de la broca del fruto del cafeto <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferr.). R Muñoz	415
Notas y comentarios	421, 422, 423, 424, 425
Reseña de libros	425, 426, 427



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Determinación del Potencial Agroecológico para el Cultivo del Café (*Coffea arabica*) en Costa Rica¹

O E Rojas*

ABSTRACT

This paper establishes agro-ecological zones for the coffee crop in Costa Rica. Definitions of zoning units are based on the combination of three indexes: potential yield, climatic conditions needed for anthesis of coffee, and soil class. Potential yield was calculated by means of a production function which correlates the most important climatic variables (solar radiation and air temperature) to the biological processes which determine net biomass production (photosynthesis and respiration). A frequential analysis of rainfall was also used; it expresses water availability for the crop in terms of probability of occurrence of a certain amount of rainfall related to potential evapotranspiration (ETP) for the period under consideration. A period of ten days was selected for the analysis, as this is consistent with the water reserve in average soils. The discussion of climatic conditions necessary for coffee flower initiation is based on rainfall probabilities and the analysis of temperature. Units are classified and placed in decreasing order of probability of good yields, to facilitate interpretation for users of the resulting agroecological zoning map.

INTRODUCCION

Para su efectiva planeación y ejecución, todo programa de desarrollo agrícola deberá integrar dos etapas indispensables en la definición de políticas agrícolas. La primera etapa es la evaluación del potencial agroecológico de la micro o macro región que se desea desarrollar. Esta etapa relaciona el clima y el suelo de la región con los cultivos alternativos de posible fomento. Como resultado, se determinan cuáles de estos cultivos son, desde un punto de vista agroecológico, los más adecuados para incentivar. Con ello, se podrá realizar una explotación racional que sea acorde con la capacidad productiva de los recursos naturales, procurando a la vez el equilibrio y la conservación de los ecosistemas.

La segunda etapa se refiere a la evaluación del potencial socioeconómico de la región. En esta etapa se

¹ Recibido para publicación el 20 de julio de 1989.

La presente investigación se desarrolló dentro del marco de las actividades del proyecto PROMECAFE del IICA.

* Especialista en Agroclimatología. Escuela de Ingeniería Agrícola y Estación Experimental Fabio Baudrit Universidad de Costa Rica.

COMPENDIO

El presente trabajo muestra una zonificación agroecológica del cultivo del café en Costa Rica. Las unidades de zonificación son definidas mediante la combinación de tres índices: rendimiento potencial, condiciones climáticas necesarias para la antesis del cafeto y clase de suelos. El rendimiento potencial es calculado por medio de una función de producción que relaciona las variables más importantes de clima (radiación solar y temperatura del aire) con los procesos biológicos determinantes en la producción neta de biomasa (fotosíntesis y respiración). Además, se emplea el análisis frecuencial de lluvias el cual expresa la disponibilidad de agua para el cultivo, en términos de probabilidades de ocurrencia de una cantidad de lluvia relacionada con la evapotranspiración potencial (ETP), durante la formación de la flor del café. El período de análisis seleccionado fue de diez días, por guardar relación con la reserva hídrica de un suelo con características promedio. Las condiciones climáticas necesarias para la antesis del cafeto se fundamentan en el conocimiento de las probabilidades de ocurrencia de la precipitación y del análisis de la temperatura en la época de la floración. Las unidades son clasificadas y jerarquizadas de mayor a menor probabilidad de obtener buenos rendimientos, con el afán de facilitar a los usuarios la interpretación del mapa de zonificación agroecológica obtenido.

analizarán las variables socioeconómicas más importantes para el desarrollo de los diferentes cultivos que se hayan determinado, en la primera etapa, como ecológicamente factibles de explotar. Dichas variables podrían ser: la disponibilidad de capital en la zona, disponibilidad de mano de obra, infraestructura, costos de oportunidad, demanda por el producto, etc. La zonificación agroecológica es el instrumento más adecuado para alcanzar con éxito los objetivos de la primera etapa; resume en forma bastante clara para los economistas y planificadores agrícolas, el potencial agroecológico de la región bajo estudio.

En el presente artículo se pretende determinar el potencial agroecológico de las diferentes regiones del país, en relación al cultivo del café (*Coffea arabica*). Para ello, se introducen técnicas de análisis agroclimático que se integran a los estudios clásicos del uso potencial del suelo; se espera que estas técnicas sirvan como una contribución a la metodología de zonificación agroecológica de cultivos. No se pretende abordar el campo de la segunda etapa, pero, se considera que éste deberá ser el paso inmediato a realizarse.

MATERIALES Y METODOS

Se tomó como base para el presente trabajo, la división de Costa Rica en regiones físico-geográficas del Instituto Meteorológico Nacional para realizar los análisis y las estimaciones de tipo agroclimático por región homogénea. Se empleó una base de tiempo de diez días para estudiar cada variable climática

Como guía general, se utilizó el esquema metodológico desarrollado en la década de los años setenta por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) (10, 16) con las modificaciones introducidas por Eldin y Rojas (6, 20). Las etapas que comprende dicho esquema son:

a) **Primera etapa:** Definición de los requerimientos agroecológicos del cultivo.

b) **Segunda etapa:** Formación de un banco de datos meteorológicos y estimación de los elementos climáticos deficitarios para el área en estudio.

En esta etapa se emplearon los datos de 101 estaciones meteorológicas (precipitación diaria, brillo solar y temperaturas máxima y mínima), con más de 20 años de registro. Se emplearon las ecuaciones propuestas por Rojas (21) para estimar la duración de la insolación y la temperatura

c) **Tercera etapa:** Definición del periodo de cultivo por medio del análisis frecuencial de lluvias

Esta análisis tiene por objetivo estudiar la disponibilidad de agua para el cultivo del café, a lo largo del año (22, 23). Emplea, en lugar de promedios, las probabilidades las cuales tienen un mayor significado e interés en la producción agrícola. El periodo de cultivo es constituido por las décadas que presenten una frecuencia superior a 0.75 de que la lluvia acumulada por diez días supere la mitad de la evapotranspiración potencial (ETP/2). Para el cálculo de la ETP, se utilizó la fórmula de Priestley-Taylor (19)

d) **Cuarta etapa:** Definición de las potencialidades de producción para el café

Para el caso específico del café, se escogió un modelo de simulación del crecimiento desarrollado por de Wit *et al.* (5) y que ha sido utilizado por la FAO para realizar estudios de zonificación agroclimática (7).

Esta función relaciona básicamente las variables del clima más importantes (radiación solar y temperatura del aire) con los procesos biológicos determinan-

tes en la producción neta de biomasa (fotosíntesis y respiración), bajo el supuesto de un buen abastecimiento de agua y nutrimentos. El supuesto de abastecimiento de agua es sustentado por los resultados del análisis frecuencial de lluvias, esto es, por la definición del periodo de cultivo en el cual se integrará esta función de producción de biomasa. La expresión matemática es la siguiente:

$$PN = \frac{0.36 \text{ bgm}}{1/N + 0.25 \text{ ct}}$$

en donde:

PN: producción neta de materia seca del café durante los N días del periodo de cultivo, expresada en toneladas por hectárea

bgm: tasa máxima de producción bruta de biomasa del cultivo.

N: duración del periodo de cultivo en días

ct: coeficiente de respiración del cultivo

El valor de ct depende de la temperatura promedio y bgm depende de la tasa máxima de fotosíntesis de las hojas del cultivo en condiciones de saturación por la luz. Evidentemente, la especie *Coffea arabica* no tendrá la misma tasa máxima de fotosíntesis que la especie *Coffea canephora* para iguales rangos de temperatura. El café Arabica se ajusta a una planta con metabolismo C₃ mientras que el tipo Robusta se ajusta a un metabolismo C₃ especial. Debido a esta diferencia, este último se adapta a zonas con temperaturas más altas que las toleradas por *C. arabica*. Este aspecto es considerado por el modelo de Wit.

e) **Quinta etapa:** Análisis de las variables fisioedáficas.

A partir del conocimiento de los requerimientos edáficos y de las prácticas culturales más aconsejables (riego, mecanización, etc.) para el cultivo, determinadas en la primera etapa, se analiza la información disponible sobre los aspectos topográficos y edáficos del territorio a zonificar. En este caso, se reclasificaron las unidades del mapa de Asociación de Subgrupos de Suelos de Costa Rica (17), según su aptitud para el cultivo del café.

f) **Sexta etapa:** Síntesis cartográfica sucesiva

La síntesis cartográfica consiste en la sobreposición y síntesis sucesiva de los mapas elaborados en las etapas anteriores. Esto es, se discriminan aquellas áreas del territorio que no son contempladas por los

mapas de índices agroclimáticos o por el mapa de las variables fisiológicas. Los mapas originales fueron trazados a escala 1:500 000

g) **Sétima etapa:** Presentación de los resultados finales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Definición de los requerimientos agroecológicos del cultivo (Primera etapa)

Al igual que todo cultivo, el café presenta límites de adaptación a las diferentes condiciones climáticas. La influencia de la luz (radiación solar) se manifiesta en los cultivos según tres características: intensidad (irradiación), calidad y duración (fotoperíodo). De éstas, la que más influencia tiene sobre el comportamiento del género *Coffea* es la intensidad lumínica (4)

El abuso de la sombra es la causa aparente de los bajos rendimientos en cafetos sembrados bajo este sistema (24). La poca luz, unida a la alta humedad relativa, favorece la incidencia de enfermedades que causan problemas en la maduración y recolección (2)

Cannell (3) ha puesto en duda el papel de la duración del día en el control del crecimiento y la floración del café; sugiere que los cambios estacionales en el crecimiento y en el desarrollo de las flores de los árboles adultos, en la mayoría de las áreas en donde se cultiva el café, son regulados por factores diferentes al fotoperíodo, principalmente fluctuaciones de temperatura y de lluvia. En las regiones tropicales, la fluctuación de la longitud del día durante el año es tan poca que se asume carece de influencia sobre el crecimiento (14).

Con relación a la precipitación, existe diversidad de opiniones sobre los rangos óptimos para el café. Carvajal (4) indica que una precipitación anual entre 1 600 y 1 800 mm es ideal y que el mínimo absoluto es cerca de 1 000 mm; por debajo de esta precipitación, los rendimientos son fluctuantes y bajos (9). Para Campos (2), el rango ideal se encuentra entre 2 000 y 2 300 mm, con un número de 145 días de precipitación y un máximo de 245.

Por las razones anteriores, es importante que exista una buena distribución de las lluvias; además, para que se favorezca el crecimiento del café, es necesario un período seco. El período seco parece ser im-

portante para el crecimiento de la raíz, la maduración de las ramas formadas durante el período lluvioso previo, la iniciación de flores y la maduración de los frutos (11, 14).

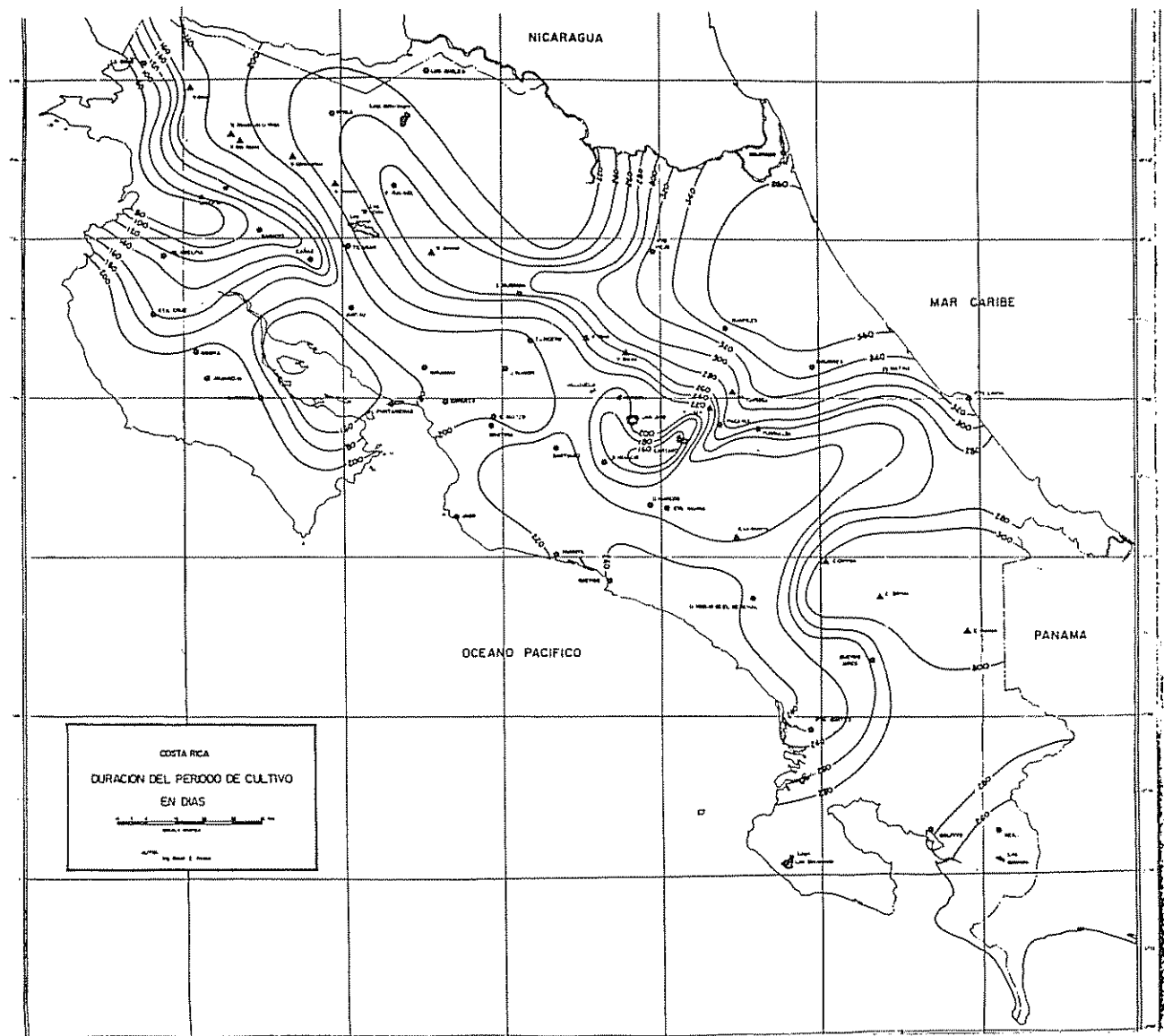
Existe abundante literatura que indica que la floración del café está asociada con la distribución de las lluvias y que la apertura de las flores puede ser inducida experimentalmente, manipulando los períodos de sequía y de humedad (1, 8, 12, 15, 18). Aún más, algunos autores (13) hablan de lluvias de floración, cuya magnitud oscila entre 23.9 a 38.2 mm. Este fenómeno, en el cual la antesis (apertura de las flores) ocurre en respuesta a lluvias seguidas de un período de estrés hídrico, se denomina "hidroperiodismo" (1)

Según Carvajal (4), en la mayoría de las regiones cafetaleras del mundo, la fluctuación estacional de la temperatura no constituye problema, excepción hecha en algunas áreas de Brasil, en donde ocurren heladas. Como temperatura media del mes más cálido se señalan valores de 23 y 27°C. Se ha comprobado que temperaturas arriba de este límite aceleran el crecimiento vegetativo y frecuentemente ocurre muerte descendente, así como floración y fructificación limitadas (4, 8, 12). Temperaturas promedio del mes más frío, entre 16 ó 13°C, provocan el cese del crecimiento por lo que el arbusto alcanza poco tamaño (4). El crecimiento vegetativo parece favorecerse más con la disminución de la temperatura que con el aumento de la misma. Las altas temperaturas inhiben el crecimiento, ya que arriba de 24°C comienza a disminuir la fotosíntesis neta, tornándose insignificante a 34°C.

Definición del período de cultivo por medio del análisis frecuencial de lluvias (Tercera etapa)

La definición del período de cultivo es básica para integrar la función de producción del café; además, la misma proporciona información importante en la determinación de las áreas con potencial agroecológico para este cultivo.

García (9) señala, como límite de distribución en el tiempo, cuatro a tres meses de sequía relativa y de ser posible, correspondiente, estos meses al período de reposo vegetativo que precede a la floración principal. Campos (2) menciona, como número máximo de días con precipitación, 145. De lo anterior se deduce que períodos potenciales de crecimiento, de duración superior a los 260 días, no son adecuados para el cultivo del café. En el Mapa 1 se aprecia que gran parte del Atlántico y de la región Norte del país, presentan una inadecuada distribución de la precipitación, con períodos de hasta 360 días de lluvia por año.



Al analizar los gráficos del estudio frecuencial para regiones cuyos resultados se encuentran sobre la isolinia de los 260 días (Turrialba, Ciudad Quesada), se nota que la falta de una época seca definida producirá efectos desfavorables en el rendimiento final del café. Esto provocará que las yemas florales crezcan continuamente, resultando en floraciones sucesivas, con las consecuentes desventajas la cosecha obtenida, en calidad del grano y en la economía del cultivo (Figs 1 y 2)

El caso contrario se presenta en las zonas con una duración menor para el periodo de cultivo (Fig. 3). Es interesante resaltar el hecho de que, dentro de la época seca, ocurren lluvias que aunque no sobrepasan el valor de ETP/2 para la década, serían suficientes

para provocar la antesis del café. Esto se aprecia en la Fig. 3, para la región de Naranjo, a finales del mes de febrero. La frecuencia para la lluvia acumulada por diez días es baja (0.2); sin embargo, si el análisis se hiciera en función de una lluvia aislada para un día, su frecuencia de ocurrencia sería mayor. Este fenómeno implica picos de floración lo cual es ventajoso al provocar una mayor homogeneidad en la maduración del grano.

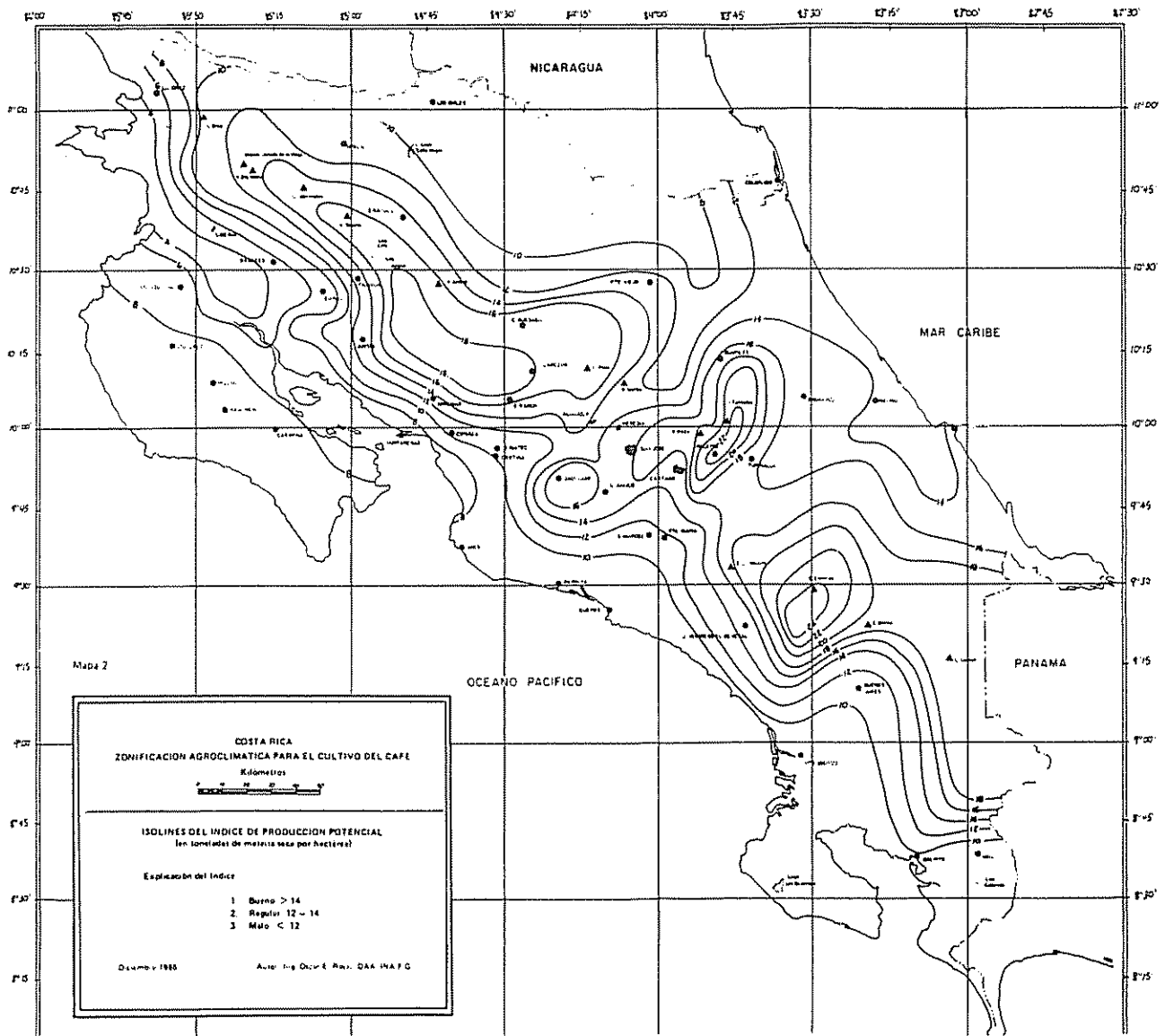
Definición de las potencialidades de producción para el café (Cuarta etapa)

El valor del índice para PN descrito con anterioridad, aunque se expresa en toneladas de materia seca por hectárea, debe ser considerado ante todo como

un valor relativo; se recuerda que su propósito principal es permitir la definición y comparación de zonas geográficas diferentes, desde el punto de vista de las potencialidades climáticas de producción agrícola. El índice se calculó para 101 estaciones meteorológicas; a partir de estos resultados por estación, se pasa al estudio y análisis de los campos escalares para el trazado de las isoclinas del índice de producción potencial. De este trazado resulta el Mapa 2, del cual se derivan varias observaciones interesantes. La primera se refiere al potencial sobresaliente de todo el Valle Central de Costa Rica, el cual se encuentra limitado por la isoclinea de las 14 toneladas de materia seca por hectárea. Una segunda observación se relaciona con los cuatro focos de producción de biomasa neta. El primero, entre Zarcero y Tilarán; el se-

gundo, alrededor de Santiago de Puriscal; el tercero, entre Pacayas y el volcán Turrialba y el cuarto, alrededor del Cerro Chirripó. Estos focos se ubican en las zonas altas del país, en donde las temperaturas disminuyen. Se recuerda que el crecimiento vegetativo del cafeto parece favorecerse más con la disminución de la temperatura que con el aumento de la misma. Las altas temperaturas inhiben el crecimiento ya que, arriba de 24°C, comienza a disminuir la fotosíntesis neta tornándose insignificante a 34°C (14)

Estos focos de alta producción de biomasa presentan las siguientes características climáticas: exceptuando el segundo (alrededor de San Ignacio de Acosta), los otros focos se caracterizan por las temperaturas promedio bajas, durante la época seca, siendo infe-



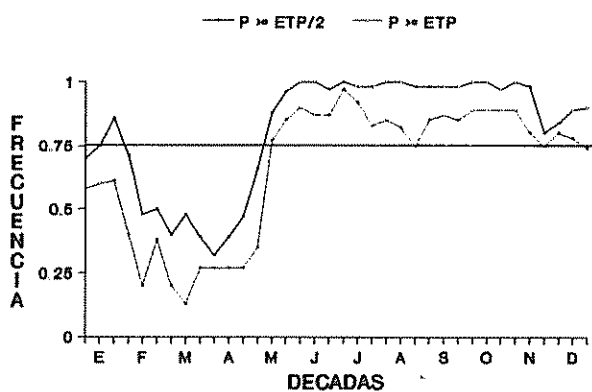


Fig 1 Análisis frecuencial de lluvias en relación a la ETP para la estación Turrialba

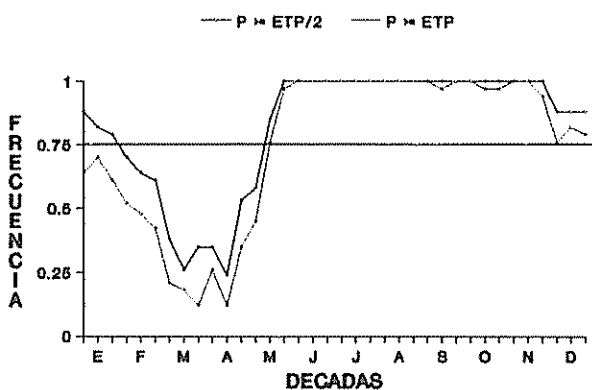


Fig 2 Análisis frecuencial de lluvias en relación a la ETP para la estación Ciudad Quesada

rior a los 18°C (Pacayas, Zarcero, Chirripó) Estas temperaturas presentan el inconveniente de influir sobre la duración del periodo de crecimiento y de desarrollo del fruto. A temperaturas promedio del orden de los 18-20°C, en San Antonio de Coronado, Costa Rica, el fruto tarda casi nueve meses para madurar. Esto último implica inconvenientes, desde el punto de vista de una explotación comercial de café, por lo que estas regiones altas deberán ser consideradas como marginales para este cultivo

Análisis de las variables fisioedáficas (Quinta etapa)

Se reclasificaron las unidades del mapa de la Asociación de Subgrupos de Suelos de Costa Rica, según su aptitud para el cultivo del café. Se obtuvieron tres categorías: suelos aptos, suelos moderados y suelo no aptos. Además, como información adicional, se señaló, para los suelos no aptos, el tipo de restricción de

cada unidad. Se indicaron las siguientes restricciones: drenaje, profundidad, pedregosidad, fertilidad, textura y salinidad

Síntesis cartográfica (Sexta etapa)

La determinación de las zonas con potencial agroecológico para el cultivo del café, se obtuvo mediante la sobreexposición de los tres mapas anteriormente descritos (Escala: 1:500 000).

Cada uno de estos índices fueron clasificados en tres categorías: bueno, regular y malo, con el propósito de facilitar su interpretación a los utilizadores de los mapas de zonificación

Para el índice de producción potencial de biomasa se consideró, como límite inferior, la isolínea de 12 toneladas de materia seca por hectárea y como límite superior, la de 20 toneladas. En relación con el límite inferior, las altas temperaturas se presentan como limitantes al aumentar la tasa de respiración, disminuyendo la producción neta de biomasa. Este índice se hace difícil de justificar, en términos solamente de producción de biomasa, ya que se desconocen dos aspectos importantes: cuál es el nivel de biomasa mínima para obtener una producción rentable en café y cuánto de esa biomasa representa o se usa en la formación del grano. Al contrario, las bajas temperaturas son las que definen el límite superior al disminuir la velocidad de los procesos de desarrollo, crecimiento y formación del grano. En relación con el índice de duración potencial del periodo de cultivo, se consideró la isolínea de 160 días como el límite inferior para una buena disponibilidad de agua, en condiciones de secano, para el cafeto, durante el año. Como límite superior, la isolínea de 260 días, a partir de la cual existen problemas por el exceso de precipitación que provoca floraciones sucesivas e influye negativamente sobre las características organolépticas provocando condiciones limitadas de

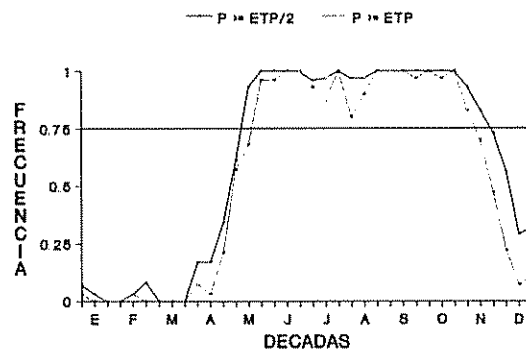


Fig 3 Análisis frecuencial de lluvias en relación a la ETP para la estación Naranjo

acidez, cuerpo y aroma. Es característico de las regiones con precipitaciones continuas durante el año, el que las plantaciones de café presenten simultáneamente flores, frutos verdes, frutos en proceso de maduración y maduros. Esto provoca que, al consumir el café en la tasa se presente un sabor característico denominado "grassy"

Con base en las anteriores consideraciones se obtuvo la clasificación presentada en el Cuadro 1

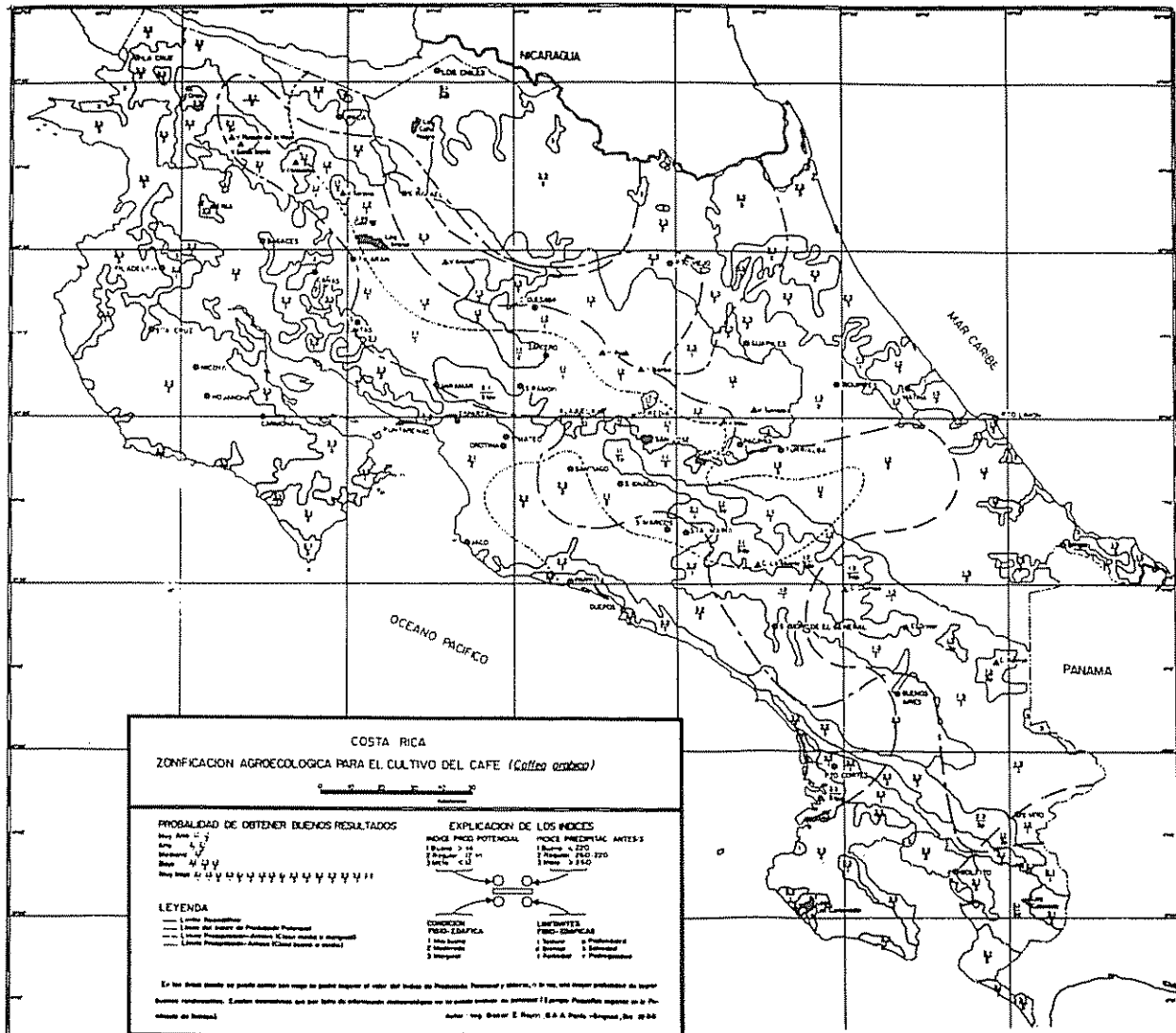
Presentación resultados finales (Sétima etapa)

Como resultado de la síntesis cartográfica, se obtiene el Mapa 3, el cual muestra la zonificación agroecológica del café en Costa Rica, a una escala de 1:500.000. Las unidades delimitadas fueron caracterizadas por un número fraccionario (a/b), con el propósito de facilitar su interpretación. Este número

tiene el siguiente significado: en el numerador aparecen dos números; el primero representa la clasificación del índice de producción potencial, o sea, señala si es posible esperar un buen rendimiento en biomasa por hectárea. El segundo número representa la categoría del índice de precipitación-antesis e indica cuáles son las condiciones del clima con relación a la floración y la formación del grano de café. Por otro lado, en el denominador aparece un número acompañado de una letra; el número representa la categoría fisioedáfica y la letra las posibles limitantes que deben ser consideradas para un manejo eficiente del suelo.

CONCLUSIONES

En cultivos tradicionales, como el café, es interesante comprobar cómo los resultados teóricos se aproximan con bastante exactitud a la experiencia práctica.



Cuadro 1. Clasificación de los índices de potencialidades de producción para *Coffea arabica*.

Categoría	Índice de producción potencial	Índice precipitación antesis
Bueno	14-20	160-220
Regular	12-14	260-220
Malo	<12 ó >20	<160 ó >260

ca acumulada por el agricultor, en el transcurso de los años. Es así como el Valle Central de Costa Rica presenta el potencial agroecológico más atractivo para *C. arabica*, algunas zonas de Turrialba y de San Carlos deberían ser consideradas como marginales. En el estudio de zonificación de los cultivos tradicionales, pareciera existir mayor interés en determinar aquellas áreas marginales y poder justificar, con un criterio científico, el parámetro ecológico limitante. Lo anterior contrasta con el objetivo buscado en los estudios de zonificación para cultivos no tradicionales, en donde el interés primordial es la definición de las zonas de buen potencial agroecológico para la introducción de nuevos cultivos.

LITERATURA CITADA

- ALVIN, P. DE I. 1960. Fisiología del crecimiento y de la floración del café. *Café* 2(6):57-64.
- CAMPOS, C.E. 1978. El café en Costa Rica. Información General. San José, C.R., Departamento de Investigaciones en Café. 16 p.
- CANNEL, G.R. 1972. Photoperiodic response of mature trees of arabica coffee. *Turrialba* 22:198-206.
- CARVAJAL, J.F. 1972. Café-cultivo y fertilización. Berna, Instituto Internacional de la Potasa. 141 p.
- DE WIT, C.T. 1971. A dynamic model of plant and crop growth. In: Potential crop production. A case study. Ed. by P.P. Wareing, J.R. Cooper. London, Heinemann Educational Books. p. 117-142.
- ELDIN, M. 1983. A system of agroclimatic zoning to evaluate climatic potential for crop production. In: Agroclimatic information for development. Ed. by D.F. Cusack. Boulder, Colorado, Westview. p. 83-91.
- FAO, 1981. Report on the agro-ecological zones project. v. 3. Methodology and results for South and Central America. FAO, Rome. World Soil Resources Report no. 48. 251 p.
- FREDERICO, D.; MAESIRI, M. 1970. Ciclo de crecimiento dos botões florais de café. *Revista Ceres (Brasil)* 27(92):171-181.
- GARCIA, J. 1968. Clima agrícola del café (*C. arabica* L.) y zonas potenciales en los Andes de Venezuela. *Agronomía Tropical* 28(1):57-85.
- GARCIA, J. 1972. Una contribución a la metodología de la zonificación ecológica de cultivos anuales. Tesis Turrialba, C.R., CATIE. 155 p.
- GOMEZ, G.L. 1972. Influencia de los factores climáticos sobre la periodicidad del crecimiento del café. *Cenicafé* 28(1):3-17.
- GOPAL, N.H.; VASUDEVA, N. 1973. Physiological studies on flowering in arabica coffee under South Indian conditions I. Growth of flower buds and flowering. *Turrialba* 23(2):143-153.
- GOPAL, N. *et al* 1975. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions II. Changes in water content, growth rate, respiration and carbohydrate metabolism of flower buds during bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 25(1):29-36.
- MAESTRI, M.; BARROS, R. 1981. Ecofisiología de cultivos tropicales. *Café*. San José, IICA. Publicación Miscelánea no. 288. 50 p.
- MAGALHAES, A.C.; ANGELOCCI, L.R. 1976. Sudden alterations in water balance associated with flower bud opening in coffee plants. *Journal of Horticultural Science* 51:419-423.

Las áreas en donde se evidenció un bajo potencial agroecológico para el cultivo comercial de *Coffea arabica*, esas serán las primeras áreas que tendrán que ceder lugar a cultivos más apropiados al medio agroecológico de la región, dentro de una política racional de diversificación de cultivos.

Las nuevas técnicas de manejo y prácticas culturales tendientes a aumentar la productividad del café, se deberán proyectar en las regiones con un mayor potencial agroecológico. En esta forma, se podrán liberar las áreas con potencial marginal, sin que esto implique una disminución de la producción nacional.

Lo anterior no es fácil de realizar a corto plazo, pero, con una adecuada política de incentivos bien dirigida (por ejemplo: crédito sólo para los cultivos ubicados en las zonas con buen potencial agroecológico) y con el apoyo de una eficiente campaña de extensión agrícola para introducir los cultivos alternativos en las áreas marginales para el café, se podrá, en un futuro, lograr un mejor uso de los factores de producción.

16. MONTOYA, J.M. 1971. Informe sobre el proyecto zonificación ecológica de los cultivos de consumo básico y tradicionales de exportación para los países del Mercado Común Centroamericano. Turrialba, C.R., IICA (100 mapas 1:500.000) 59 p.
17. OFICINA PLANIFICACION SECTORIAL AGROPECUARIA 1979. Manual descriptivo de asociaciones de subgrupos de suelos de Costa Rica. San José 236 p.
18. PIRINGER, A.; BORTHWICK, H. 1955. Photoperiodic responses of coffee. Turrialba 5(3):72-77.
19. PRIESTLEY, C.; TAYLOR, P. 1972. On the assessment of surface heat flux and evaporation using large scale parameters. Monthly Weather Review 100:81-92.
20. ROJAS, O.; ELDIN, M. 1983. Zonificación agroecológica para el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum sp*) en Costa Rica. San José, LAICA-IICA. Serie Publicaciones Misceláneas. no 398. 120 p.
21. ROJAS, O. 1985. Estudio agroclimático de Costa Rica. San José, IICA. Serie Publicaciones Misceláneas no 617. 178 p.
22. ROJAS, O. 1986. Estudios agroclimáticos y zonificación agroecológica de cultivos: Metodología y resultados. Serie Publicaciones Misceláneas no. A1/CR-86-006. San José, IICA. 106 p.
23. ROJAS, O. 1987. Zonificación agroecológica para el cultivo del café (*Coffea arabica*) en Costa Rica. San José, IICA. Serie Publicaciones Misceláneas no A1/OCR-87-007. 83 p.
24. VASQUEZ, R. 1983. El uso de la sombra en el cafetal. Noticiero del Café, (C.R.). 19(221):2-3

Efecto de la Cianamida Hidrogenada en la Semilla de Café (*Coffea arabica* L.) cv. 'Caturra' I. Influencia en la Germinación¹

J. Herrera*, E. Guevara**, R. Barboza*

ABSTRACT

The effect of hydrogen cyanamide on the germination and storage of coffee seeds was determined on whole seeds, seeds without endocarp and isolated embryos. These materials were immersed in different concentrations, ranging between 0 and 5% of the commercial product Dormex, for periods between 0 and 15 minutes. Increasing doses of hydrogen cyanamide and longer periods of immersion proved to be detrimental on germination, hypocotyl and radicle length, plantlet dry weight and embryo growth. Significant differences were observed between seeds with and without endocarp. A rapid translocation of cyanamide to the embryo was detected, delaying its initial development. The effect of this substance upon germination metabolism and the role of the endocarp is discussed.

¹ Recibido para publicación el 22 de mayo de 1989

* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica

** Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.

Los dos primeros autores son miembros del programa financiero de apoyo a investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), San José, Costa Rica.

COMPENDIO

Se determinó el efecto de la cianamida hidrogenada sobre la germinación y el almacenamiento de la semilla de café. El material en estudio consistió de semilla entera, semilla despergaminada y de embriones aislados. Estos materiales se sumergieron en concentraciones de 0 a 5% del producto comercial por tiempos que oscilaron entre 0 y 15 minutos. Dosis crecientes de cianamida y tiempos de inmersión mayores provocaron un efecto detrimental en el porcentaje de germinación, longitud del hipocótilo, longitud de la radícula, peso seco de la plántula y crecimiento del embrión. Se observaron diferencias marcadas entre la semilla con y sin endocarpio. Se evidenció una rápida translocación de la cianamida hidrogenada hacia el embrión, el cual mostró un retardo en su desarrollo inicial. Se discute el efecto de esta sustancia sobre el metabolismo de la semilla, así como el posible papel del endocarpio.

INTRODUCCION

Las semillas de las especies que pueden ser almacenadas por períodos prolongados se denominan ortodoxas; éstas pueden ser secadas a contenidos bajos de humedad sin daño y su longevidad aumenta al disminuir la humedad y la temperatura. Por el contrario, las semillas llamadas recalcitrantes necesitan alta humedad y en ocasiones altas tempera-

turas para mantener su viabilidad (13, 14). Entre éstas, se ha clasificado a la semilla de café (*Coffea arabica* L.), debido a su necesidad de alta humedad y los periodos de tiempo reducidos en que se logra mantener su viabilidad (6, 9).

Otro de los problemas que presenta la semilla de café es una germinación sumamente desuniforme, en un periodo prolongado de tiempo (entre 30 y 77 días) (2, 10)

Varios autores (2, 18, 20), han atribuido este atraso en la germinación a la presencia del endocarpo (pergamino), el cual puede constituir una barrera física al agua o al oxígeno Takaki y Dietrich (16) lo atribuyen a la presencia de sustancias inhibidoras en el embrión y al hecho de que la madurez fisiológica de la semilla es alcanzada con bastante anticipación a la cosecha, por lo que, al llegar ésta hay semillas que han perdido cierta capacidad de germinación.

Con el fin de mantener la viabilidad y uniformizar la germinación de la semilla se han probado diferentes métodos (16, 17)

Recientemente, se ha desarrollado un regulador del crecimiento sintético, denominado cianamida hidrogenada, cuyo ingrediente activo —producto de la hidrólisis— es el cianuro. Este compuesto ha sido utilizado experimentalmente en forma exitosa para estimular la brotación en yemas de plantas en reposo (11), al activar el ciclo de las pentosas-fosfato, lo cual conlleva a la iniciación del crecimiento (1, 12)

En vista de su efecto sobre los procesos de reposo de diversas especies, se ha considerado la posibilidad de que esta sustancia pueda ejercer un efecto promotor de la germinación, como lo han sugerido Pirrung y Braumann (12), lo cual sería de gran interés en especies que presentan semillas con problemas de reposo prolongado o germinación desuniforme.

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto de la cianamida hidrogenada sobre la germinación y conservación de la viabilidad de la semilla de café (*Coffea arabica* L.)

MATERIALES Y METODOS

1. Experimento con semillas enteras

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica.

Se utilizó semilla del cultivar Caturra, procedente del Centro para Investigaciones en Café (CICAFE),

situado en San Pedro de Barva, Heredia. La semilla fue secada hasta un contenido de humedad del 20% y almacenada por un corto periodo de tiempo a 20°C.

Se realizaron tratamientos de inmersión por 0, 5 y 10 minutos en soluciones de cianamida hidrogenada en concentraciones de 0, 1, 2, 3 y 4% de la formulación comercial (Dormex, 50% i a). Estas concentraciones han sido mencionadas por otros autores como las más satisfactorias en la ruptura del reposo en yemas (11)

Posterior a la inmersión, la mitad del lote de semilla fue sembrada en bandejas con arena tratada de acuerdo a las normas de la International Seed Testing Association (ISTA, 1976) y colocadas en una cámara de germinación a 30°C y 98% de humedad relativa. La otra mitad fue secada y almacenada en bolsas de polietileno, en una incubadora a 20°C por tres meses, antes de ser sembrada.

Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones de 25 semillas, en un diseño irrestricto al azar. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación, longitud de hipocotilo y longitud de radícula. Los resultados se evaluaron 50 días después de la siembra.

2. Experimento en semillas sin pergamino

Se utilizó semilla del mismo lote del experimento 1. La semilla fue despergaminoada manualmente. Se sumergió durante 5, 10 y 15 minutos en las siguientes dosis de Dormex: 0, 1, 3 y 5%. Luego, se colocó la semilla sobre papel de germinación en una cámara a 30°C y 98% de humedad relativa.

Se evaluó el porcentaje de semillas germinadas cada dos días, a partir del quinto y hasta completar 15 días, considerándose germinadas aquellas cuya radícula fue mayor de 2 mm.

Además, se evaluó el porcentaje final de germinación, la longitud del hipocótilo y el peso seco de las plántulas.

Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones de 50 semillas, cada una en un diseño irrestricto al azar.

3. Experimento en embriones aislados

Este experimento se realizó debido a los resultados obtenidos en los dos anteriores y buscó determinar el efecto de la cianamida hidrogenada sobre el crecimiento del embrión.

Utilizando la misma semilla de los experimentos anteriores, se contaron 100 semillas, se despergamina-

ron y se colocaron por 48 horas en cajas de petri con papel de filtro Whatman 40, humedecido con agua destilada, en una cámara de germinación a 30°C, para favorecer la imbibición. Transcurrido ese tiempo, se separó en lotes de 25 semillas, que se sumergieron por 10 minutos en concentraciones de Dormex de 0, 1, 3 y 5% y luego se colocaron, por setenta y dos horas, bajo las mismas condiciones anteriores

Se procedió a extraer los embriones de las semillas cuidando de que no sufrieran daño mecánico. Los embriones y los cotiledones fueron colocados en diferentes platos de petri, sobre un sustrato de papel de filtro humedecido con agua destilada

Se observó el desarrollo del embrión durante ocho días, posteriores a su extracción. Se evaluó la longitud del mismo a los cinco y ocho días, así como los cambios en coloración que presentó el embrión.

RÉSULTADOS

Experimento en semillas enteras

Los resultados del análisis del porcentaje de germinación (Fig 1), muestran que los valores mayores fueron obtenidos con el tratamiento testigo (95.5%), siendo éste significativamente mayor a las dosis de 1% (77.5%) y 2% (67.5%), entre las cuales no se detectaron diferencias. Los resultados más bajos se obtuvieron con las dosis de 3% (48%) y 4% (21.5%), siendo esta última significativamente inferior a la primera

No se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de inmersión.

En el análisis de la longitud del hipocótilo (Fig 2), aunque parece existir la tendencia por parte del testi-

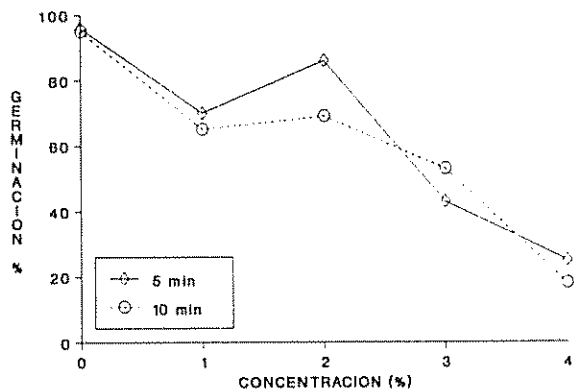


Fig 1. Efecto de dos tiempos de inmersión y cinco concentraciones de cianamida hidrogenada (formulación comercial Dormex) sobre la germinación de café con pergamino.

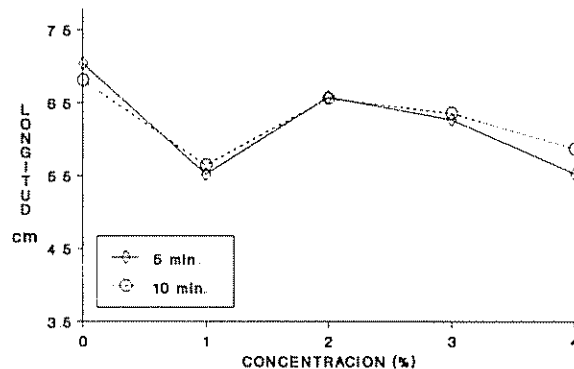


Fig 2. Efecto de dos tiempos de inmersión y cinco concentraciones de cianamida hidrogenada (formulación comercial Dormex) sobre la longitud del hipocotilo, en semilla con pergamino.

go de producir un hipocótilo más largo, no se encontraron diferencias con las concentraciones de 2 y 3% de Dormex. Significativamente menores fueron los valores obtenidos con dosis de 1 y 4%. En este caso, el comportamiento con los diferentes tiempos de inmersión fue el mismo

Finalmente, en el estudio de la longitud de la radícula (Fig 3), los resultados obtenidos muestran que la cianamida hidrogenada no afectó el desarrollo de este órgano. Únicamente se encontraron diferencias significativas entre el testigo y la concentración de 4%.

Un lote de la semilla utilizada en este experimento fue almacenada en bolsa sellada en una cámara a una temperatura de 5°C. Después de tres meses fue extraída y se evaluó su capacidad germinativa. Con excepción del testigo, no hubo germinación cuando la semilla fue tratada con cianamida hidrogenada.

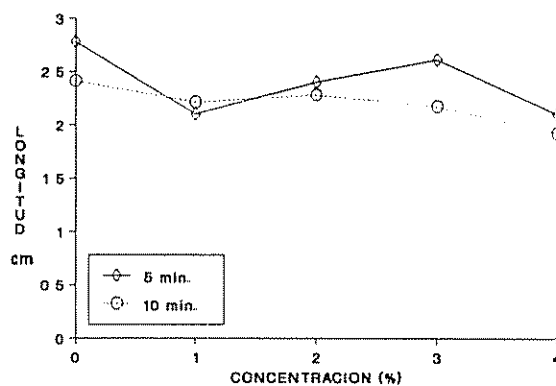


Fig 3. Efecto de diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de cianamida hidrogenada (formulación comercial Dormex) sobre la longitud de la radícula en semilla de café.

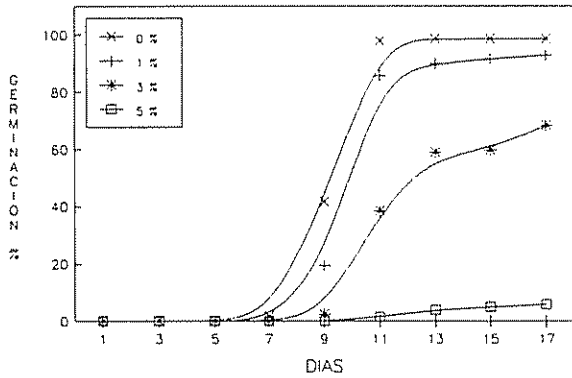


Fig 4 Germinación de la semilla de café durante diecisiete días después de ser tratada con diferentes concentraciones de cianamida hidrogenada (solución comercial al 50% i a).

Experimento en semillas sin pergamino

En la Fig 4, se observa el efecto de las diferentes dosis de cianamida hidrogenada sobre la velocidad de germinación de la semilla de café. La mayor velocidad fue alcanzada con el tratamiento testigo y con la dosis más baja de cianamida (1%) Considerablemente menor fue la velocidad con concentraciones de 5%; valores intermedios se obtuvieron con la dosis de 3%

El análisis de la germinación final (Fig 5), no detectó diferencias significativas entre el testigo y la dosis de 1%, pero sí con las dos restantes (3 y 5%), que, a su vez, fueron distintas entre sí.

Se encontraron diferencias altamente significativas entre tiempos de inmersión, obteniéndose los mayores valores con un tiempo de cinco minutos. Entre los tiempos de 10 y 15 minutos no hubo diferencias.

Tanto la longitud del hipocótilo como el peso seco de la plántula mostraron un comportamiento prácticamente idéntico (Figs. 6 y 7). En ambos casos, hubo

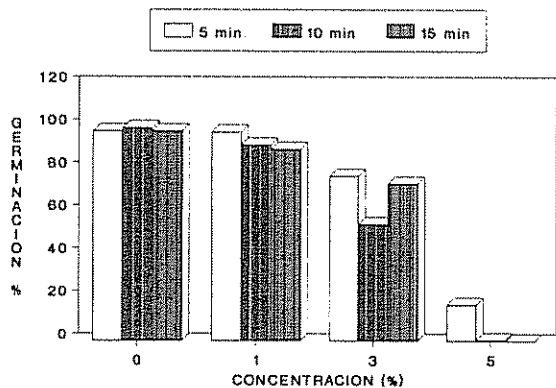


Fig 5. Efecto de diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de cianamida hidrogenada (formulación comercial Dormex) sobre la germinación de semilla de café despergaminaada.

diferencias significativas entre todas las concentraciones de cianamida hidrogenada. Los valores mayores se obtuvieron con el testigo y los menores con la concentración de 5%. Los valores intermedios fueron ocupados, en orden creciente, por las concentraciones de 3 y 1%, respectivamente.

Se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de inmersión en ambas variables, obteniendo los valores mayores la exposición por cinco minutos a la cianamida hidrogenada. No hubo diferencias significativas entre los tiempos de 10 y 15 minutos.

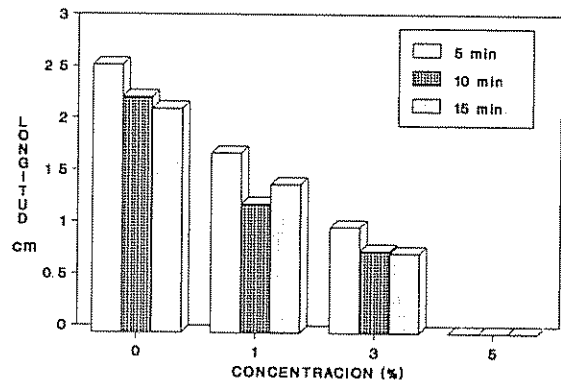


Fig 6. Efecto de diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de cianamida hidrogenada (solución al 50% i a) sobre la longitud del hipocótilo en semilla de café.

Experimento en embriones aislados

Los resultados muestran (Fig 8) que cinco días después de extraídos los embriones, el tamaño de aquéllos tratados con cianamida hidrogenada fue considerablemente menor que los del testigo; sin embargo, a los ocho días se observó una fuerte elongación en los embriones tratados, alcanzando casi la misma longitud del testigo.

Los cotiledones aislados presentaron, a los cinco días, una coloración verde intensa en algunas zonas de los mismos. Esta coloración se generalizó a los ocho días. No se detectaron otros cambios.

DISCUSION

Efecto de la cianamida hidrogenada sobre la germinación y la brotación

La cianamida hidrogenada tiende a retardar la germinación de la semilla de café, despergaminaada o no, con las dosis utilizadas en este experimento.

Los resultados utilizando arena como sustrato muestran mayores variaciones entre dosis y entre

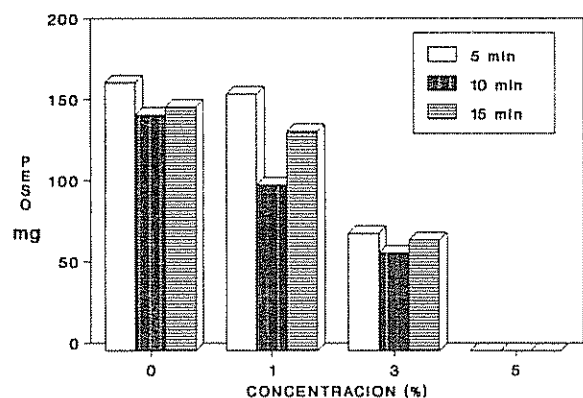


Fig 7 Efecto de diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de cianamida hidrogenada en solución al 50% i.a. sobre el peso seco de plántulas de café

tiempos de inmersión que cuando se utilizó papel. Sin embargo, en forma general, el comportamiento de la germinación en ambos experimentos fue similar. La utilización de papel y de semilla despergaminada permitió que el proceso germinativo se desarrollara en condiciones más uniformes, no siendo así en el caso de la arena, donde factores como la humedad de la misma pueden ser muy heterogéneos entre las diferentes unidades experimentales. Por otra parte, la eliminación del pergamino permite obtener resultados al cabo de dos semanas, tiempo muy inferior en comparación al observado en arena (30-50 días).

En comparación con las otras concentraciones de cianamida utilizadas, la concentración al 1% mostró un efecto negativo muy pronunciado sobre la germinación, independientemente del tiempo de inmersión (Fig. 1). Sin embargo, el hecho de que la semilla almacenada y evaluada tres meses después no mostrara el mismo comportamiento hace suponer que el resultado observado pueda ser debido a las condiciones microclimáticas de las bandejas utilizadas. En el caso del tratamiento con 1% de cianamida hidrogenada, puede haberse producido un mayor acúmulo de agua, lo cual afectó la germinación de la semilla.

Las diferencias observadas en la germinación final obtenida en los experimentos realizados sugieren que el pergamino constituyó una barrera física al proceso germinativo (19). Por ello, el uso de papel como sustrato y semilla desprovista de pergamino constituyen un mejor método para estudiar el proceso de germinación *sensu stricto* (4), así como el efecto de sustancias químicas sobre este proceso.

En forma general, las curvas de la Fig. 4 sugieren dos tipos de efecto sobre la germinación de la semilla: el primero causa un atraso del proceso mientras que el segundo lo disminuye con respecto al testigo. El resul-

tado negativo sobre la germinación de semilla almacenada por tres meses muestra que dosis elevadas de cianamida hidrogenada (2 a 2.5% i.a.) tienden a causar la muerte del embrión y por lo tanto, que esta sustancia no es adecuada para los procesos de conservación de semilla. Recientemente y con base en la evidencia acumulada por otros autores, Pirrung y Brauman (12) han sugerido que la síntesis de etileno libera cianuro y que ambas sustancias, al bloquear el proceso normal de respiración de la planta (7, 15), favorecen una vía alterna, resistente al cianuro, la cual interviene en los procesos de maduración y de germinación. Ello provoca un aumento en la respiración y en los niveles de ATP.

Por lo tanto, la cianamida provocaría un aumento del proceso metabólico de la semilla lo cual, en el caso de la semilla de café almacenada a 5°C, provocaría su muerte.

Efecto sobre el vigor de la semilla

Los resultados obtenidos muestran que la longitud del hipocótilo constituye una variable adecuada para estimar el vigor de la semilla en relación con su capacidad de germinación. Con respecto al efecto de la cianamida hidrogenada sobre el hipocótilo, éste fue más pronunciado en el segundo experimento. Ello puede atribuirse a la presencia del pergamino, el cual vendría a constituir una barrera a la entrada de agua y por ende a las sustancias disueltas en ella, como ha sido sugerido por Bendaña (2) y por Valio (18). Por lo tanto, en el primer experimento, la penetración de la cianamida hidrogenada hacia el interior de la semilla, en igualdad de tiempos de exposición, fue probablemente más lenta lo que explicaría el menor efecto negativo del producto en la germinación, aún en concentraciones elevadas. El hecho de que tiempos cortos de inmersión (5 minutos) permitieran obtener mayor

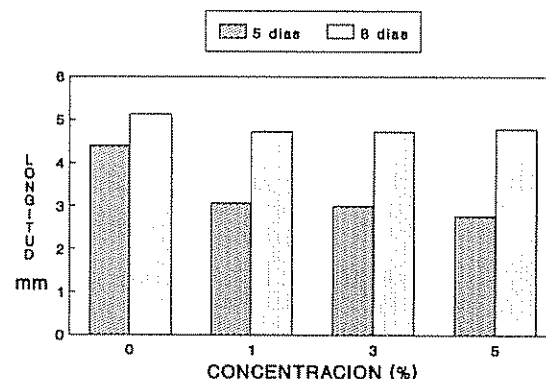


Fig 8. Efecto de diferentes concentraciones de cianamida hidrogenada en formulación comercial al 50% i.a. sobre la longitud de embriones de café aislados.

germinación refuerza esta suposición. Ello sugiere que concentraciones más bajas del producto podrían tener un menor efecto negativo

El peso seco sigue la misma tendencia observada en la longitud del hipocótilo, lo cual es lógico considerando la relación existente entre ambos parámetros (3). Esto implica que la pérdida de peso observada en el segundo experimento está directamente ligada a la concentración de cianamida utilizada. Esta disminución del peso ha sido también observada en la papa (8) y sugiere un aumento importante de la respiración (12)

El análisis de la longitud de la radícula no mostró el mismo grado de sensibilidad (con respecto al vigor de la semilla) y sugiere que este órgano no es muy sensible a la cianamida hidrogenada. Sin embargo, no se debe descartar el hecho de que un menor crecimiento del hipocótilo haya favorecido un mayor desarrollo radical como resultado de una menor inhibición correlativa entre ambas partes (5)

Por otra parte, es necesario considerar el hecho de que la cianamida hidrogenada es una sustancia que es rápidamente metabolizada y degradada (1), lo que hace suponer que la evaluación realizada a los 50 días, en el primer experimento, no refleja el efecto directo del producto ya que el tiempo transcurrido ha sido suficiente para la degradación de la cianamida dentro de la plántula.

Efecto sobre el desarrollo del embrión

La observación de embriones aislados evidencia una rápida translocación de la sustancia cuyo efecto

se manifiesta en una elongación inicial más lenta de los mismos. Sin embargo, el aislar el embrión permitió su desarrollo posterior aún con el uso de altas concentraciones de Dormex, que, en el caso de 5%, fue letal en el experimento 2. Es probable que la separación y colocación del embrión en agua haya favorecido un aumento de la absorción de la misma y haya permitido su crecimiento. También, se debe considerar la posibilidad de que el factor inhibitorio se haya presentado a nivel de los cotiledones, como lo podría sugerir el cambio de coloración observado, tanto en semillas enteras como en cotiledones aislados, lo cual indica una actividad metabólica diferente (3)

Este cambio de coloración (de blanco normal) de la almendra a un verde oscuro también fue observado en las semillas del segundo experimento (tratamientos de 3 y 5%) y en ensayos de almacenamiento de café a largo plazo (Barboza, no publicado)

Los resultados de esta serie de experimentos parecen indicar que la cianamida hidrogenada, al favorecer la respiración resistente al cianuro, provoca una alteración del metabolismo normal del proceso de germinación. A bajas concentraciones, esta alteración es mínima y afecta la germinación en bajo grado (12), pero las altas concentraciones provocan trastornos metabólicos tales que, incluso, se manifiestan en la imposibilidad del embrión de utilizar adecuadamente la energía y el poder reductor de los procesos de respiración, lo cual conlleva a la pérdida de capacidad germinativa de la semilla.

LITERATURA CITADA

1. AMBERGER, A. 1984. Uptake and metabolism of hydrogen cyanamide in plants. In Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines. Davis, University of California. p. 5-10.
2. BENDAÑA, F.C. 1962. Fisiología de las semillas de café. II Factores que retardan la germinación: el pergamino. *Café (Costa Rica)* 4(15):97-100.
3. BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1978. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Development, germination and growth. Berlin, Springer-Verlag. v 1, 306 p.
4. COME, D. 1987. Germination et dormance des semences. In *Le Développement des végétaux*. Ed. by H. Le Guyader (ed). Aspects théoriques et synthétiques. Paris, Masson p. 103-118.
5. CHAMPAGNAT, P. 1974. Introduction a l'étude du complexe des correlations. *Revue de Biologie et Cytologie Vegetale* 37:175-208.
6. CHIN, H.F. 1980. Germination. In *Recalcitrant crop seeds*. Ed. by H.F. Chin; E.H. Roberts. Malaysia, Tropical Press p. 38-52.
7. GOODWIN, P.B.; MERCER, A. 1984. Introduction to plant biochemistry. 2 ed. Oxford, Pergamon Press. 677 p.
8. GUEVARA, E.; HERRERA, J. 1988. Efecto de la cianamida hidrogenada en el reposo de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomía Costarricense* (En prensa).
9. GUTIERREZ, G.; SOTO, B. 1976. Estructura de la semilla de café. *Revista Cafetalera* (Guatemala) 157:34-35.

10. HUXLEY, P.A. 1965. Coffee germination, test recommendations and defective seed types. Proceedings of the International Seed Testing Association 30(3):705-715
11. LAVÉE, S.S.; SHULMAN, Y.; NIR, G. 1984. The effect of cyanamide on budbreak of grapevines *Vitis vinifera*. In Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines. Davis, University of California p. 17-29
12. PIRRUNG, M.C.; BRAUMAN, J.I. 1987. Involvement of cyanide in the regulation of ethylene biosynthesis. Plant Physiology and Biochemistry 25(1):55-62
13. ROBERTS, E.H.; ELLIS, R.H. 1984. The implications of the deterioration of orthodox seeds during storage for genetic resources conservation. In Crop genetic resources: conservation and evaluation. Ed. by J.H.W. Holden, J.T. Williams. London, George Allen and Unwin p. 18-37
14. ROBERTS, E.H.; KING, M.W. 1980. The characteristics of recalcitrant seeds. In Recalcitrant crop seeds. Ed. by H.F. Chin; E.H. Roberts. Malaysia, Tropical Press p. 1-15.
15. SOLOMOS, T. 1977. Cyanamide resistant respiration in higher plants. Plant Physiology (EE.UU.) 28:279-297.
16. TOKAKI, M.; DIETRICH, S. 1978. Efeito do ácido giberélico e da luz sobre enzimas de sementes de café (*Coffea arabica* L.) durante a germinação. Ciência e Cultura (Brasil) 30(9):1129-1130.
17. VALENCIA, G. 1970. Tratamientos para acelerar la germinación de la semilla de café. Revista Cafetalera de Colombia 19(146):55-59.
18. VALIO, I.F.M. 1976. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo). Journal of Experimental Botany 27(100):983-991.
19. VALIO, I.F.M. 1980. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. Journal of Seed Technology 5(1):32-39.
20. VISWESHWARA, S.; RAJO, K.S.K. 1972. Seed germination in coffee. II Effect of placement. Indian Coffee 37(9-10):286-289; 311.

Estudo do Efeito do Processamento sobre Resíduo de Clorotalonil em Grãos de Café¹

A.M.S.M. Llistó*, L.G. Souza*

RESUMO

Pela presente pesquisa, procurou-se observar a ocorrência de resíduos do fungicida clorotalonil derivado da ftalotriprila, aplicado em plantas de café. Para determinação do nível do resíduo do clorotalonil usou-se um método cromatográfico adaptado por Llistó *et al.* (7) e Ribas (10), estudado para determinação de resíduos de clorotalonil em café. Os teores de resíduos foram calculados por comparação com amostras contendo concentrações conhecidas de clorotalonil. A execução do trabalho foi levada a efeito de duas maneiras: sementes de café, pulverizadas em laboratório, com tratamentos diferentes do clorotalonil técnico; e, o tratamento de plantas de café, no campo, com produto comercial contendo 50% do ingrediente ativo, com duas dosagens acima das indicadas comercialmente para a cultura. Verificou-se presença de resíduos nas cascas, pergamimho e sementes de café beneficiado, proveniente das amostras tratadas no campo. Nos grãos de café submetidos a torração, à temperatura de 220°C durante 25 minutos, houve completa eliminação dos resíduos em todos os níveis de aplicação.

ABSTRACT

The present work sought to observe the occurrence of residues of a chlorothalonil fungicide derived from phthalotripril in coffee beans when the fungicide was applied to coffee plants. A chromatographic method specially adapted by Llistó *et al.* (7) from Ribas (10) was employed. The residues were calculated by comparing samples containing known concentrations of chlorothalonil. The work was carried out by spraying coffee beans in the laboratory with eight different treatments of technical chlorothalonil; and by treating coffee plants in a plantation with a commercial product with 50% of the active ingredient of chlorothalonil and a concentration twice as high as that commercially recommended for coffee. Fungicide residues were found in the pericarp, endocarp and seeds of dried coffee berries. Seed samples submitted to roasting at 220°C over 25 min did not present any fungicide residue.

¹ Recebido para publicação 21 março 1988

* Professores Adjuntos do Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrônomicas "Campus" de Botucatu - UNESP.

INTRODUÇÃO

A utilização de defensivos agrícolas, permite aos agricultores, nas condições atuais, produzir e aumentar a produtividade

Os níveis de resíduos podem ser diminuídos pelo uso de pesticidas adequados, com períodos residuais breves, altamente específicos. Os métodos normais de processamento dos alimentos poderão também removê-los ou diminuir-los.

A presença de resíduos de pesticidas em grãos de café pode acarretar problemas não só do ponto de vista do consumo interno, mas também pelos danos que poderá criar às exportações devido às restrições impostas por nações importadoras, uma vez que, as legislações vigentes em alguns países são extremamente rigorosas a este respeito.

Durante a execução da presente pesquisa, verificou-se a persistência do resíduo do fungicida clorotalonil em café. O fungicida clorotalonil, derivado de ftalonitrila, é aplicado nas partes aéreas de cafeeiros, para controle de *Colletotrichum coffeanum* (antracnose), *Cercospora coffeicola* (olho pardo), *Hemileia vastatrix* (ferrugem), *Phoma costaricensis* (requeima), *Mycena citricolor* (mancha americana) e, *Pellicularia koleroga* (mal de hilachas).

O uso intensivo de pesticidas nas últimas décadas fez com que estes compostos passassem a ser parte integrante do meio ambiente. A permanência destes pesticidas no meio ambiente, ou modo de encontrá-los e detectá-los bem como suas consequências têm objetivado várias pesquisas.

A Comisión del Codex Alimentarius (4), elaborou um guia dos limites máximos de resíduos de pesticidas aceitáveis, e, doses de orientação para produtos alimentícios e grupos de alimentos. Stellfeld *et al.* (11), codificaram as monografias dos pesticidas registrados no Ministério da Agricultura do Brasil, estabeleceram seus níveis de resíduos para os alimentos, e, o tempo de carência, de acordo com o pesticida e a cultura.

Ribas (10), analisando sementes de café provenientes de plantas tratadas no campo, com dosagens normais, e acima das normais, observou que a torração do café reduz o nível de resíduos de lindane e endossulfan, à quantidade abaixo do limite de detecção do método utilizado.

Amaral *et al.* (1), estudaram a influência de BHC, canfeclor, clordane, heptaclor e dieldrin na bebida do café. Concluíram que apenas o BHC interferiu negativamente na sua qualidade. Os demais inseticidas não causaram alterações de sabor e aroma ao café.

O clorotalonil é um fungicida produzido a partir da isophtalonitrila, segundo Worthing, (12), com dose diária aceitável de 0.03 mg/kg de peso corporal; sua classificação toxicológica está inserido na classe III,

segundo portaria 02/81-Disad (3). Segundo Ballee *et al.* (2), o clorotalonil foi registrado em 1969 nos Estados Unidos, para controle de doenças em batatas e, em 1971 seu uso foi estendido para outras culturas economicamente importantes.

Northover (8), constatou que a ocorrência de resíduos de clorotalonil eram similares em uva e seu suco, os quais haviam sido refrigerados a temperatura de 1°C por 15 dias. O material foi proveniente de videira submetido a tratamento no campo com 3 formulações e de 3 a 6 aplicações de clorotalonil.

Re *et al.* (9), estudando métodos de determinação de resíduos para fungicidas, observaram que os resíduos de clorotalonil são facilmente analisados por cromatografia gasosa, após serem extraídos por éter dietílico e passarem por uma purificação em coluna de alumínio.

De acordo com a Diamond Shamrock do Brasil (5), o clorotalonil tem ação efetiva e persistente para muitos fungos. É usado em vários países, os quais estabeleceram para as diferentes culturas, intervalos de pré-colheitas e tolerancias máximas de resíduos. Estudos conduzidos (6) de resíduos de clorotalonil e seu metabólito por cromatografia gasosa em amostras de batatas tratadas em laboratório, mostraram que a recuperação foi de 96 a 100% para quantidades adicionadas de 0.1 p.p.m. e de 93 a 119% para quantidade de 0.2 p.p.m.

Llistó *et al.* (17), estudando a determinação de resíduos de clorotalonil em grãos de café usando método de cromatografia gasosa, obtiveram para sementes fortificadas com níveis de 0.01 p.p.m.; 0.1 p.p.m. e 1 p.p.m. em laboratório, a recuperação de 100%, 106% e 110%, respectivamente. Verificaram que o clorotalonil e seu metabólito possuíam nas condições de trabalho, o mesmo tempo de retenção.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O presente trabalho de pesquisa foi desenvolvido em duas fases distintas: no campo e em laboratório.

No campo, o experimento foi instalado em cafezal pertencente a Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, Botucatu, na Fazenda Experimental "Presidente Médici".

Em laboratório, os ensaios foram levados a efeito nas instalações do Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da mesma Faculdade em Botucatu, SP.

A matéria prima constituiu-se de frutos submetidos a tratamentos no campo e sementes de café tratadas no laboratório

Os defensivos usados foram: Bravonil 500, para aplicação no campo e o clorotalonil técnico para ensaio de laboratório

Para o campo, utilizou-se produto a base de clorotalonil, ou seja, Bravonil 500 produto comercial (p.c) com 50% de ingrediente ativo (i.a.), para pulverização das covas ou plantas, nas seguintes formulações: 1) 6.6 kg/ha de i.a.; 2) 3.3 kg/ha de i.a.; 3) testemunha. Foram realizadas 4 aplicações com um pulverizador costal, marca Jacto, série 7 800 Maq. PJH-C-09450 gastando-se 100 litros de solução por hectare. Procurou-se obter uma distribuição uniforme sobre as plantas. As dosagens usadas, para a pesquisa, foram maiores que as indicadas na prática (3), para a cultura do cafeeiro, em áreas comerciais, no controle das doenças

Em laboratório, foi utilizado clorotalonil técnico, com 98% de pureza. Preparou-se inicialmente uma solução, com 25 mg do padrão dissolvido em 50 ml de benzeno. A partir desse preparado inicial, foram feitas diluições para obter soluções com concentrações finais correspondentes a 0.1 p.p.m.; 0.5 p.p.m.; 1 p.p.m.; 2.5 p.p.m.; 5 p.p.m.; 7.5 p.p.m. e 10 p.p.m. Essas concentrações de 0.1 a 10 p.p.m. são indicadas como nível máximo de resíduos de clorotalonil permitíveis pela FAO (4), e segundo Stellfeld (11), para outras culturas. Para o café ainda não foi estipulado o nível máximo de resíduo permitido.

MÉTODOS

Amostragens

As análises de resíduos do clorotalonil foram feitas em frutos (café cereja) provenientes dos três tratamentos no campo, e coletados com intervalos de 1, 15 e 30 dias, após a última aplicação do produto, com duas repetições

As amostras colhidas a 1, 15 e 30 dias foram analisadas a 15, 30 e 75 dias respectivamente, após a última pulverização do fungicida. O intervalo de tempo entre as diferentes épocas de colheitas e as análises, foi devido ao tempo necessário para a secagem e beneficiamento dos frutos

Os lotes das sementes de café verde tratadas em laboratório constituíram as amostras para análises, que foram feitas e depois de serem torradas.

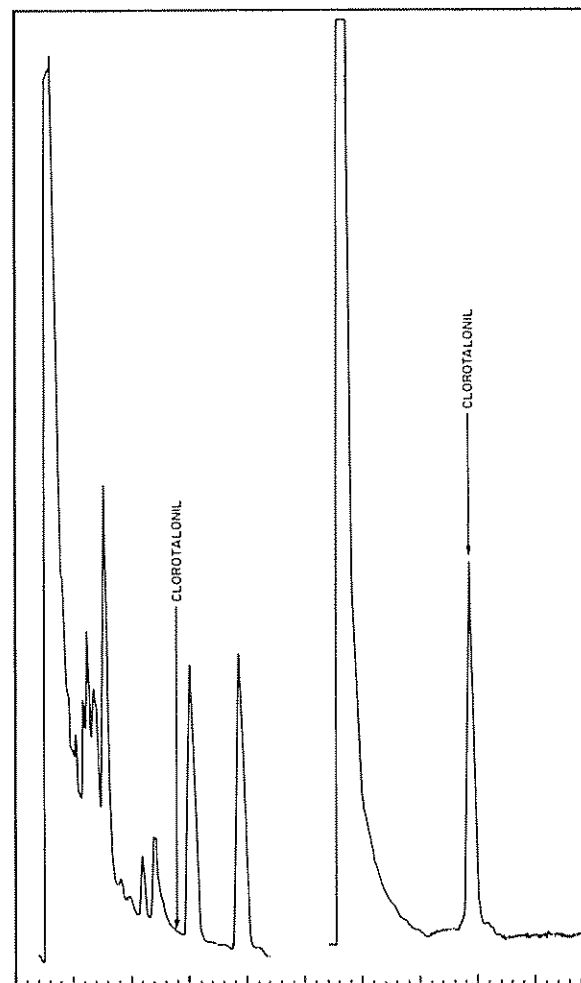


Fig. 1. Cromatogramas de uma amostra de sementes de café testemunha, proveniente de planta não tratada com o produto químico (A), e do padrão de clorotalonil (B).

Torração

Das amostras de café coletadas no campo, a 1, 15 e 30 dias, após secagem e beneficiamento, foram retiradas as sementes para serem submetidas à torração, em estufa a 220°C, por 25 minutos.

Os grãos de café cru, tratados em laboratório, foram submetidos à mesma torração que as amostras de campo

Determinação do Resíduo de Clorotalonil

O método empregado para a análise de resíduos, utilizando-se cromatografia a gás, foi adaptado por Llistó (7) a partir de Ribas (10) permitindo a obtenção de um limite de detecção da ordem de 0.01 p.p.m. e recuperação de 100%

O método foi previamente estudado e adaptado para café. Fez-se o estudo da porcentagem da mistura dos eluentes, o estudo do fracionamento para se determinar o volume usado de eluente, e em quais frações o clorotalonil e seu metabólito eram obtidos

Foram feitas curvas padrões para determinação da recuperação e sensibilidade do método, a partir do clorotalonil técnico, adicionando-se quantidades conhecidas de clorotalonil nas sementes de café verde e testemunha após torradas, efetuando-se suas determinações

Para as amostras tratadas em laboratório, os cálculos foram feitos através de áreas dos picos, comparando-as com soluções padrões de concentrações semelhantes

RESULTADOS

Na Fig 1, são apresentados os cromatogramas A e B. A representa a análise de uma amostra de café testemunha, ou seja proveniente de plantas não tratadas com o produto químico, e B cromatograma de padrão de clorotalonil, mostrando o tempo de retenção do mesmo.

Os resultados das análises quantitativas de resíduos de clorotalonil contidos na Tabela, correspondem a média aritmética de duas repetições

Na Tabela 2, estão contidos os valores de resíduos de clorotalonil, obtidos a partir da média aritmética dos resultados de duas repetições

Análise do Fungicida nas Sementes de Café Verde Tratado em Laboratório

A média aritmética dos valores de resíduos de clorotalonil de cinco repetições para cada tratamento são representados no gráfico da Fig 2

Os resultados de resíduos de clorotalonil, são expressos em partes por milhão (p.p.m.), o que corresponde a miligrama do produto químico por quilo da amostra.

Análise de Resíduo do Fungicida nas Sementes de Café Provenientes dos Tratamentos de Campo e Submetidos a Torração

As amostras de sementes de café correspondentes à colheita efetuada 1 dia após a última pulverização, e que receberam os tratamentos de 6.6 kg/ha de i.a. (A) e de 3.3 kg/ha de i.a. não apresentaram resíduos, bem como as amostras de sementes de café testemunha.

Tabela 1. Resíduos de clorotalonil (média de 2 repetições) em cascas, pergaminho e sementes de café provenientes de plantas pulverizadas 4 vezes com 6.6 kg/ha i.a., coletadas em diferentes épocas.

Dias após última pulverização	Resultados mg/kg (ppm)			Total
	Casca	Pergaminho	Semente	
01	384	428	65	788.0
15	436	207	27	670.0
30	350	174	7	531.0

Análises de Resíduo nas Sementes de Café tratadas em Laboratório e Submetidas à Torração

Na Fig. 3, são apresentados os cromatogramas A e B. A representa a análise de uma amostra de semente de café testemunha, que após torração foi adicionada o clorotalonil, e B cromatograma de uma amostra de sementes de café testemunha torradas.

As análises de sementes de café torradas após os tratamentos de laboratório e correspondentes à 0.1; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0; 7.5 e 10.0 p.p.m. de clorotalonil, não apresentaram resíduo

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Frutos de Café não Torrados e Provenientes de Plantas Pulverizadas no Campo

Nas Tabelas 1 e 2, encontram-se os níveis de resíduos de clorotalonil encontrados na casca, pergaminho e sementes de café, provenientes de duas do-

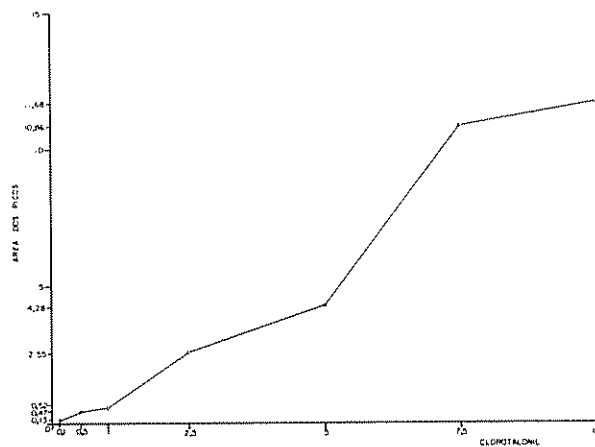


Fig 2 Valores das áreas dos picos de clorotalonil (média de 5 repetições) correspondentes aos tratamentos efetuados em laboratório

sagens diferentes, correspondentes a 3 e 15 vezes maiores que a recomendada para café (5). Os teores de resíduos da casca e pergaminho, foram mais altos do que os níveis de tolerancias estabelecidos para outras culturas (4, 11) e que vão de 0.1 a 10 p.p.m.

Estes resultados ocorrem devido ao fato do clorotalonil ser um fungicida, cuja ação é de contacto, permanecendo na superfície da planta onde foi aplicado, ou seja, na casca do fruto.

Tabela 2. Resíduos de clorotalonil (média 2 repetições) em cascas, pergaminho e sementes de café provenientes de plantas pulverizadas 4 vezes com 3.3 kg/ha i.a., coletadas em diferentes épocas.

Dias após última pulverização	Resultados mg/kg (ppm)			Total
	Casca	Pergaminho	Semente	
01	348	418	44	810.0
15	180	96	3.2	279.2
30	178	104	2.8	284.8

Pela análise das Tabela 1 e 2, verificou-se que os valores totais de resíduos, correspondentes à soma dos resíduos na casca, pergaminho e semente dos frutos da primeira colheita foram mais elevados do que os valores encontrados na segunda e terceira colheitas.

Pela Tabela 1, essas diferenças chegam a 23.6% e 39.4%, respectivamente. Na Tabela 2, esse valores são da ordem de 65.5% e 64.8%, respectivamente. Verifica-se, conseqüentemente, que, na maior dosagem, ou seja de 6.6 kg/ha de i.a., as diferenças dos níveis de resíduos são menores entre as amostras colhidas a 1, 15 e 30 dias.

O que se observa, analisando os valores obtidos e as diferenças encontradas, é que houve um decréscimo significativo da casca para a semente, o que pode ser resultante da pequena penetração do produto durante o tempo em que o mesmo permanece aderido na casca do fruto, por se tratar de fungicida cuja ação é de contacto.

Nos grãos de café provenientes de plantas que receberam 6.6 kg/ha de i.a., em 4 pulverizações, os resultados das amostras colhidas a 1 e 15 dias, após o último tratamento encontram-se acima dos níveis de tolerância de resíduos para clorotalonil estabelecidas para outras culturas, enquanto que os valores encontrados para 30 dias, acham-se dentro desses limites de tolerancias (4, 11). No caso dos grãos de café provenientes de plantas que receberam 3.3 kg/ha de i.a. em 4 pulverizações, os resultados encontram-se dentro da faixa de tolerância de resíduos de clorotalonil

estabelecidos para outras culturas, com exceção da amostra colhida a 1 dia.

As amostras provenientes do campo e colhidas a 1, 15 e 30 dias, foram analisadas nos seguintes intervalos de tempo: 15, 30 e 75 dias após a última pulverização. Neste período, entre colheita e análise, os frutos foram submetidos a secagem natural e beneficiamento. O intervalo de segurança ou período de carência máximo foi de 75 dias, para as duas dosagens. Este período foi suficiente para reduzir o nível de resíduos das sementes de 95% a 99%, e os valores encontrados estão dentro dos níveis máximos de tolerância exigidos para outras culturas.

Sementes Submetidas a Torração

Os resultados obtidos da análise dos grão de café submetidos a torração mostraram que os níveis de

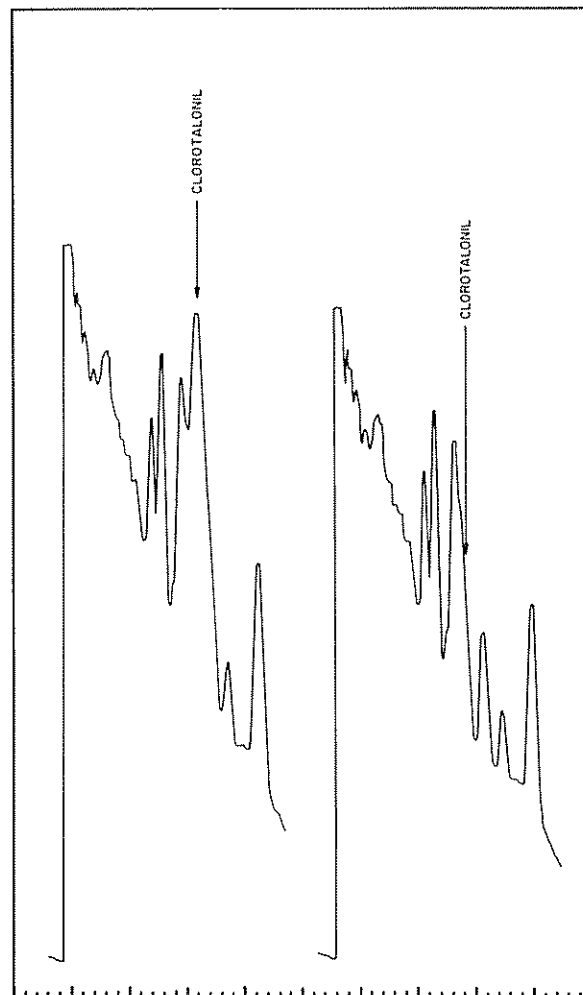


Fig. 3 Cromatogramas de amostras de sementes de café testemunha, tratadas em laboratório com acetona e submetidas a torração. A sementes testemunha que após torração foi adicionado o clorotalonil, e B sementes testemunhas.

resíduos em ambos os tratamentos de campo, acima dos normais usados, foram totalmente eliminados, ocorrendo o mesmo com os grãos tratados em laboratório.

Isto mostra que a temperatura e tempo empregados para a torração das sementes foram suficientes para eliminar os resíduos de clorotalonil.

LITERATURA CITADA

1. AMARAL, S.F.; ARRUDA, V.H.; ORLANDO, A. 1973. Alguns inseticidas e bebidas do café arquivos do Instituto Biológico (Bra.) 40:173-80.
2. BALLEE, D.L.; DUANE, W.C.; STALLARD, D.E.; WOLFE, A.L. 1976. GUNTER. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators; government regulations, pheromone analysis, additional pesticides 2 ed. New York, Academic Press, v.8, cap. 15, p. 263-274.
3. BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA 1981. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Produtos Saneantes Domissanitários. Portaria 02/DISAD, 11 fev Diário Oficial da União, Brasília, (Bra.); Mar. 5:4407-44016 Seção I.
4. COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS 1978. Guia de limites máximos del codex para resíduos de plaguicidas. Roma, Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS. 222p.
5. DIAMOND SHAMROCK DO BRASIL Boletim Técnico São Paulo, Bra., Bravonil 500 12 p.
6. DIAMOND SHAMROCK CORPORATION. 1970. Analytical method for determination of deconil 2787 and metabolite residue. In Pesticide analytical manual Cleveland v.2, p. 1-7.
7. LLISTÓ, A.M.S.M.; SOUZA, L.G.; MARCONDES, D.A.S. 1981. Método para análise de resíduos de clorotalonil em café. In Jornada Científica da associação dos docentes do Campos de Botucatu – UNESP (10, 1981, Botucatu, Bra.) Botucatu, Bra. p. 74.
8. NORIHOVER, J.; RIPLEY, B.D. 1980. Persistence of chlorothalonil on grapes and its effects on disease control and fruit quality. Journal of Agricultural Food Chemistry (EE UU.) 28:971-974.
9. RE, A.D.; FONTANA, P.; MARCHINI, G.P.; MOLINARI, C.P.; ROSSI, E. 1980. Fungicides for gray-mold control: A critical review of analytical methods for formulation and residue analysis. Residue Rev 74:99-131.
10. RIBAS, C. 1976. Estudo da persistência de resíduos de Lindane e endosulfan através da cromatografia à gás, em grãos de café. Tese – Mestrado, Piracicaba, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” 95 p.
11. SIELLFELD, A.M.C.; GONÇALVES, A.L.; ROSS, J.R.; ALMEIDA, M.E.W.; LARA, W.H. 1981. Resíduos de pesticidas em alimentos no Brasil. Voc Técnico CATT (32):1-239.
12. WORTHING, C.R. (ed.) 1979. Chlorothalonil 6 ed. In The pesticide manual; a world compendium Nottingham, British Crop Protection Council. p. 114.

Microscopía Electrónica de Rastreo de Varias Poblaciones del Nematodo Nodulador del Cafeto *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae)¹

R. López*, L. Salazar*

ABSTRACT

The morphology of females, males and second-stage juveniles (J2) of five populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*, from different regions of Costa Rica, was studied with a scanning electron microscope. In females, the labial disc is small and rounded, with the prestoma surrounded by inner labial sensilla on its center, and can be fused with the medial lips; the latter, along with the labial disc, form a dumbbell-shaped structure. The perineal patterns are oval or rounded, and have coarse, unbroken striae, often interrupted on the lateral sides of the perineal pattern, corresponding to the lateral fields. In males, the cephalic region is smooth and has a single annule; the labial disc is elongated, with straight lateral edges, and has the stoma on its center, sunken inside the prestoma; the latter is surrounded by six inner labial sensilla. The medial lips are wider than the labial disc and can be divided by an indentation; the lateral lips are trapezoidal and very prominent. In J2, the labial disc and the medial lips form a dumbbell-shaped structure; the lateral lips can be arched or triangular. The cephalic region is smooth and has a single annule.

INTRODUCCION

El género *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nemata: Heteroderidae) es, sin duda alguna, el más importante entre los nematodos fitoparásitos que atacan las plantas cultivadas en Costa Rica e incluye, hasta el momento, unas 71 especies (5, 14, 18), aunque hay discrepancias acerca de la validez de algunas de ellas. En Costa Rica, se ha identificado a *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. hapla* Chitwood, 1949, *M. exigua* Goeldi, 1887, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 y *M. salasi* López, 1984

¹ Recibido para publicación el 3 de agosto de 1989. Parte del proyecto 312-86-110 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica

* Laboratorio de Nematología. Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. El primer autor es miembro del Programa Financiero de apoyo a investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT). Los autores agradecen la financiación dada por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y la ayuda técnica del señor Justo Azofeifa y la señora Suria Sánchez.

COMPENDIO

Con la ayuda del microscopio electrónico de rastreo se realizó un estudio morfológico de hembras, machos y segundos estados juveniles (J2) de cinco poblaciones del nematodo nodulador del cafeto, *Meloidogyne exigua*, provenientes de diversas localidades de Costa Rica. En las hembras, el disco labial es redondeado y pequeño; tiene el prestoma en su centro, rodeado de sensilas labiales internas y puede o no estar fusionado con los labios medios; éstos son más anchos que el disco labial y junto con él forman una estructura similar a un corbatín; los diseños perineales son ovalados o redondeados, tienen estriás gruesas, continuas, a menudo fusionadas entre sí; la vulva está hundida en el centro del diseño; en las porciones laterales de éste, a menudo se presenta una interrupción de las estriás la cual corresponde a los campos laterales. En los machos, la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo; el disco labial es elongado, con bordes laterales rectos y tiene en su centro el estoma, hundido dentro del prestoma; éste está rodeado por seis sensilas labiales internas; los labios medios son más anchos que el disco labial, tienen dos sensilas cefálicas cada uno y pueden estar divididos en dos por una indentación que varía en profundidad; los labios laterales son trapezoidales y muy evidentes. En los J2, el disco labial y los labios medios forman una estructura con forma de corbatín; los labios laterales son arqueados o triangulares; la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo.

(8, 17), aunque también se ha informado recientemente sobre la presencia de varias especies nuevas, las que requieren ser descritas (13). Algunas de las razones para considerar a *Meloidogyne* spp. como los nematodos fitoparásitos más importantes en Costa Rica son: 1) la gama de huéspedes dentro de los cultivos agrícolas en nuestro país la cual incluye prácticamente todas las hortalizas, además del cafeto, banano, maíz, caña de azúcar, arroz, piña, plátano, tabaco, melocotón, marañón, mango, aguacate, papaya, cacao, numerosos ornamentales de flores y de follaje, y especias, entre otros (6, 10, 12, R. López y L. Salazar, datos sin publicar); 2) los severos efectos patogénicos producidos por estos nematodos en muchos cultivos y el efecto devastador que puede tener su interacción con otros agentes causales de enfermedades (15, 16); 3) la amplia distribución geográfica de estos nematodos en el territorio nacional, a tal punto que, por ejemplo, *M. incognita* ha sido encontrada en Los Chiles, cerca de la frontera norte y en La Cuesta, cerca de la frontera sur; también, ha sido

colectada en ambos litorales, en áreas de playa donde llega la pleamar, v.g., Westfalia, Limón y Esterillos, Puntarenas; segundo estados juveniles (J2) similares a los de *M. javanica* han sido encontrados a la orilla del mar en Conchal, Guanacaste, mientras que otros, similares a los de *M. hapla*, han sido recuperados en materiales arenosos localizados en el cráter del volcán Irazú, a más de 3 000 msnm (R. López, datos sin publicar)

A pesar de que las especies de este género son típicos endoparásitos de las raíces (19), muy frecuentemente su presencia ha sido detectada en Costa Rica mediante la extracción de J2 del suelo (6, 7, 10); en estos casos, es difícil identificar de inmediato la especie, ya que los J2 de varias de las especies encontradas en nuestro país son similares en morfología general y en ciertas características particulares medidas con la ayuda del microscopio de luz (ML) (8); la identificación específica es considerada indispensable para aplicar medidas de combate como la rotación de cultivos, la siembra de cultivares resistentes, ciertas prácticas culturales y tácticas basadas en el uso de agentes biológicos (19). Frecuentemente, en estos casos se recurre a la siembra de plantas de tomate en el suelo infestado, su cultivo durante unos 60 días en el invernadero y luego al estudio de las hembras, los machos y los J2 aislados de sus raíces para poder identificar la especie presente; este procedimiento es tedioso y requiere demasiado tiempo y espacio, por lo que en muchas situaciones no es aplicable.

El microscopio electrónico de rastreo (MER), de relativo reciente uso en Fitonematología, se ha convertido en una formidable herramienta para el estudio de estos parásitos (4) y ha permitido encontrar diferencias morfológicas cualitativas entre J2, machos y hembras de varias especies de *Meloidogyne* (1, 2, 3); algunas de estas diferencias han sido observadas posteriormente con el ML. Ante estos antecedentes, se consideró pertinente realizar un estudio para, con la ayuda del MER, caracterizar detalladamente varias poblaciones costarricenses de estos nematodos e identificar aquellas características morfológicas diagnósticas que, eventualmente, faciliten la identificación específica, incluso con sólo la observación de J2. En este trabajo se presenta lo relacionado con el estudio de cinco poblaciones del nematodo nodulador del café, *M. exigua*, la especie de este género más frecuentemente encontrada en Costa Rica atacando este cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Cuatro poblaciones de *M. exigua* fueron colectadas de raíces de café, provenientes de los cantones de Naranjo y Central, provincia de Alajuela, el cantón

de Turrialba, provincia de Cartago y el cantón de Coto Brus, provincia de Puntarenas; estas poblaciones fueron mantenidas y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de chile, cv. 'California Wonder', mientras que la quinta población fue obtenida también de café en el cantón de Pérez Zeledón, provincia de San José; esta población fue procesada tal y como venía del campo. Los machos fueron procesados para su observación al MER siguiendo un método descrito previamente (11), mientras que los J2 y las hembras fueron inicialmente fijados de igual manera pero luego deshidratados en alcohol y pasados por soluciones alcohólicas de acetato de amilo, según el método descrito por Jepson (5). Se observó un número mínimo de 25 especímenes, tanto de las hembras como de los machos y los J2 de cada población, en un MER Hitachi S-570 a 15 Kv de voltaje acelerador. Para la descripción de la morfología se siguió la terminología propuesta por Eisenback y Hirschmann (1, 2) y Eisenback *et al.* (3).

RESULTADOS

En la Fig. 1 se ilustra la morfología de la porción frontal del cuerpo de las hembras. El prestoma aparece en el centro del disco labial y puede tener la forma de un poro redondeado (Fig. 1d) o levemente ovalado en el plano dorso-ventral (Fig. 1f). El estoma aparece como una rendija localizada dentro del prestoma; alrededor de éste último se localizan varias sensilas labiales internas, en forma de diminutos poros redondeados (Fig. 1d). El disco labial es relativamente pequeño y redondeado; en algunos casos está separado parcial o totalmente de los labios medios por estrías (Fig. 1d, e, f.), pero, en otros, está fusionado con éstos (Fig. 1b, c), en mayor o menor grado. Los labios medios son más grandes que el disco labial y en conjunto con éste forman una estructura con forma de corbatín; sus bordes pueden ser redondeados (Fig. 1a, d, e, f), relativamente aplanados (Fig. 1b) o puntiagudos (Fig. 1c); a menudo, estos labios se fusionan con los labios laterales (Fig. 1a, b, c, d). La región cefálica está compuesta por dos o tres anillos, a menudo incompletos (Fig. 1a) y surcados por cortas incisuras longitudinales. Las aberturas anfidales aparecen como cortas hendiduras rectangulares localizadas entre el disco labial y los labios laterales; estos últimos pueden o no estar bien diferenciados de la estructura formada por el disco labial y los labios medios.

En la Fig. 2 se ilustra la morfología del diseño perineal de las hembras. En términos generales, los diseños son ovalados (Fig. 2b, d-1) o redondeados (Fig. 2a, c) y están constituidos por estrías relativamente gruesas, continuas, con cierta frecuencia fusionadas entre sí. La vulva y el área inmediata a su alrededor están en un plano inferior al de las estrías, por lo que

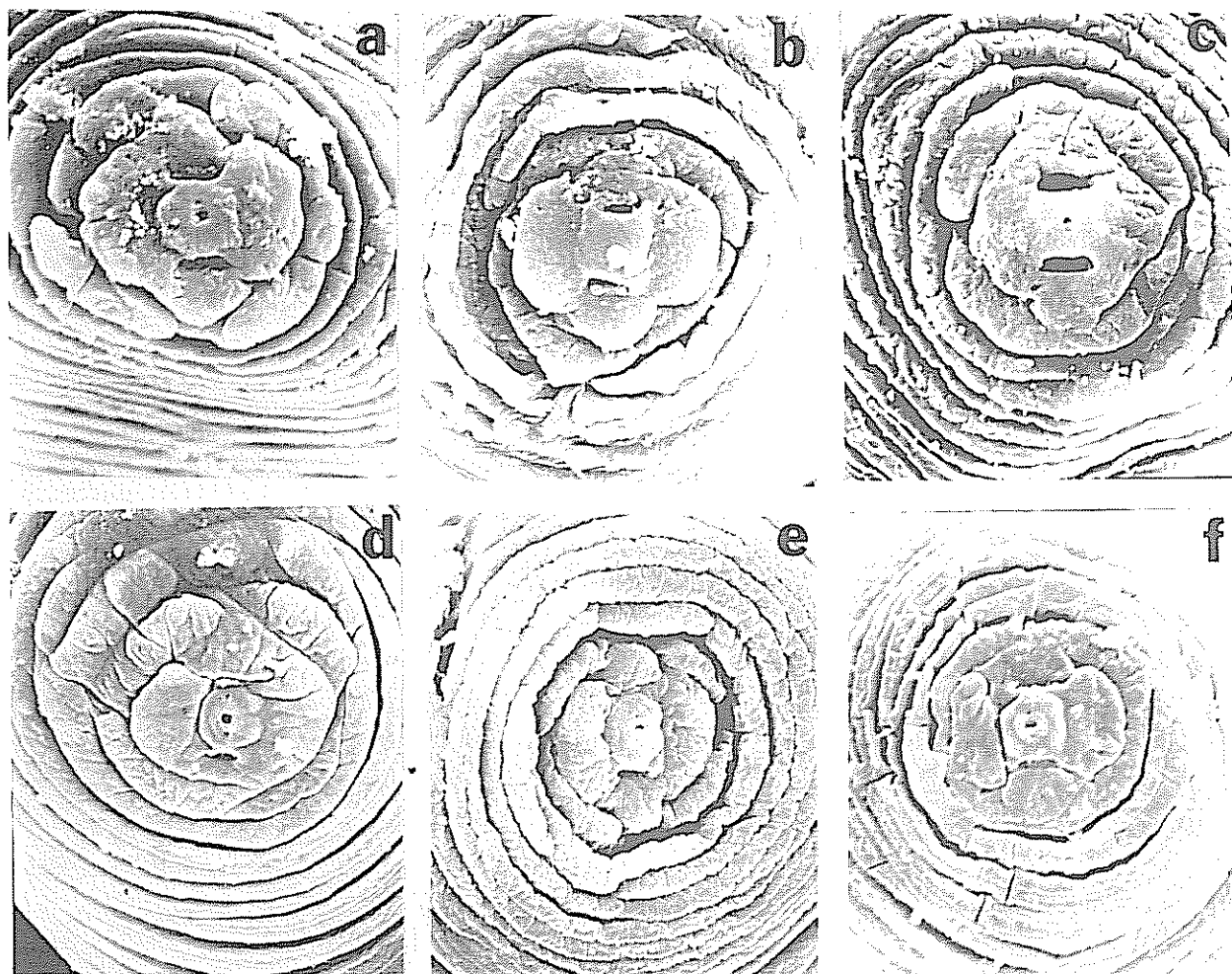


Fig 1. Fotomicrografías de la vista frontal de hembras de *Meloidogyne exigua* provenientes de a-c: Turrialba; d, e: Naranjo; f: Coto Brus.

aparecen localizadas en una área hundida en el centro del diseño. El ano es difícil de discernir. Con frecuencia, se observaron especímenes que presentaban en sus porciones laterales una interrupción en la continuidad de sus estrías, la que varía en intensidad ya que puede ser leve (Fig. 2b, c, d, g, h, j, l) o bastante marcada (Fig. 2e, i, k); esta interrupción aparentemente corresponde a los campos laterales; en algunos especímenes no se observó evidencia de esta alteración en las estrías (Fig. 2a, f).

En la Fig. 3 se ilustran algunos aspectos de la morfología de los machos. Su porción anterior es de menor diámetro que el resto del cuerpo (Fig. 3a), mientras que su extremo posterior es redondeado (Fig. 3b)

Los campos laterales se inician unos ocho a 10 anillos posterior a la región cefálica y están delimitados en ese punto por sólo dos líneas laterales; la areolación es incompleta (Fig. 3a). Los campos continúan hasta la región de la cola (Fig. 3b) y tienen la apariencia de un cordón superpuesto sobre las porciones laterales del cuerpo. La región labial de los machos en vista frontal (Fig. 3e-l) exhibe un estoma en forma de rendija, localizado en el fondo de un ovalado prestoma; externamente al prestoma y rodeándolo en un área muy cercana a sus bordes, se localizan seis sensilas labiales internas, en forma de diminutos poros redondeados. El disco labial es relativamente elongado, sus bordes laterales son prácticamente rectos y está fusionado con los labios medios; éstos son más anchos que

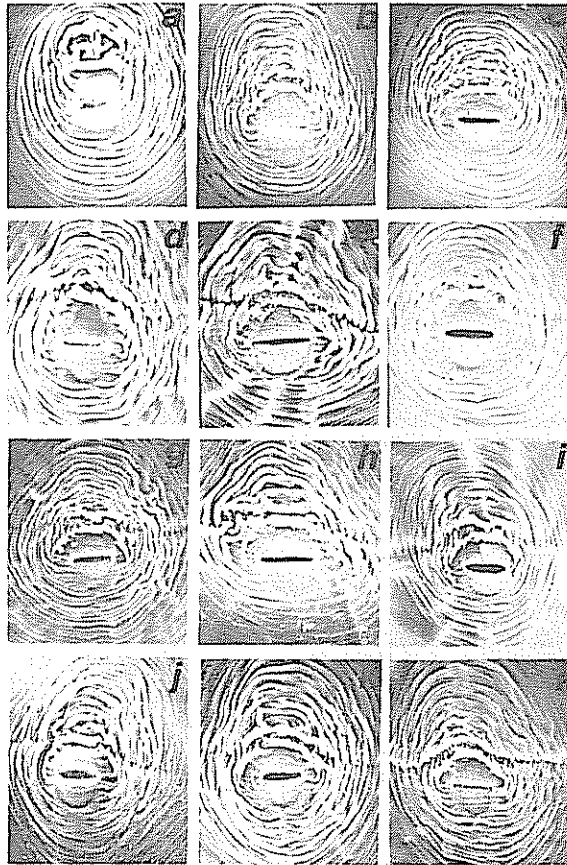


Fig. 2. Fotomicrografías de diseños perineales de *Meloidogyne exigua* provenientes de a-c: Cantón Central, Alajuela; d-g: Naranjo; h, i: Turrialba; f: Pérez Zeledón; k, l: Coto Brus.

el disco labial y tienen los bordes casi rectos o levemente redondeados. En varios especímenes se pudo observar en cada labio medio dos sensilas cefálicas, en forma de diminutas depresiones redondeadas (Fig. 3e, i, j, k). Los labios medios a menudo están divididos en dos porciones por una pequeña indentación o muesca (Fig. 3e, f, g, h, i, k, l). Los labios laterales tienen forma trapezoidal, se extienden sobre la región cefálica y están delimitados por estrías cortas que se inician cerca de los bordes laterales de los labios medios (Fig. 3a, c-l). La región cefálica es lisa y está formada por un solo anillo; las aberturas anfidiales se localizan entre el disco labial y los labios laterales, debajo del primero, y tienen la forma de una rendija rectangular (Fig. 3a, c-l).

En la Fig. 4 se ilustra la forma de la región cefálica y labial de los J2. La región cefálica es lisa y está formada por un solo anillo. En la región labial, el prestoma es redondo (Fig. 4d, g, h, i, j); está rodeado externamente de seis pequeñas sensilas labiales internas en forma de poros redondeados y se localiza en el centro

del disco labial; este último está levemente levantado sobre los labios medios y sus bordes laterales son casi rectos. Los labios medios son más anchos que el disco labial y tienen sus bordes redondeados; en algunos especímenes se pudieron observar dos sensilas cefálicas en forma de depresiones redondeadas, localizadas en cada labio medio. El disco labial y los labios medios forman una estructura en forma de corbatín. Los labios laterales normalmente están localizados en un plano inferior al de la estructura en forma de corbatín, aunque también pueden estar fusionados a ella (Fig. 4c), y se extienden sobre la región cefálica. Ambos labios pueden tener una forma arqueada (Fig. 4a, b, f, g) o triangular (Fig. 4e, h, j, k, l), o pueden ser uno arqueado y el otro triangular (Fig. 4c, d) o de forma irregular (Fig. 4i); estos labios están delimitados por estrías que se originan en los bordes laterales de los labios medios. Las aberturas anfidiales aparecen como cortas rendijas rectangulares entre los bordes del disco labial y los labios laterales.

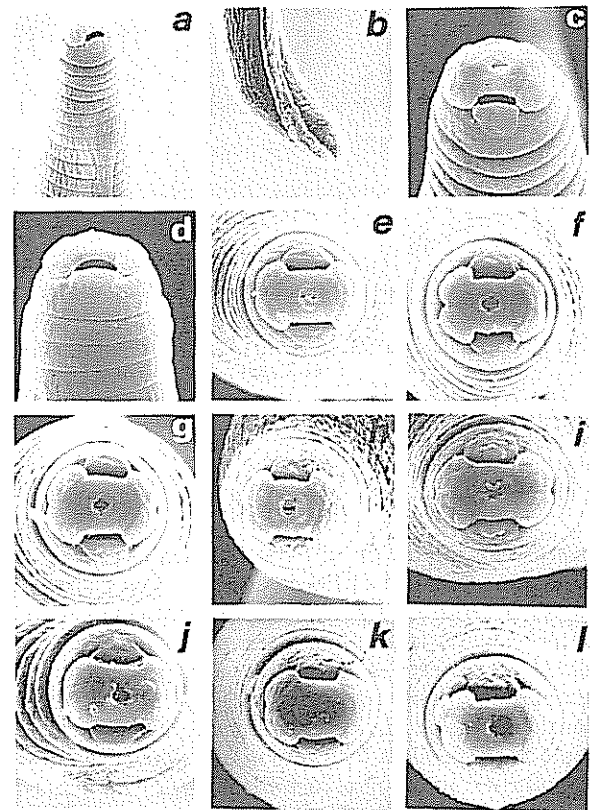


Fig. 3. Fotomicrografías de la porción anterior (a), la cola (b), la región cefálica (lateral) (c, d) y la vista frontal (e-l) de machos de *Meloidogyne exigua* provenientes de a, c-g: Naranjo; b, i, j: Coto Brus; h: Turrialba; k, l: Cantón Central, Alajuela.

Si bien la morfología general de las regiones cefálica y labial de los J2 es similar a lo ilustrado por Eisenback y Hirschmann (1) y por Jepson (5), la variación en la forma de los labios laterales no había sido observadas por estos autores. Eisenback y Hirschmann (1) ilustran un J2 que tiene los labios laterales arqueados, mientras que Jepson (5) presenta una fotomicrografía muy oscura de un J2 de *M. exigua* en que pareciera que los labios laterales también son arqueados. En este estudio se encontraron especímenes con labios laterales arqueados o triangulares y algunos en que un labio lateral es arqueado y otro triangular, pertenecientes a una misma población y a poblaciones de diferente origen geográfico. Lo anterior sugiere que esta variación es común en poblaciones costarricenses de *M. exigua* y que no son particulares a alguna de sus poblaciones. Conviene anotar que esta variación en la forma de los labios laterales puede complicar la posibilidad de identificar con certeza esta especie con sólo ver los J2, sin tener que estudiar la morfología de las hembras y la de los machos.

Los J2 de otras especies de *Meloidogyne* presentes en Costa Rica tienen labios laterales similares en forma a los dos tipos encontrados en *M. exigua* (R. López, L. Salazar, datos sin publicar), por lo que el objetivo de identificar la especie con sólo estudiar la morfología de los J2, pareciera difícil de alcanzar.

DISCUSION

Algunos de los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con lo informado previamente para esta especie; así, en lo concerniente a las hembras, podría decirse que las características exhibidas por éstas, en su porción frontal, coinciden con lo informado por López (9) en su estudio de otras poblaciones costarricenses de *M. exigua*. También, hay gran coincidencia entre lo encontrado en esta investigación en cuanto a las características del diseño perineal y lo informado por este autor (9). Sin embargo, en esta investigación se encontró que la expresión de los campos laterales en los diseños perineales puede presentar una gran variación, tanto en hembras pertenecientes a una misma población como en hembras de poblaciones con diferente origen geográfico. Podría concluirse entonces que esta variación es de la especie y no de alguna población en particular; hembras de *M. exigua* con una marcada interrupción de estrías en las regiones laterales del diseño perineal han sido encontradas en un bosque virgen del cantón de Pérez Zeledón, lo que

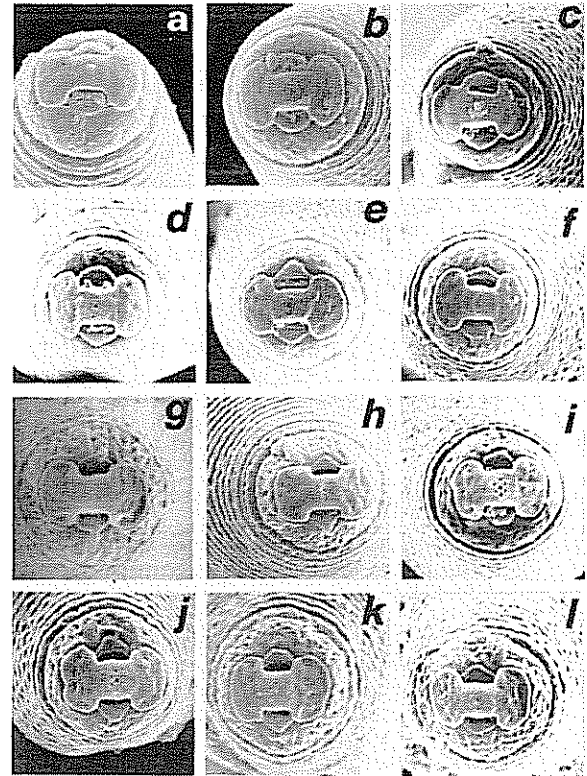


Fig. 4. Fotomicrografías de vistas lateral-frontal (a) y frontales (b-l) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne exigua*, provenientes de a-e: Pérez Zeledón; f: Naranjo; g, h: Cantón Central, Alajuela; i, j: Coto Brus; k, l: Turrialba.

sugiere que esta variación morfológica está presente en poblaciones silvestres (R. López, datos sin publicar).

En cuanto a los machos, los hallazgos de esta investigación también coinciden con los de López (9); la morfología de la porción frontal de los machos estudiados es prácticamente idéntica a lo informado por este autor, así como las demás características de la cola y de los campos laterales. Conviene recalcar eso sí que, en una misma población, se encontraron especímenes en que la muesca que divide los labios medios es muy marcada y otros en que es leve o inexistente; dada la presencia de estas variantes en poblaciones de diferente origen geográfico, pareciera que la misma es de la especie y no de una población particular, lo que contradice lo postulado previamente (9).

LITERATURA CITADA

1. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979. Morphological comparison of second-stage juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. Scanning Electron Microscopy (EE.UU.) 3:223-230.
2. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. Journal of Nematology (EE.UU.) 12(1):23-32.
3. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. Journal of Nematology (EE.UU.) 12(4):300-313.
4. HIRSCHMANN, H. 1983. Scanning electron microscopy as a tool in nematode taxonomy. In Concepts in nematode systematics. Ed. by A.R. Stone, H.M. Platt, L.F. Khalil. New York, Academic Press. p. 95-111.
5. JEPSON, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Aberystwyth, United Kingdom, Cambrian News. 265 p.
6. LOPEZ, R. 1978. Nematodos fitoparásitos asociados al Cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en Costa Rica. Turrialba (C.R.) 28(4):279-282.
7. LOPEZ, R. 1980. Determinación de los nematodos fitoparásitos asociados al plátano (*Musa acuminata* M. *balbisiana*, AAB) en Río Frío. Agronomía Costarricense (C.R.) 4(2):143-147.
8. LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. Turrialba (C.R.) 34(4):445-458.
9. LOPEZ, R. 1984. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne exigua* con el microscopio electrónico de rastreo. Nematropica (EE.UU.) 15(1):27-36.
10. LOPEZ, R.; AZOFEIFA, J. 1981. Reconocimiento de nematodos fitoparásitos asociados con hortalizas en Costa Rica. Agronomía Costarricense (C.R.) 5(1-2):29-35.
11. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1987. Nematodos asociados al arroz (*Oryza sativa* L.) en Costa Rica. III. Microscopia electrónica de rastreo de *Meloidogyne salasi* y *Tylenchorhynchus annulatus*. Turrialba (EE.UU.) 37(1):77-87.
12. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1988. Nuevos huéspedes de *Meloidogyne javanica* (Nemata: Heteroderidae) en Costa Rica. Agronomía Costarricense (C.R.) 12(2) (En prensa).
13. LOPEZ, R.; SALAZAR, R. 1988. Microscopia electrónica de rastreo de algunos *Meloidogyne* spp. encontrados en Costa Rica. In Congreso Anual de Nematología (20., San José, C.R.). Resúmenes. San José, C.R. Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos. p. 47.
14. LUC, M.; MAGGENTI, A.R.; FORTUNER, R. 1988. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 9. The family Heteroderidae Fili'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941. Revue de Nematologie (Francia) 11(12):159-176.
15. PADILLA, C.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1980. Interacción entre *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* en arveja. Agronomía Costarricense (C.R.) 4(1):55-60.
16. PERLAZA, F.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1979. Combate químico de *Meloidogyne* spp. y *Alternaria* sp. en zanahoria (*Daucus carota* L.) Turrialba (C.R.) 29(4):263-267.
17. SALAZAR, L. 1980. Variaciones morfométricas y respuestas de nueve hospedantes diferenciales a tres poblaciones de *Meloidogyne javanica* de Costa Rica. Turrialba (C.R.) 30(3):344-351.
18. TAYLOR, A.L. 1987. Identification and estimation of root-knot nematode species in mixed populations. s.l. Florida, Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Bulletin no. 12. 73 p.
19. TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh, North Carolina State University Graphics, Department of Plant Pathology. 111 p.

Prolina em Cafeeiros Submetidos à Déficit Hídrico¹

P. Mazzafera*, J.P.F. Teixeira**

ABSTRACT

Seedlings of two *Coffea arabica* genotypes (Catuai and BA-10 C1110-10) presenting different drought tolerance levels were submitted to controlled water stress conditions. Leaf area, relative root surface, root and shoot dry weight, transpiration rate and proline content of 2^o, 3^o, and 4^o leaf pairs, from the apex, were evaluated. C1110-10 seedlings presented higher leaf area, relative root surface, root and shoot dry weight than Catuai seedlings, but had a lower transpiration rate. In both genotypes, the 2^o leaf pair had a higher proline content. Although proline levels increased with increased water deficit, it was not possible to distinguish between the two coffee seedlings based on this parameter. Proline accumulation seemed to be related to injury imposed by water stress.

RESUMO

Mudas de um ano e meio uma introdução da Índia (BA-10 C1110-10) e um cultivar (Catuai) de *Coffea arabica* L., diferindo quanto a tolerância à seca, foram submetidas a condições controladas de déficit hídrico. Avaliou-se a área foliar, superfície relativa da raiz, peso seco de raiz e parte aérea, transpiração e teor de prolina no 2^o, 3^o e 4^o par de folhas, a partir do ápice da planta. A introdução C1110-10 apresentou maior área foliar, superfície relativa de raiz, peso seco de raiz e parte aérea do que o Catuai, porém, teve menor taxa de transpiração. Para ambos genótipos, o segundo par de folhas foi o que mostrou maiores valores para prolina. Apesar de ter sido observado aumento do teor do aminoácido a medida que desenvolveu-se o estresse hídrico, o mesmo não diferenciou as mudas de café quanto a sua capacidade de suportar à falta de água no solo. O acúmulo do aminoácido pareceu estar relacionado à injúria provocada pelo estresse.

INTRODUÇÃO

Algumas plantas quando submetidas à falta de água tendem a aumentar o teor do aminoácido prolina em seus tecidos, (6, 12, 13), motivo pelo qual se tem atribuída a existência de uma relação entre o seu acúmulo e a sobrevivência de plantas sob estresse hídrico (2). Tendo a prolina alta solubilidade, supôs-se que durante a ocorrência de um déficit hídrico, a mesma assume importância como fornecedora de nitrogênio e fonte de carbono (7).

Diante disto, a prolina tem sido estudada com a finalidade de se conhecer as respostas das plantas à falta de água e sua possível aplicação como parâmetro de seleção em plantas (5, 8, 12). Entretanto, a correlação entre tolerância à seca e teor de prolina pode não ocorrer (1) e isto pelo fato de que o potencial de acúmulo deste aminoácido talvez esteja diretamente, e simplesmente, relacionado com a diminuição de água nos tecidos (4).

O presente trabalho teve por objetivo a observação da variação do conteúdo de prolina em folhas de mudas de café submetidas a estresse hídrico, a fim de se averiguar a possibilidade de uso deste aminoácido como parâmetro de seleção de cafeeiros tolerantes à seca, já que sua determinação permite avaliar, rapidamente, um grande número de plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas mudas de ano e meio de idade, da introdução BA-10 C1110-10 da Índia e do Cultivar Catuai de *Coffea arabica*. Tais mudas estavam em estufa, plantadas em sacos plásticos contendo a mesma quantidade de substrato (1,5 kg de letossolo roxo). A primeira planta citada, considerada como tolerante, tem sido utilizada no programa de melhoramento do cafeeiro visando tolerância à seca desenvolvido pela Seção de Genética do IAC (9), e a segunda é um cultivar amplamente explorado comercialmente. As sementes que originaram tais plantas foram obtidas por autofecundação e as adubações foram realizadas apenas com fertilizantes químicos e sempre em igual quantidade para os dois genótipos de café.

Vinte e quatro mudas de cada tipo de café foram agrupadas em oito blocos de três plantas e regadas com água até a saturação do solo. Após a saída do excesso de água do substrato, o mesmo foi envolto

¹ Recebido para publicação em 14 de junho 1988.
Agradecimentos: Os autores são gratos à Seção de Genética do I.A.C., que cedeu o material vegetal para este trabalho e onde o mesmo foi conduzido parcialmente.

* Universidade Estadual de Campinas, I.B., Depto. de Fisiologia Vegetal, C.P. 6109, Campinas, SP, CEP 13081.

** Instituto Agrônomo de Campinas, Seção de Fitoquímica

por um saco plástico transparente, que foi fechado na parte superior com fita adesiva, junto ao caule da planta e a um pequeno tubo de 1 cm de diâmetro. Esperava-se com isto, permitir a continuidade entre o ambiente externo e aquele proporcionado pelo envolvimento do substrato com saco plástico transparente, de forma a eliminar o possível efeito tóxico do acúmulo de CO_2 produzido pelas raízes

Após a rega todas as plantas do Catuai foram pesadas no 1°, 4°, 8°, 9°, 10°, 12°, 16° e 19° dia e do C1110-10 no 1°, 4°, 9°, 10°, 11°, 13° e 15° dia, conforme observou-se o desenvolvimento do estresse hídrico. A partir do 10° dia a frequência das pesagens foi determinada conforme o aspecto visual dos sintomas de murcha e o encerramento das mesmas deu-se quando a maioria das plantas de um determinado genótipo apresentava-se com as folhas perpendiculares ao chão e bastante flácidas.

Nos mesmos dias em que foram feitas as pesagens de todas as plantas, fez-se a amostragem do tecido foliar do segundo, terceiro e quarto pares de folhas para a dosagem de prolina. No 1° dia, somente três plantas de cada genótipo foram amostradas. No 4° dia foram amostradas as três plantas do 1° e mais outras três. No 8° dia, as plantas do 1° e 4° foram novamente amostradas e introduziu-se um novo grupo. Desta forma, a cada amostragem havia um novo grupo de três plantas e repetia-se tal procedimento nas mudas dos dias anteriores, sendo que assim, as plantas do 1° dia sofreram oito amostragens, as do 4° sete, do 8° seis e assim por diante, até que as plantas introduzidas no último dia sofreram apenas uma amostragem. Com a introdução a cada dia de um novo grupo de plantas pretendeu-se excluir a possibilidade da interferência do ferimento causado por uma amostragem anterior, do mesmo modo que com as contínuas amostragens em um mesmo grupo pretendeu-se acompanhar o desenvolvimento do estresse hídrico nas mesmas plantas.

Ainda, para atenuar o efeito dos ferimentos nas plantas que receberam contínua amostragem, feita com um furador de 0.5 cm de diâmetro, procedeu-se da seguinte forma (Fig. 1): Na primeira amostragem foram retirados três discos em linha próximo ao bordo de uma das folhas de cada par; na segunda amostragem os discos foram retirados da outra folha do par, próximo ao bordo; na terceira amostragem os discos foram retirados da mesma folha que sofreu a primeira amostragem, porém, do outro lado da nervura, próximo ao bordo; para a quarta amostragem procedeu-se da mesma maneira na folha oposta; na quinta amostragem foi utilizada, novamente, a folha da primeira, do lado também da primeira amostragem, mas, próxima à nervura central; e assim por diante.

Imediatamente à coleta dos discos, estes foram imersos em 5 ml da solução metanol: clorofórmio: água (12:5:1 v/v/v) e armazenados a -5°C . A determinação de prolina foi efetuada de acordo com o método de Rena e Masciotti (11).

Após o término do estresse hídrico imposto as plantas foram regadas e, atingida a turgescência, coletou-se as folhas de cada planta, individualmente, e determinou-se com integrador (Hayashi Denko Co. L.T.D. AAm -5) a área foliar. Em seguida, as folhas foram secas, juntamente com o resto da parte aérea (caule e ramos laterais), em estufa a 70°C até peso constante. O segundo, terceiro e quarto pares de folhas tiveram a área foliar e o peso seco determinados individualmente para cada planta.

Conhecendo-se o peso seco e a área foliar de cada par de folha de cada planta pode-se calcular o peso seco de três discos, o que possibilitou o cálculo de teor de prolina com base em peso seco. Consequentemente, conhecendo-se a área e o peso seco de três discos, restaurou-se a área foliar total e o peso seco total de parte aérea de cada planta, como também pode-se calcular a área foliar de cada planta a cada amostragem. Portanto, a estimativa da transpiração para os intervalos entre cada retirada de amostras ou pesagem, foi feito em função desta área foliar reconstituída.

A superfície relativa do sistema radicular foi obtida pelo método titulométrico de Ramos e Lima (10),

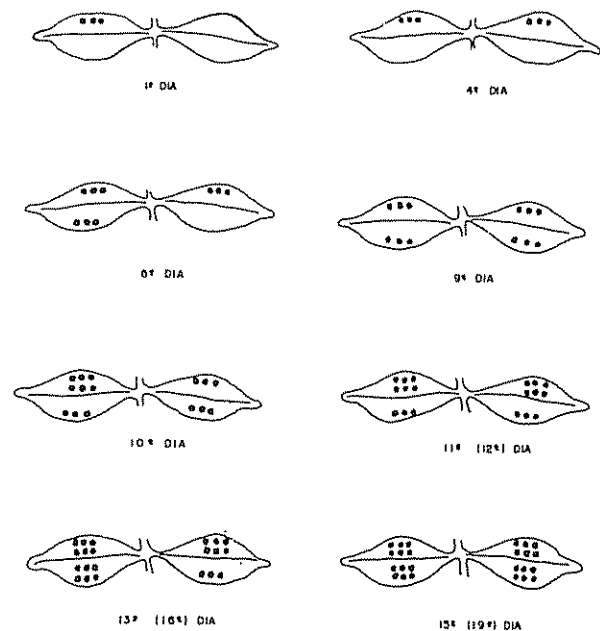


Fig. 1. Esquema para retirada de discos de pares de folhas durante as oito amostragens 1, 2, 3.

para em seguida ser determinado o peso seco em estufa a 70°C até peso constante

RESULTADOS

Observando-se a Tabela 1 pode-se notar que as plantas de C1110-10 apresentaram maior área foliar, superfície relativa de raiz e peso seco de raiz e parte aérea. Nesta mesma tabela pode-se também observar que o total de água transpirada durante o experimento foi igual para os dois genótipos. A transpiração, calculada com base no total de água transpirada e área foliar total, foi maior no Catuaí

Devido ao fato das mudas estarem confinadas a recipientes com mesmo volume de solo, supondo-se assim que com igual volume água no início do experimento, a mesma quantidade de água transpirada poderia ser pela limitação imposta pelo volume de substrato. Desta forma, fez-se a análise estatística da quantidade de água transpirada e da transpiração no período entre o 1º dia e o 10º dia, quando as amostragens foram coincidentes em ambos tipos de café (Tabela 2). Observou-se que as plantas de C1110-10 perderam maior volume de água do que o Catuaí, confirmando a hipótese levantada anteriormente. No entanto, a transpiração do Catuaí ainda foi maior do

que a do C1110-10. Este maior volume transpirado de água poderia ser explicado pelo fato de que C1110-10 apresentou área foliar (1.8x), peso seco da parte aérea (1.75x), superfície relativa de raiz (1.31x) e peso seco de raízes (1.32x) maiores do que Catuaí, logo, maior superfície transpiração e de captação de água. Consequentemente, aliando-se isto à limitação do volume do solo, explica-se o porque das amostragens em C1110-10 terem sido feitas até o 15º dia, enquanto que em Catuaí elas se estenderam até o 19º dia.

A Tabela 3 apresenta os dados da análise de prolina no primeiro grupo de plantas (amostragens desde 1º dia), que sofreu oito amostragens. Em Catuaí, o segundo par de folhas foi o que mostrou valores significativamente maiores em prolina e apesar do teste F ter acusado diferenças entre os dias, o teste de Tukey 5% não diferenciou o 19º dia como o de valor mais alto em prolina. Para C1110-10 ocorreu o inverso, ou melhor, o 15º dia foi diferenciado estatisticamente e o segundo par de folhas não o foi pelo teste de Tukey 5%, apesar do maior valor em prolina. A comparação entre os dois genótipos, quanto ao teor de prolina no segundo par de folhas, não mostrou diferença entre eles.

Tabela 1. Área foliar (AF), superfície relativa de raiz (SRR), peso seco da parte aérea (PSPA), peso seco da raiz (PSR), total de água transpirada (AT), transpiração (T) em mudas de Catuaí e C1110-10¹.

Dia de amostragem	Genótipo	AF ² (cm ²)	SRR (ml/OH)	PSPA (g)	PSR (g)	AT (g)	T ³ (gH ₂ O/cm ² /dia)
1º	C1110-10	993.11	27.20	12.02	5.47	443.33	0.0298
	Catuaí	451.18	13.90	7.23	5.28	351.67	0.0410
4º	C1110-10	1.004.83	27.27	9.51	4.43	420.00	0.0279
	Catuaí	802.82	22.77	12.35	7.80	448.33	0.0294
8º	C1110-10	914.85	30.10	10.95	5.02	366.67	0.0267
	Catuaí	681.13	19.50	9.55	6.73	443.33	0.0343
9º	C1110-10	1.252.55	37.30	14.28	7.58	390.67	0.0214
	Catuaí	688.75	13.93	8.36	5.33	385.00	0.0294
10º	C1110-10	1.201.71	23.87	15.07	6.92	420.00	0.0233
	Catuaí	538.16	20.83	4.97	3.28	431.66	0.0422
11º	C1110-10	1.127.88	22.10	12.61	5.63	428.33	0.0253
12º	Catuaí	661.92	17.47	5.85	2.95	386.67	0.0307
13º	C1110-10	1.169.03	22.27	13.21	5.47	415.00	0.0237
16º	Catuaí	714.21	30.03	7.14	3.55	428.33	0.0316
15º	C1110-10	1.290.26	22.20	15.61	8.12	430.00	0.0222
19º	Catuaí	428.92	23.27	3.69	1.97	368.33	0.0452
\bar{x}	C1110-10	1.119.28A	26.54A	12.91A	6.08A	414.25	0.0250B
\bar{x}	Catuaí	620.87B	20.21B	7.39B	4.61B	405.42	0.0355A
C1110/Catuaí		1.80	1.31	1.35	1.32	1.02	0.70

1 Média de 24 repetições

2 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5%.

3 A transpiração foi calculada com base na área foliar total e total de água transpirada

Tabela 2. Transpiração e água transpirada em Catuai e C1110-10 até o 10º dia¹.

Grupo de ² plantas	Genótipo	Transpiração ³	Água transpirada
		(gH ₂ O/cm ² /dia)	(g)
1º	Catuai	0.0369	150.0
	C1110-10	0.0358	373.3
2º	Catuai	0.0406	280.0
	C1110-10	0.0308	340.0
3º	Catuai	0.0483	305.0
	C1110-10	0.0318	296.7
4º	Catuai	0.0444	273.3
	C1110-10	0.0291	356.7
5º	Catuai	0.0471	273.3
	C1110-10	0.0292	323.3
6º	Catuai	0.0368	250.0
	C1110-10	0.0310	345.0
7º	Catuai	0.0443	243.3
	C1110-10	0.0305	365.0
8º	Catuai	0.0444	296.7
	C1110-10	0.0236	376.7
\bar{x}	Catuai	0.0429 a	198.3 b
\bar{x}	C1110-10	0.0302 b	347.1 a
	C1110/ Catuai	0.70	1.8

1 Média 24 repetições

2 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, grupo 2 ao 4º dia e assim por diante para cada genótipo

3 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5%

Em face às considerações feitas anteriormente quanto ao volume de água transpirada, decidiu-se, neste grupo de plantas, analisar estatisticamente o teor de prolina até o 10º dia. Para ambos tipos de café não foi observada diferença entre pares de folhas, assim como para dia de amostragem, evidenciando que os dados de prolina anteriormente citados, a respeito do segundo par de folhas e ao último dia de amostragem, foram originados pelo aumento da severidade do estresse hídrico após o 10º dia. A comparação entre Catuai e C1110-10 no período de dez dias também mostrou não ocorrer diferença em prolina no segundo par de folhas.

No esquema de amostragem realizado, a cada dia em que estas eram feitas era introduzido um novo grupo de três plantas. Portanto, os dados agora apresentados (Tabela 4) são referentes somente a primeira amostragem de cada grupo de plantas, excluindo-se possíveis influências dos fermentos feitos por amostragens anteriores, como pode ter ocorrido na análise das plantas do primeiro grupo, que sofreram oito amostragens.

Para pares de folhas em Catuai, o teste F foi significativo a 5%, mas o teste de Tukey 5% não evidenciou as diferenças. De qualquer modo, o segundo par de folhas apresentou o maior valor. No 16º dia foram encontrados os maiores valores em prolina, o que seria esperado para o 19º dia. Pode-se explicar isto observando-se na Tabela 1 que este último grupo de plantas apresentou os menores valores em área foliar e total de água transpirada, chegando ao final do experimento em melhor estado de hidratação que as do

Tabela 3. Teor de prolina no segundo (2F), terceiro (3F) e quarto (4F) pares de folhas de Catuai e C1110-10, correspondentes ao grupo que sofreu oito amostragens¹.

Genótipo	Par de Folhas	Dias de Amostragem ²									
		1	4	8	9	10	12	16	19	\bar{x}	
Catuai		(µmoles/g tecido seco)									
	2F	1.844	1.748	1.255	1.585	2.566	1.561	2.391	4.551	2.184A	
	3F	1.294	1.189	1.031	0.898	1.182	1.096	1.204	1.596	1.186B	
	4F	1.133	0.362	1.397	0.948	1.524	1.009	1.114	2.304	1.285B	
	\bar{x}	1.424	1.261	1.228	1.144	1.757	1.222	1.570	2.806	1.552	
		1	4	8	9	10	11	13	15	\bar{x}	
C1110-10		(µmoles/g tecido seco)									
	2F	1.288	1.799	1.804	2.532	1.743	2.515	4.207	14.468	3.794	
	3F	0.991	1.247	1.078	1.323	1.175	1.500	2.044	6.713	2.009	
	4F	1.060	1.103	1.135	1.587	1.147	1.410	2.425	8.641	2.313	
	\bar{x}	1.113b	1.383b	1.339b	1.814b	1.355b	1.808b	2.892b	9.941a	2.706	

1 Média de três plantas para os três pares de folhas

2 Letras maiúsculas diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre os pares de folhas de um mesmo genótipo e letras minúsculas entre dias em um mesmo genótipo.

Tabela 4. Teor de prolina no segundo (2F), terceiro (3F) e quarto (4F) pares de folhas de Catuai e C1110-10, correspondendo cada dia à primeira amostragem de um determinado grupo de plantas¹.

Genótipo	Par de folhas	Dias de Amostragem								
		1	4	8	9	10	12	16	19	\bar{x}
		(μ moles/g tecido seco)								
Catuai	2F	1 844	0 762	1 494	0 574	0 830	1 074	2 459	2 211	1 406
	3F	1 294	0 872	1 018	0 748	0 588	0 727	2 290	1 486	1 128
	4F	1 133	0 799	1 055	0 647	0 273	0 792	1 914	1 042	0 957
	\bar{x}	1 424ab	0 811b	1 188ab	0 656b	0 564b	0 864ab	2 221a	1 580ab	1 164
		1	4	8	9	10	11	13	15	x
		(μ moles/g tecido seco)								
C111-10	2F	1 288	1 348	1 966	1 657	1 201	1 358	2 404	8 055	2 410
	3F	0 991	0 734	1 349	1 393	1 444	1 259	1 986	7 880	2 130
	4F	1 060	0 780	1 140	1 515	1 389	1 089	2 183	8 715	2 234
	\bar{x}	1 113b	0 954b	1 485b	1 522b	1 345b	1 235b	2 191b	8 217a	2 258

1 Média de três plantas para os três pares de folhas

2 Letras minúsculas diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre dias em um mesmo genótipo

grupo anterior. Isto é corroborado, ainda, observando-se a Tabela 5 e 6, que trazem, respectivamente, a transpiração e a média de água transpirada para cada intervalo de amostragem. Nota-se que o grupo de mudas de Catuai que foi introduzido na última amostragem apresentava maior transpiração do que as plantas introduzidas no 16º dia, em um nível semelhante ao início do experimento. Quanto à água transpirada, observamos que as plantas do último grupo introduzido perdiam, também, mais água no intervalo do 12º ao 16º dia e do 16º ao 19º dia do que as do grupo que foi amostrada pela primeira vez no 16º dia.

Em C111-10 não foram constatadas diferenças significativas pelo teste F entre pares de folhas. Salientou-se na apresentação dos dados do primeiro grupo de plantas (Tabela 2) que a diferenciação entre pares de folhas era ocasionado pelo estresse hídrico, o qual era mais intenso nos dois últimos dias de amostragem (Tabela 3). Portanto, no presente caso as plantas de C111-10 atingiram a última amostragem com severo déficit hídrico, este sendo detectado visualmente, assim como pelos cálculos de transpiração (Tabela 5) e da água transpirada (Tabela 6) entre amostragens. Tais grupos de plantas de C111-10 (13º e 15º dia) praticamente não perderam água entre a penúltima e última amostragem, caindo a taxa de transpiração para valores médios próximos a 0 0060 gH₂O/cm²/dia e a perda de água transpirada para 15 g. Com isto, os valores de prolina entre os pares de folhas tenderam a se igualar nos pares de folhas do último grupo amostrado. A comparação entre os valores de prolina no segundo par de folhas de C1110-10 e Catuai não mostrou diferenças significativas.

Também referente aos dados da Tabela 4, analisou-se estatisticamente o teor de prolina até o 10º dia. Para Catuai e C1110-10 não foram observadas diferenças significativas entre pares de folha, assim como também não se observou diferenças entre os genótipos quando comparados ao segundo par

De acordo com os resultados anteriores (Tabela 3 e Tabela 4), considerou-se que o segundo par de folhas seria o melhor para se analisar o teor de prolina e para diferenciar os dois genótipos estudados. Assim, com exceção das amostras das plantas que foram introduzidas logo no primeiro dia (Tabela 3) e das amostras que foram retiradas das plantas que sofriam a primeira amostragem (Tabela 4), todas as outras análises do teor de prolina foram feitas somente no segundo par de folhas. Desta forma, o primeiro grupo tinha oito dados por planta sobre prolina no segundo par de folhas, as do segundo grupo tinham sete, do terceiro seis e assim por diante até o último grupo que tinha apenas um dado por planta (Tabela 7). A comparação de todos estes valores entre Catuai e C111-10 mostrou que o último genótipo diferia estatisticamente do primeiro ao nível de 5% pelo teste F. A comparação com os dados até o 10º dia não mostrou diferença entre os genótipos.

A correlação entre os teores de prolina contidos na Tabela 6 com os respectivos valores de transpiração do intervalo de amostragem (Tabela 5) indicou $r = 0.20$ para Catuai e $r = -0.34$ para C111-10, mostrando a baixa correlação entre prolina e déficit hídrico, através da transpiração.

Tabela 5. Transpiração em Catuai e C1110-10 correspondente a cada intervalo de amostragem¹.

Genótipo	Grupo de ⁴ plantas amostradas	Intervalo de Amostragem ²								
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-12	12-16	16-19	\bar{x}
(gH ₂ O/cm ² /dia)										
Catuai	1	<u>0.0413</u>	0.0265	0.0318	0.0387	0.0460	0.0637	0.0488	0.0367	0.0417
	2	0.0346	<u>0.0258</u>	0.0347	0.0221	0.0350	0.0328	0.0336	0.0166	0.0274
	3	0.0449	0.0302	<u>0.0451</u>	0.0452	0.0397	0.0330	0.0229	0.0140	0.0343
	4	0.0480	0.0238	0.0349	<u>0.0404</u>	0.0301	0.0253	0.0204	0.0123	0.0294
	5	0.0628	0.0246	0.0494	<u>0.0333</u>	<u>0.0456</u>	0.0572	0.0374	0.0273	0.0422
	6	0.0373	0.0277	0.0401	0.0416	<u>0.0356</u>	<u>0.0310</u>	0.0202	0.0121	0.0307
	7	0.0345	0.0238	0.0497	0.0416	0.0391	<u>0.0320</u>	<u>0.0187</u>	0.0134	0.0316
	8	0.0427	0.0365	0.0440	0.0475	0.0513	0.0566	<u>0.0470</u>	<u>0.0360</u>	0.0452
	\bar{x}	0.0433	0.0274	0.0412	0.0388	0.0403	0.0415	0.0311	0.0211	0.0356
UR% ³		64.0	75.3	67.5	54.7	73.3	60.4	64.9	43.3	
(gH ₂ O/cm ² /dia)										
C1110-10	1	<u>0.0367</u>	0.0252	0.0518	0.0396	0.0345	0.0241	0.0114	0.0152	0.0298
	2	<u>0.0316</u>	<u>0.0238</u>	0.0467	0.0334	0.0276	0.0376	0.0103	0.0121	0.0279
	3	0.0422	0.0196	<u>0.0482</u>	0.0158	0.0350	0.0335	0.0068	0.0128	0.0267
	4	0.0363	0.0181	0.0348	<u>0.0331</u>	0.0220	0.0161	0.0045	0.0073	0.0214
	5	0.0338	0.0211	0.0348	<u>0.0393</u>	<u>0.0172</u>	0.0183	0.0097	0.0129	0.0234
	6	0.0302	0.0255	0.0319	0.0315	<u>0.0231</u>	<u>0.0337</u>	0.0113	0.0150	0.0253
	7	0.0372	0.0291	0.0355	0.0312	0.0230	<u>0.0193</u>	<u>0.0063</u>	0.0065	0.0235
	8	0.0221	0.0270	0.0406	0.0346	0.0219	0.0188	0.0050	<u>0.0076</u>	0.0222
	\bar{x}	0.0338	0.0237	0.0405	0.0323	0.0255	0.0252	0.0082	0.0112	0.0250
UR%		64.0	75.3	67.5	54.7	73.3	63.7	62.7	65.5	

1 Média de três repetições.

2 Nos dias em que há número sublinhado é quando deu-se início da amostragem para prolina no respectivo grupo de plantas.

3 Umidade relativa média durante os intervalos entre amostragens.

4 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

DISCUSSÃO

Pelos dados apresentados evidenciou-se que no segundo par de folhas houve maior acúmulo de prolina, o que, provavelmente, se deve ao fato de que tais folhas sendo mais novas que as outras dos outros pares, ressentem-se mais sob déficit hídrico por serem drenos metabolicamente ativos dentro da planta. No entanto, observou-se que, dependendo da severidade do estresse imposto, é possível que o teor de prolina seja o mesmo nos três pares de folhas analisados (C1110-10 Tabela 4).

O acúmulo de prolina nas folhas de café somente ocorreu quando o estágio de déficit hídrico era avançado pois, comparando-se a perda de água transpirada,

a transpiração e o acúmulo do aminoácido no período em que houve coincidência de amostragem não foram observadas diferenças entre pares de folhas dentro de cada tipo de café, como também entre o teor de prolina no segundo par de folha entre os genótipos.

Waldren e Teare (14) e Waldren *et al* (15) observaram aumento do teor de prolina em folhas de soja somente quando as plantas foram submetidas a longo período de estresse hídrico, o que de certa forma parece ser semelhante ao ocorrido com Catuai e, principalmente, com C1110-10.

Hanson e Nelsen (3) sugeriram que o acúmulo de prolina seria um sintoma de injúria. Apesar de ter-se considerado que a prolina tem o papel de fonte de

Tabela 6. Quantidade média de água transpirada por dia em Catuaí e C1110-10, correspondente a cada intervalo de amostragem¹.

Genótipo	Grupo de ³ plantas amostradas	Intervalo de Amostragem ²								\bar{x}
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-12	12-16	16-19	
		(g)								
Catuaí	1	<u>18,3</u>	35 0	60 0	16 7	20 0	53 3	75 0	40 0	39 0
	2	28 3	<u>71,7</u>	123 3	11 7	45 0	41 7	80 0	36 7	54 8
	3	28 3	61 7	<u>143,3</u>	45 0	30 0	53 3	58 3	26 7	55 8
	4	40 0	50 0	125 0	<u>38,3</u>	20 0	35 0	56 7	20 0	48 1
	5	38 3	41 7	126 7	18 3	<u>25,0</u>	63 3	75 0	40 0	53 5
	6	25 0	55 0	113 3	26 7	<u>23 3</u>	<u>68,3</u>	51 7	23 3	48 3
	7	30 0	51 7	141 7	45 0	31 7	48 3	<u>53,3</u>	30 0	54 0
	8	18 3	46 7	76 7	20 0	36 7	48 3	<u>78 3</u>	<u>43,3</u>	46 0
	\bar{x}	28 3	51 7	113 7	27 7	29 0	51 4	66 0	32 5	50 0
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-11	11-13	13-15	x
		(g)								
C1110-10	1	<u>36,7</u>	73 3	203 3	28 3	31 7	23 3	20 0	26 7	55 4
	2	30 1	<u>71,7</u>	186 7	23 3	26 7	36 7	20 0	23 3	52 3
	3	38 3	51 7	<u>173,3</u>	11 7	28 3	28 3	10 0	21 7	45 4
	4	45 0	66 7	176 7	<u>41,7</u>	25 0	20 0	15 0	18 3	51 1
	5	36 7	68 3	158 3	41 7	<u>18,3</u>	20 0	20 0	26 7	48 8
	6	33 3	86 7	160 0	33 3	31 7	<u>33,3</u>	21 7	28 3	53 5
	7	43 3	95 0	165 0	36 7	25 0	20 0	<u>15,0</u>	15 0	51 9
	8	28 3	103 3	206 7	8 3	30 0	23 3	11 7	<u>18,3</u>	53 7
	\bar{x}	36 5	77 1	178 8	28 1	27 1	26 9	16 7	22 3	51 6

1 Média de três repetições.

2 No dia em que há número sublinhado, é quando deu-se o início da amostragem para prolina no respectivo grupo de plantas.

3 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

nitrogênio e carbono para a planta quando sob déficit hídrico (7), acredita-se que a contribuição deste aminoácido no transporte e fornecimento de nitrogênio parece ser pouco significativo, quando levada em consideração a reserva total de nitrogênio (6) e que o seu acúmulo seja ocasionado pela injúria imposta pelo estresse ao tecido (3).

Pela observação das Tabelas 5 e 6 podemos notar que a transpiração e a perda de água por transpiração em C1110-10 apresentava-se, praticamente, nas mesmas taxas nos dois últimos intervalos de amostragem. No entanto, supondo-se verdadeiro que o acúmulo de prolina seja indicativo de tolerância à seca os dados sobre o aminoácido apresentados nas Tabelas 3 e 4 são discordantes com os das Tabelas 5 e 6, pois seria esperado que já na penúltima amostragem ele estivesse em níveis semelhantes aos da última, no 15º dia. Ainda assim, poderia ser argumentado que o nível do déficit hídrico na última amostragem, ultrapassasse por demais a capacidade das plantas de C1110-10 to-

lerarem a falta de água no solo. Contra-argumenta-se então, que pela observação da Tabela 3, onde as plantas analisadas eram sempre as mesmas, os teores de prolina na última amostragem de Catuaí eram bastante semelhantes aos teores do penúltimo dia de amostragem do C1110-10 e que a quantidade de H₂O transpirada em C1110-10 já era bem reduzida no 13º dia. Com isto acredita-se que o elevado teor de prolina na amostragem final de C1110-10, principalmente no caso da Tabela 4 onde foram igualados os valores entre os pares de folha, seja devido à injúria.

Segundo os dados sobre superfície relativa de raiz, peso seco de raiz e transpiração as mudas de C111-10 podem ser consideradas como possuidoras de características desejáveis em uma planta que deve tolerar a falta de água. Analisando-se somente o período em que as amostragens foram comuns aos dois genótipos, observou-se que C1110-10 mantinha, também, menor taxa de transpiração do que Catuaí. Neste período, C1110-10 teve maior perda de água por transpiração,

Tabela 7. Teor de prolina no segundo par de folhas em C1110-10 e Catuai nos vários dias de amostragens¹.

Genótipo	Grupo de ² plantas amostradas	Dias de Amostragem								
		1	4	8	9	10	12	16	19	\bar{x}
(μmoles/g tecido seco)										
Catuai	1	1 844	1 748	1 255	1 585	2 566	1 561	2 391	4 517	2 183
	2		0.762	0.426	0.511	1.319	1.491	2 517	7 258	2 041
	3			1.494	0.727	0.909	0.830	1 433	5.988	1.897
	4				0.574	1.476	1.157	2 104	7 991	2 660
	5					0.830	0.602	1 216	3 704	1 588
	6						1.074	1 922	6 600	3 199
	7							2 459	4 338	3 399
	8								2 211	2 211
	\bar{x}		1 844	1 255	1 058	0 849	1 420	1.119	2.006	5 577
(μmoles/g tecido seco)										
C1110-10	1	1 288	1 799	1 804	2 532	1 743	2 515	4 207	14 468	3 795
	2		1.348	0.989	1.071	1.707	2.024	4 189	6.027	2 479
	3			1.966	1.181	1.182	1.306	5 658	10 042	3 556
	4				1.657	0.828	1.616	4 418	16 008	4 905
	5					1.201	1.216	2 537	6.530	2 798
	6						2.126	2.306	3.963	2.798
	7							2.404	4.413	3.409
	8								8.055	8.055
	\bar{x}		1.288	1.574	1.586	1.610	1.332	1.801	3.674	8.688

1 Média de três repetições

2 Cada grupo de plantas (2) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

o que explica-se, principalmente, pela maior área foliar do que pela maior captação de água do solo, devido ao desenvolvido sistema radicular, já que não foi estudada a eficiência das raízes na absorção de água. Considerando-se, ainda que o volume de substrato era limitado pode-se supor que, possivelmente, esta planta quando instalada em um sistema aberto (campo) suporte melhor a falta de água no solo. De acordo com Mazzafera e Carvalho (9), descendentes de hibridações entre esta introdução da Índia com cafeeiros Mundo Novo e Catuai têm mostrado boa produtividade e tolerância à seca, quando em condições de campo.

Portanto, estabelecido que Catuai e C1110-10 diferem realmente quanto a capacidade de suportar um estresse hídrico, pode-se concluir que o acúmulo de prolina não evidencia a capacidade que tais plantas têm em tolerar a falta de água no solo e sim, aparenta ser um sintoma de injúria. Sabendo-se que o programa de melhoramento do cafeeiro visando tolerância à seca desenvolvido pela Seção de Genética do IAC tem se baseado em parte na planta C1110-10, supõe-se, portanto, que a dosagem deste aminoácido não seria um bom parâmetro de seleção para cafeeiros tolerantes à seca.

LITERATURA CITADA

- BHASKARAN, S.; SMITH, R. H.; NEUTON, R. J. 1985. Physiological changes in cultured sorghum cells in response to induced water stress I. Proline. *Plant Physiology* 79:266-269.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. A. 1980. Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31:149-190.
- HANSON, A. D.; NELSEN, C. E. 1978. Betaine accumulation and ⁻¹⁴C formate metabolites in water-stressed barley leaves. *Plant Physiology* 62:305-312.
- HANSON, A. D.; HINCKLEY, I. M.; BROWN, G. N. 1977. The effects of dehydration-rehydration cycles on protein synthesis of black locust seedlings. *Physiologia Plantarum* 40:1-5.

5. HANSON, A.D.; NELSEN, C.E.; PEDERSEN, A.R.; EVERSON, E.H. 1979a. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought tolerance. *Crop Science* 19:489-493
6. HANSON, A.D.; NELSEN, C.E.; TULLEY, E.R. 1979b. Proline accumulation in water stressed barley leaves in relation to translocation and the nitrogen. *Plant Physiology* 63:518-523
7. JAGER, H.J.; MEYER, H.R. 1977. Effect of stress on growth and proline metabolism of *Phaseolus vulgaris* L. *Oecologia* 30:83-96
8. MACHADO, R.C.R.; RENA, A.B.; VIEIRA, C. 1976. Efeito da desidratação osmótica no acúmulo de prolina livre em discos foliares de vinte cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) *Revista Ceres (Viçosa)* 23:302-309
9. MAZZAIERA, P.; CARVALHO, A. 1987. *Bragantia*, no prelo
10. RAMOS, L.C.S.; LIMA, M.M.A. DE. 1980. Avaliação da superfície relativa do sistema radicular de cafeeiros. *Bragantia* 39:1-5.
11. RENA, A.B.; MASCIOTTI, G.Z. 1979. Efeito do déficit hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio e crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) *Revista Ceres (Viçosa)* 23:288-301
12. SAWAZAKI, H.E.; TEIXEIRA, J.P.F.; D'ARTAGNAN DE ALMEIDA, L. 1981a. Estresse de água no crescimento, produtividade e acúmulo de prolina em feijão. *Bragantia* 40:157-166.
13. SAWAZAKI, H.E.; TEIXEIRA, J.P.F.; D'ARTAGNAN DE ALMEIDA, L. 1981b. Variação do teor de prolina em folhas de feijão em função da disponibilidade de água no solo. *Bragantia* 40:47-56.
14. WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1974. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant Soil* 40:689-692
15. WALDREN, R.P.; TEARE, I.D.; EHLER, S.W. 1974. Changes in free proline concentrations in sorghum and soybean plants under field conditions. *Crop Science* 14:447-450

Meloidogyne arabicida sp.n. (Nemata: Heteroderidae) Nativo de Costa Rica: un Nuevo y Severo Patógeno del Cafeto¹

R. López*. I. Salazar*

ABSTRACT

Meloidogyne arabicida sp.n., a root-knot nematode causing the death of coffee trees in Juan Viñas, Costa Rica, is described and illustrated. Females have a peculiar perineal pattern and the medial lips divided by an indentation, while the males have a smooth cephalic region with a single annule and areolated lateral fields. Second-stage juveniles (J2) have a smooth cephalic region with a single annule, and a short and incomplete stria on the lateral sectors. Lateral lips are narrow and arched, and the rectum is dilated. *M. arabicida* sp.n. can be distinguished from the related *M. sugamiensis* by qualitative and quantitative characters of females, males and J2.

¹ Recibido para publicación el 13 de julio 1989.

* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica. El primer autor es miembro del Programa Financiero de Apoyo a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT). Los autores agradecen la ayuda técnica del señor Justo Azofeifa, de la señorita Karen Campos Briceño y de la Sra. Suria Sánchez.

COMPENDIO

Se describe e ilustra el nematodo formador de nódulos radiculares en café, *Meloidogyne arabicida* sp.n., encontrado en Juan Viñas, Costa Rica. Las hembras de esta nueva especie se caracterizan por tener un diseño perineal de forma peculiar y los labios medios separados por una indentación en el centro, mientras que los machos tienen una región cefálica lisa, con un sólo anillo y los campos laterales areolados. Los segundos estados juveniles (J2) tienen la región cefálica lisa, con un sólo anillo y una estria corta e incompleta en las porciones laterales; los labios laterales son angostos y levemente arqueados y el recto es dilatado. *M. arabicida* sp.n. puede ser distinguida de la especie cercana *M. sugamiensis* por características cualitativas y cuantitativas de las hembras, los machos y los J2.

INTRODUCCION

En 1982 el Ing. Felipe Perlaza, en ese entonces con la Sección de Nematología del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, trajo a nuestro Laboratorio raíces de café (*Coffea arabica* L.) cv. Caturra, colectadas en el distrito de Juan

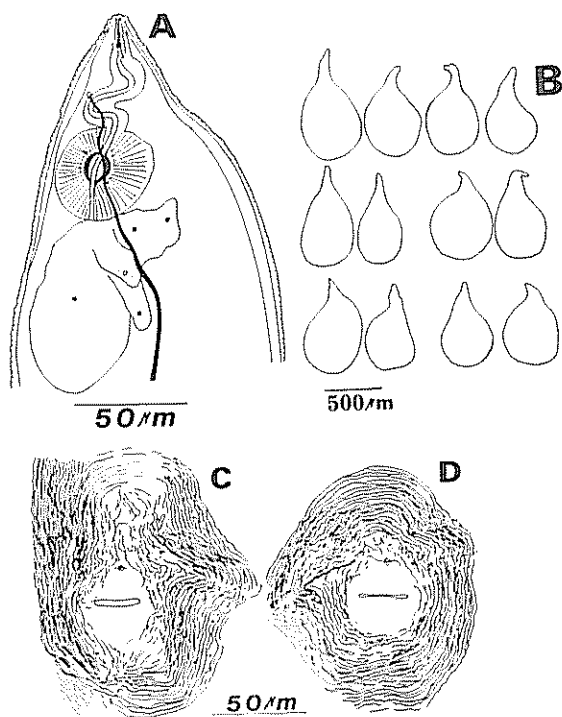


Fig 1 Dibujos de hembras de *Meloidogyne arabicida* sp.n. A: región esofágica; B: forma del cuerpo; C, D: diseños perineales

Viñas, cantón de Jiménez, provincia de Cartago, Costa Rica, fuertemente atacadas por un nematodo formador de agallas radicales. Posteriores visitas a la zona afectada permitieron observar que las plantas atacadas presentaban inicialmente una fuerte clorosis, seguida por defoliación severa, pobre desarrollo, momificación y caída de los frutos, un sistema radical poco desarrollado, con engrosamientos grandes y numerosos, tanto en la raíz principal como en las axiales y secundarias; estas raíces también mostraban un resquebrajamiento de la corteza en las zonas engrosadas, así como un desprendimiento parcial de la misma. Al abrir las agallas fue posible observar una gran cantidad de tejido corchoso, que al ser removido permitió ver amplias zonas de tejido necrosado. En tejidos menos dañados se encontró gran cantidad de hembras ovigeras, machos y masas de huevos, tanto en las agallas como en los tejidos vasculares de la parte inferior del tallo, al nivel del suelo. La enfermedad eventualmente causa la muerte de las plantas. Un estudio morfológico detallado de este nematodo permitió concluir que el mismo es una especie nueva, la que es descrita e ilustrada a continuación bajo el nombre de *Meloidogyne arabicida* sp.n.

MATERIALES Y METODOS

Raíces de café atacadas por *M. arabicida* sp.n. fueron colectadas en la localidad tipo de Juan Viñas,

transportadas al Laboratorio y disectadas bajo un microscopio estereoscópico; los especímenes extraídos fueron usados para todos los estudios morfológicos y morfométricos.

Estudio con el microscopio de luz (ML)

Raíces con agallas fueron colocadas en platillos siracusa con agua potable y disectadas bajo un estereoscopio a 45X de magnificación. Hembras, machos y masas de huevos fueron extraídos de estas raíces. Huevos de varias masas fueron colectados con la ayuda de un gotero, puestos sobre portaobjetos de vidrio, cubiertos con cubreobjetos y sellados con Glyceel (R); otros huevos fueron depositados en platillos BPI en agua potable y se les dejó durante 24 horas para que los huevos eclosionaran; los segundos estados juveniles (J2) fueron inicialmente fijados en TAF caliente a 60°C y luego fueron procesados para su montaje permanente según el método lento de Thorne (9). Los machos que salieron de fragmentos de la raíz principal de varias plantas fueron mantenidos primero en agua potable, luego fijados en TAF caliente y finalmente procesados por el método lento de Thorne (9). En el caso de las hembras, un grupo fue sumergido en lactofenol puro, donde se les mantuvo hasta que fueron montadas permanentemente en portaobjetos cóncavos que contenían lactofenol puro; otras hembras fueron puestas sobre un portaobjetos plástico y su parte anterior fue cortada con ayuda de un escalpelo fino; éstas porciones fueron luego montadas en lactofenol puro en un portaobjetos de vidrio, cubiertas con un cubreobjetos y selladas con Glyceel (R); la parte posterior del cuerpo fue sumergida en ácido láctico al 45%, los tejidos internos removidos y el diseño perineal cortado y montado en lactofenol puro (4, 8). Todos los especímenes fueron observados en un ML Olympus BH-2 con óptica de campo brillante y óptica de contraste de interferencia diferencial Nomarski; se tomó fotografías por medio de un sistema de fotomicrografía Olympus PM-10 AD adaptado al microscopio. Los dibujos de hembras, machos y J2 fueron preparados con la ayuda de un aditamento de dibujo adaptado al mismo microscopio.

Estudio con el microscopio electrónico de rastreo (MER)

Hembras, machos y J2 recién salidos del huevo fueron procesados para su observación al MER según el método descrito por López y Salazar (5); los especímenes fueron observados en un MER Hitachi S-570 a 15 Kv de voltaje acelerador; para la descripción de los diferentes estados de *M. arabicida* sp.n. se utilizó la terminología propuesta por varios autores (1, 2, 3).

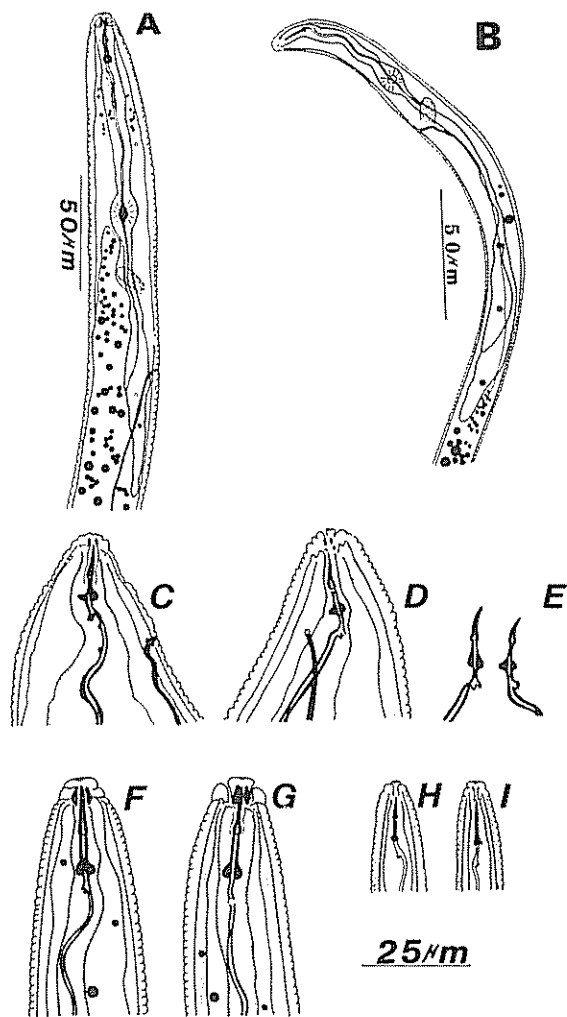


Fig. 2. Dibujo de *Meloidogyne arabicida* sp. n. A, F, G: machos; B, H, I: segundos estados juveniles; C-E: hembras. A, B: región esofágica; C, D, F, -I: región anterior; E: estiletes

Sistemática

Meloidogyne arabicida sp. n

Hembras

Medidas: Las medidas y otros parámetros de las características morfológicas estudiadas en 30 hembras son presentadas en el Cuadro 1

Medidas del holotipo (hembra) en lactofenol: L: 0.665 mm; diámetro máximo: 385 µm; a: 1.72; estilete: 12 µm; OGDE: 3 µm; estoma-poro excretor: 31 µm; estoma-mitad del metacarpus: 88 µm; ancho metacarpus: 28 µm; longitud metacarpus: 31 µm; ancho aparato valvular: 11 µm; longitud aparato valvular: 15 µm. El diseño perineal no es visible; unas estructuras globosas, aparentemente secretadas por la hembra, rodean la región labial.

Descripción (Fig. 1, 2, 4, 5): cuerpo de color blanco perlado, sasciforme, ovalado, con la parte anterior puntiaguda y la posterior levemente aplanada o redondeada (Fig. 1 B). La cutícula es anillada, a menudo con la anulación incompleta en la región anterior del cuerpo (Fig. 1 A). La región cefálica está levemente separada del resto del cuerpo (Fig. 2 C). Vista al MER, la región labial presenta un disco labial relativamente rectangular, ligeramente elevado sobre los labios medios. El prestoma es ovalado y está orientado en el plano dorso-ventral; está rodeado por sensilas labiales internas difíciles de discernir, que abren al exterior mediante pequeños poros redondeados. El estoma tiene una abertura en forma de rendija, orientado en el plano dorso-ventral. Los labios medios están divididos en su parte central por una indentación profunda. Las aberturas anfidiales tienen forma de rendijas rectangulares localizadas inmediatamente debajo de los bordes laterales del disco labial. Los labios laterales son inconspicuos. La región cefálica

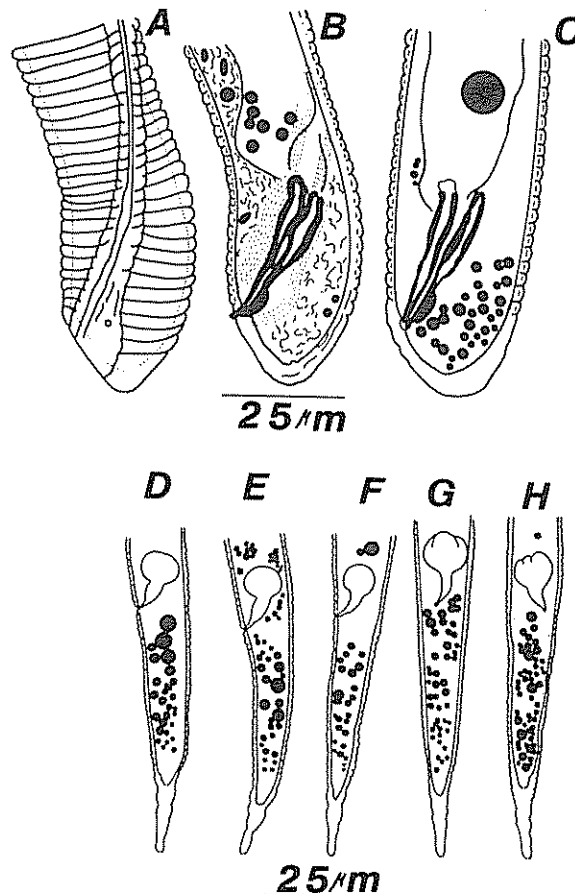


Fig. 3. *Meloidogyne arabicida* sp. n. A-C: colas de machos; D-H: colas de segundos estados juveniles.

Cuadro 1. Valores promedio y otros parámetros de varias características de hembras y huevos de *Meloidogyne arabicida* sp.n..

Característica	Promedio	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Error estándar del promedio	CV (%)
Hembras						
Medidas lineales						
Longitud total	0.773*	1.206	0.543	131.9	24.51	17
Diámetro máximo	445	586	310	62.1	11.50	14
Diámetro a nivel mitad del metacarpus	74	110	51	13.7	2.54	18
Estoma-mitad del metacarpus	84	109	70	8.9	1.62	11
Ancho metacarpus	36	46	22	6.1	1.11	17
Largo metacarpus	37	44	24	4.9	0.89	13
Ancho válvula del metacarpus	11	13	9	1.0	0.18	9
Largo válvula del metacarpus	13	15	10	1.3	0.23	10
Estilete	12	13	10	1.0	0.18	9
Altura nódulos	2.1	2.8	1.4	0.4	0.07	19
Ancho nódulos	3.6	4.5	2.8	0.4	0.07	11
OGDE	4.3	6.1	2.8	0.6	0.10	14
Estoma-poro exc.	30	59	18	7.8	1.44	59
Vulva	24	27	20	2.2	0.40	9
Ano-vulva	19	26	14	2.5	0.45	13
Dist. interfasmidial	19	24	13	2.6	0.48	14
Proporciones						
a	1.7	2.6	1.4	0.2	0.03	12
Ancho/altura nódulos	1.7	2.5	1.3	0.3	0.05	17
Largo/ancho metacarpus	1.0	1.6	0.7	0.1	0.01	10
Largo/ancho válvula	1.2	1.5	0.8	0.1	0.01	8
Huevos						
Largo	90	101	8	4.8	0.87	5
Ancho	49	53	45	1.8	0.32	4
Largo/ancho	1.8	2.2	1.6	0.1	0.01	5

* Promedio de 30 observaciones. Todas las medidas en μm , excepto la longitud total (mm).

está formada por un sólo anillo (Fig. 4 A-C). Vista al ML la región cefálica aparece esclerotizada. El vestíbulo del estoma y su extensión son fácilmente visibles (Fig. 2 C). El estilete es relativamente corto, delicado; el cono está curvado dorsalmente y tiene una base triangular en su unión con la columna. La columna es relativamente corta y tiene el mismo diámetro en toda su extensión. Los tres nódulos basales son ovalados y están proyectados posteriormente. El lumen del estilete se reduce gradualmente al llegar al cono (Fig. 2 C-E). El orificio de la glándula dorsal esofágica está ramificado. El lumen del esófago en el procorpus es relativamente ancho y presenta a menudo unos abultamientos redondeados (Fig. 2 C). El poro excretor se localiza al nivel de la parte anterior del procorpus. El ducto excretor es curvado y con cierta frecuencia tiene un abultamiento triangular cerca del poro excretor (Fig. 2 C); al llegar al nivel del intestino el ducto ya no es muy evidente. El metacarpus es grande, redondeado, musculoso y tiene en su centro el ovalado y esclerotizado aparato valvular (Fig. 1 A). La porción basal glandular del esófago aparece como una estructura masiva, compuesta por al menos tres lóbulos,

en los que son distinguibles cinco núcleos grandes (Fig. 1 A). Los diseños perineales (Fig. 1 C, D; 4 D-F; 5 A-F) tienen contornos relativamente angulares, con estrias gruesas en el centro y más finas en la periferia; el arco dorsal es relativamente alto y rectangular. La mayoría de los diseños tienen proyecciones laterales de las estrias, hasta formar alas, las que pueden estar presentes en ambas o en sólo una de las porciones laterales. Los fasmidios son pequeños. La vulva es una rendija alargada, lisa, sin estrias prominentes que se originen en ella.

Machos

Medidas: Las medidas y otros parámetros de las características estudiadas en 30 machos son presentadas en el Cuadro 2.

Medidas del alotipo: L: 1.768 mm; diámetro máximo: 23.6 μm ; diámetro del cuerpo a nivel de los nódulos: 16.4 μm ; poro excretor-estoma: 147.5 μm ; mitad del metacarpus-estoma: 82 μm ; altura de la

Cuadro 2. Algunos parámetros de varias características de machos de *Meloidogyne arabicida* sp.n..

Característica	Promedio	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Error estándar del promedio	CV (%)
Medidas lineales						
Longitud total	1 414*	1 881	0.905	0 252	0 046	18
Diámetro máximo	26	35	16	4 6	0 86	17
Diámetro a nivel de los nódulos	16	19	11	1 9	0 35	12
Diámetro a nivel del poro exc.	24	29	18	2 3	0 42	10
Diámetro a nivel del metacarpus	22	32	17	2 8	0 51	12
Estoma -poro exc.	140	178	87	19 8	3 74	14
Estoma-mitad del metacarpus	86	106	57	8 7	1 64	10
Altura cabeza	5	7	4	0 7	0 13	14
Ancho cabeza	11	12	9	1 3	0 24	12
Poro exc -mitad del metacarpus	60	89	39	12 7	0 29	21
Estilete	19	22	16	1 6	0 22	8
Estoma-nódulos	22	23	19	1 2	0 22	5
Columna + nódulos	10	15	7	1 4	0 26	15
Cono	10	15	9	1 2	0 21	11
Altura nódulos	3	4	2	0 5	0 09	17
Ancho nódulos	5	6	3	0 6	0 11	13
OGDE	4	5	3	0 7	0 13	17
Ancho metacarpus	11	16	7	2 4	0 48	22
Ancho válvula del metacarpus	4	6	3	0 9	0 19	22
Largo válvula del metacarpus	6	10	5	1 3	0 28	20
Testículo	624	846	403	123 8	23 85	20
Espículas	27	36	19	4 4	0 86	16
Gubernaculum	8	10	7	0 9	0 19	11
Cola	15	20	9	3 0	0 55	21
Cloaca-fasmidios	5	7	2	2 7	0 65	56
Fasmidio-terminus	8	14	3	2 7	0 54	35
Proporciones						
a	55 2	75 0	41 0	9 2	1 77	17
c	100 1	143 0	57 0	22 6	4 20	23
L/estoma-mitad del metacarpus	17 2	33 1	10 4	4 3	0 81	25
Ancho/altura cabeza	2 1	2 7	1 6	0 3	0 05	14
Ancho/altura nódulos	1 5	2 3	0 8	0 3	0 05	20
Largo/ancho válvula	1 5	2 0	0 6	0 3	0 06	20
Porcentajes						
Poro excretor	10 3	14 0	7 9	1 9	0 35	18
T	44 4	58 0	31 0	6 2	1 19	14

* Promedio de 30 observaciones. Todas las medidas en μm , excepto la longitud total (mm).

cabeza: $4.1 \mu\text{m}$; ancho de la cabeza: $10.9 \mu\text{m}$; poro excretor-mitad del metacarpus: $64.2 \mu\text{m}$; estilete: $18.4 \mu\text{m}$; base nódulos-estoma: $21.2 \mu\text{m}$; columna + nódulos: $8.8 \mu\text{m}$; cono: $9.6 \mu\text{m}$; altura nódulos: $2.7 \mu\text{m}$; ancho nódulos: $4.1 \mu\text{m}$; OGDE: $4.1 \mu\text{m}$; ancho del metacarpus: $10.2 \mu\text{m}$; ancho válvula del metacarpus: $3.9 \mu\text{m}$; longitud válvula del metacarpus: $6.1 \mu\text{m}$; testículo: $553 \mu\text{m}$; espículas: $31.4 \mu\text{m}$; gubernaculum: $9.6 \mu\text{m}$; cola: $13.7 \mu\text{m}$; cloaca-fasmidios: $2.3 \mu\text{m}$; fasmidio-terminus: $6.8 \mu\text{m}$; a: 75; c: 129; % poro excretor: 8.3; T (%): 31

Descripción: (Fig. 2, 3, 6): El cuerpo es vermiforme, de longitud variable, puntiagudo en el extremo anterior (Fig. 2 A) y redondeado en el posterior (Fig. 3 A-C). La región cefálica es levemente más angosta

que el resto del cuerpo, lisa, con un sólo anillo y con el casco cefálico fácilmente discernible (Fig. 2 A, F, G). Vistos al MER (Fig. 6 A-H) los machos presentan un casco cefálico constituido por un disco labial grande y redondeado, fusionado con los labios medios, levemente elevado sobre éstos, con los bordes laterales redondeados; en unos pocos especímenes fue factible observar unas pequeñas muescas que marcaban la unión lateral de los bordes del disco con los labios medios (Fig. 6 C), al igual que una estria corta, incompleta, localizada en la parte media de la región cefálica (Fig. 6 C, F). El ovalado prestoma está localizado en el centro del disco labial y está rodeado por seis sensilas labiales internas, con aberturas en forma de diminutos poros. La abertura del estoma tiene forma de rendija, orientada en el plano dorso-ventral

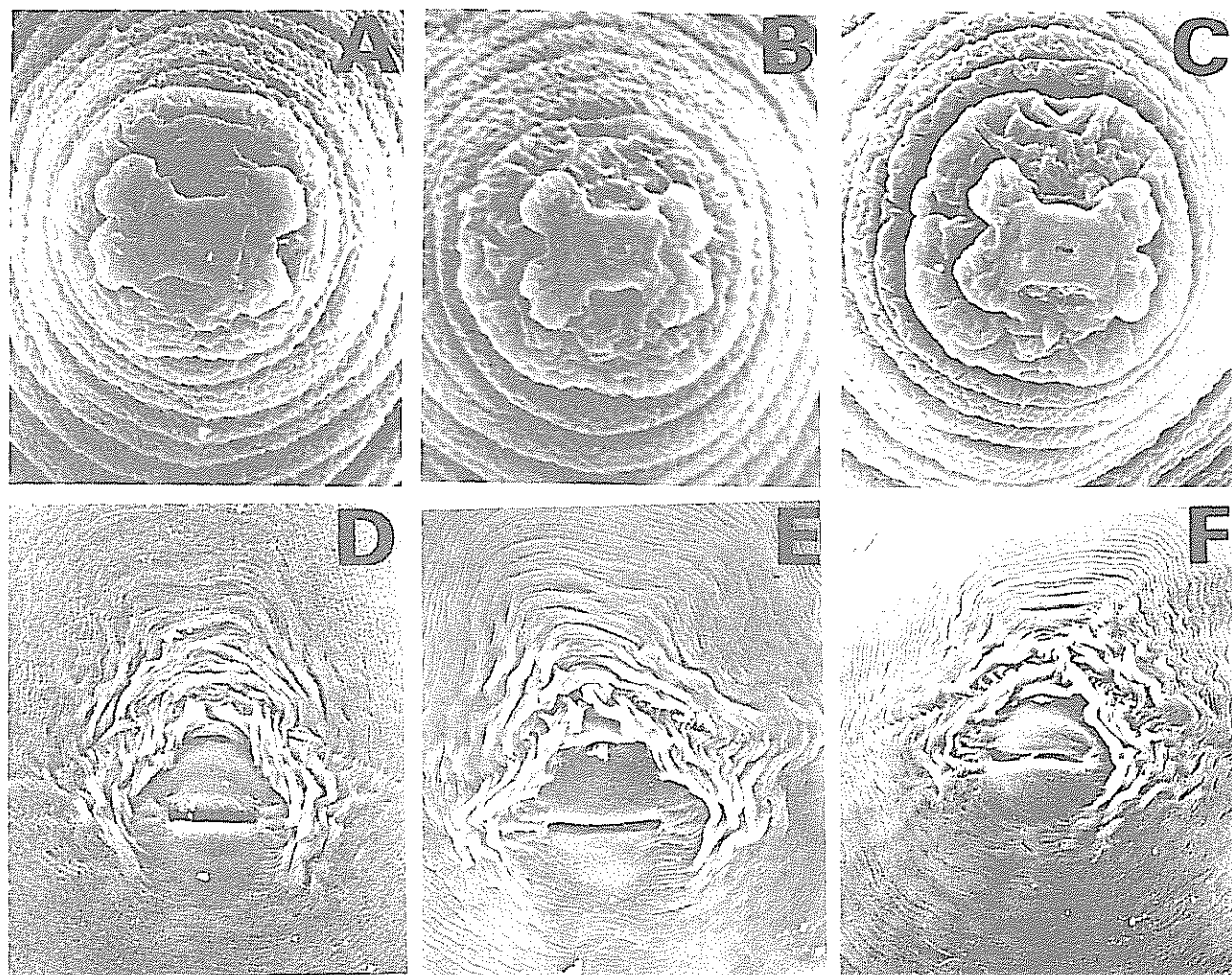


Fig. 4 Fotomicrografías al microscopio electrónico de rastreo de hembras de *Meloidogvne arabicida* sp. n. A-C: región labial; D-F: diseño perineal.

Los labios medios son levemente más angostos que el disco labial. Las aberturas anfidiales tienen forma de una estrecha rendija y están localizadas inmediatamente debajo de los bordes laterales del disco labial. La cutícula está fuertemente anillada (Fig. 2 A, F, G; 3 A, B, C; 6 G, H). Los campos laterales se inician unos 10 a 12 anillos posterior a la región cefálica, en forma de dos incisuras longitudinales, de bordes arqueados; las áreas de los campos laterales están elevadas sobre el resto del cuerpo y adquieren la forma de cordones que se extienden longitudinalmente en las porciones laterales del cuerpo, hasta llegar a la región caudal, donde dan vuelta. Unos pocos anillos después de su inicio aparecen dos incisuras longitudinales adicionales, localizadas en la parte central del cordón, lo que determina que el campo lateral esté formado por tres bandas delimitadas por cuatro incisuras; las anulaciones transversales atraviesan los campos laterales y producen la areolación de los campos en toda su ex-

tensión (Fig. 6 G, H); la areolación en la banda central a menudo no concuerda totalmente con las anulaciones transversales (Fig. 6 G). La armadura cefálica está fuertemente esclerotizada (Fig. 2 F, G; 6 I, J, K).

El estilete es robusto; el cono es puntiagudo, más largo que la columna, tiene la abertura en su porción anterior y un ensanchamiento triangular en su unión con la columna (Fig. 6 I). La columna es levemente más ancha en su porción basal (Fig. 6 I). Los tres nódulos basales son redondeados (Fig. 2 F, G; 6 I, J, K). El lumen del estilete es casi tan ancho como el del procorpus; la glándula dorsal esofágica está ramificada y tiene una ampulla relativamente pequeña (Fig. 2 F, 6 I). El procorpus es unas tres veces más largo que el ovalado y musculoso metacorpus (Fig. 2 A); éste último tiene un fuerte aparato valvular en su porción central. El anillo nervioso rodea al istmo. El ducto excretor es arqueado y no discernible una vez que

llega al nivel medio del intestino. El lóbulo basal del esófago traslapa ventralmente al intestino y tiene tres núcleos visibles. El hemizonidio está localizado unos cuatro a cinco anillos anteriormente al poro excretor. y tiene unos dos anillos de longitud. El intestino se prolonga dorsalmente en la parte anterior del cuerpo hasta el nivel inferior del metacorpus (Fig. 2 A). Los machos son monodélficos, y el único testículo normalmente está extendido anteriormente; en unos pocos especímenes su región apical está flexionada. Los espermatozoides son globulares, granulados. Las espículas son de longitud variable. El gubernaculum es simple, con el borde inferior arqueado.

Juveniles en segundo estado

Medidas: Las medidas y otros parámetros de las características morfológicas estudiada en 30 J2 son presentadas en el Cuadro 3.

Descripción (Figs. 2, 3, 7, 8): El cuerpo es vermiforme, con ambos extremos puntiagudos pero mucho más el posterior (Figs. 2, 3, 7, 8). La región cefálica es casi continua con el cuerpo, con los sectores laterales levemente más estrechos que el resto del cuerpo y un casco cefálico levemente elevado (Figs. 2 B, H, I). Vista al ML, la región cefálica aparece lisa, con un sólo anillo (Figs. 2 H, I). Vista al MER, la región anterior del cuerpo presenta un casco cefálico elongado, formado por el disco labial, que está levemente elevado sobre los labios medios, con bordes laterales casi rectos (Fig. 8 D, E), o levemente arqueados (Figs. 8 F, G, H). El prestoma es ovalado, está en el centro del

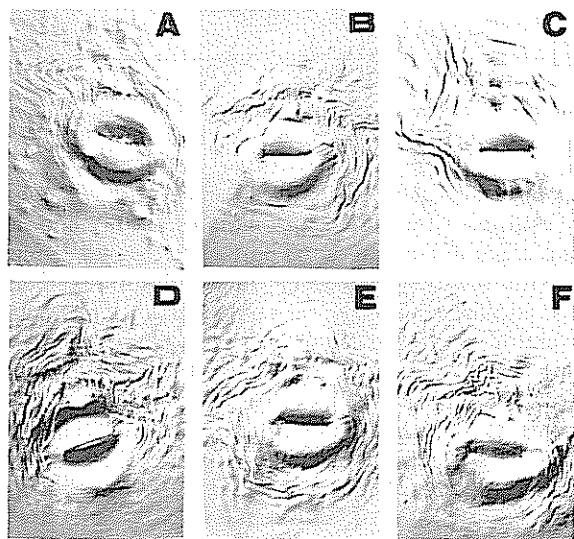


Fig. 5. Fotomicrografías de diseños perineales de *Meloidogyne arabicida* sp. n. vistos con óptica de contraste de interferencia diferencial.

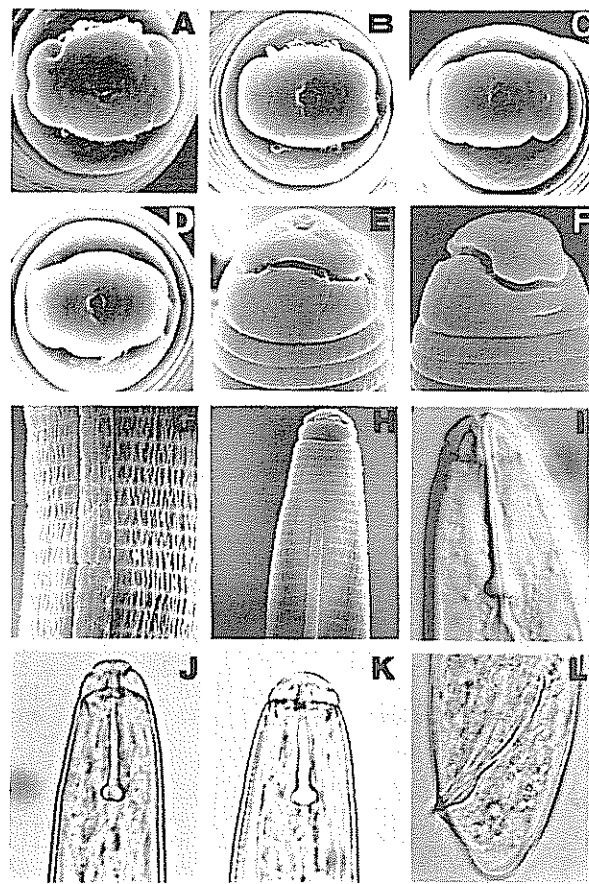


Fig. 6. Fotomicrografías de machos de *Meloidogyne arabicida* sp. n. A-D: vista frontal; E: vista lateral de la región cefálica; F: vista ventral de la región cefálica; G: campo lateral a mitad del cuerpo; H: región anterior; I, J, K: región anterior; L: región caudal. A-H: con el microscopio electrónico de rastreo; I: con óptica de contraste de interferencia diferencial; J-L: con óptica de campo brillante.

disco labial rodeado por seis sensilas labiales internas, las que abren al exterior en forma de diminutos poros redondeados (Fig. 8 D-H). Los labios medios son más anchos que el disco labial, tienen los bordes redondeados y en conjunto con el primero forman el casco cefálico con forma de corbatín (Fig. 8 D-H). Las aberturas anfidiales aparecen como rendijas rectangulares localizadas inmediatamente debajo de los bordes laterales del disco labial (Fig. 8 E-H). Los labios laterales son angostos, con bordes levemente arqueados, los que generalmente no sobrepasan la línea alcanzada por los bordes laterales de los labios medios y están en un nivel inferior al del casco cefálico (Fig. 8 E-I). En las porciones laterales de la región cefálica se localiza una sola estría incompleta relativamente corta, casi de la misma longitud que los labios laterales (Fig. 8 D-I). La armadura cefálica está débilmente desarrollada (Figs. 2 H, I; 7 A-C). El cuerpo está anillado desde la región anterior hasta la porción terminal de la

Cuadro 3. Valores promedio y otros parámetros de varias características de segundo estados juveniles de *Meloidogyne arabicida* sp.n..

Característica	Promedio	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Error estándar del promedio	CV (%)
Medidas lineales						
Longitud total	443*	480	372	24.8	4.60	6
Esófago	113	149	94	15.0	2.50	13
Diámetro máximo	14	18	12	1.4	0.25	10
Diámetro a nivel poro excretor	13	15	11	1.0	0.19	8
Poro exc -mitad del metacarpus	27	33	21	2.6	0.54	9
Estoma-mitad del metacarpus	56	68	49	4.4	0.83	8
Ancho cabeza	5.4	6.7	4.2	0.6	0.12	7
Altura cabeza	2.5	3.9	2.0	0.4	0.08	16
Estilete	11	15	9	1.2	0.23	11
Cono	5.5	9.5	3.9	1.3	0.24	23
Ancho nódulos	1.8	2.5	1.4	0.2	0.03	11
Altura nódulos	1.2	2.0	0.8	0.2	0.03	17
Estoma-nódulos	15	18	13	1.1	0.22	7
Columna	4.0	5.1	3.1	0.5	0.09	10
OGDE	3.1	4.7	2.0	0.6	0.12	19
Largo válvula del metacarpus	4.6	6.1	3.9	0.5	0.09	11
Ancho válvula del metacarpus	3.9	4.5	3.1	0.4	0.07	10
Estoma-poro exc.	83	102	75	6.7	1.37	8
Cola	52	62	40	4.3	0.78	8
Zona hialina	14	21	9	2.4	0.44	17
Diámetro inicio zona hialina	4.2	6.1	3.3	0.6	0.11	14
Diámetro anal	10	12	9	0.9	0.16	9
Ano-inicio de zona hialina	37	40	28	5.1	0.94	14
Proporciones						
a	32.4	40.0	26.1	3.1	0.57	10
b	4.0	5.4	3.0	0.5	0.10	13
c	8.6	11.6	7.6	0.7	0.13	8
c'	4.9	6.0	3.8	0.5	0.09	10
Cola/zona hialina	3.6	5.9	2.5	0.6	0.11	17
Ancho/altura de la cabeza	2.1	2.8	1.7	0.3	0.06	14
Ancho/altura de los nódulos	1.5	2.3	1.1	0.3	0.05	20
Largo/ancho de la válvula metacarpus	1.2	1.5	0.9	0.1	0.01	8
Porcentaje						
Poro excretor	18.6	24.0	16.0	1.9	0.39	10

* Promedio de 30 observaciones. Todas las medidas en μm .

cola (Figs. 2 B, H, I; 7 A-F; 8 A-C). Los campos laterales se inician al nivel del procorpus como dos incisuras (Fig. 8 A), las que aumentan a tres y luego a cuatro (Fig. 8 C); las dos incisuras externas son levemente arqueadas. Las cuatro incisuras llegan hasta el nivel del ano, donde una de las dos centrales termina y la otra se prolonga un poco más; las dos externas siguen hasta casi la porción terminal de la cola (Fig. 8-B). La areolación de los campos laterales es incompleta, especialmente en la banda central (Fig. 8 C). El estilete está débilmente desarrollado y tiene los tres nódulos basales redondeados e inclinados posteriormente (Figs. 2 H, I; 7 A-C). La ampulla de la glándula dorsal esofágica está muy débilmente desarrollada. El procorpus es de 2 a 2.5 veces más largo que el ovalado y musculoso metacarpus, el que tiene un esclerotizado

aparato valvular en su centro. El anillo nervioso rodea al estrecho istmo. El hemizonidio está localizado de uno a dos anillos anterior al poro excretor y tiene una longitud cercana a la de un anillo. El poro excretor está localizado al nivel del anillo nervioso; el ducto excretor es curvado y no discernible al llegar al intestino. La porción basal del esófago tiene tres núcleos y dos lóbulos discernibles, los que traslapan ventralmente al intestino; el núcleo anterior está localizado cerca de su inicio, el segundo en su porción media y el tercero cerca de su base. (Fig. 2 B). La abertura anal tiene la forma de un pequeño poro y está localizada en la porción central del cuerpo; el recto es dilatado. La cola es relativamente larga, termina en forma digitada y su extremo es redondeado (Figs. 3 D-H; 7 D-F).

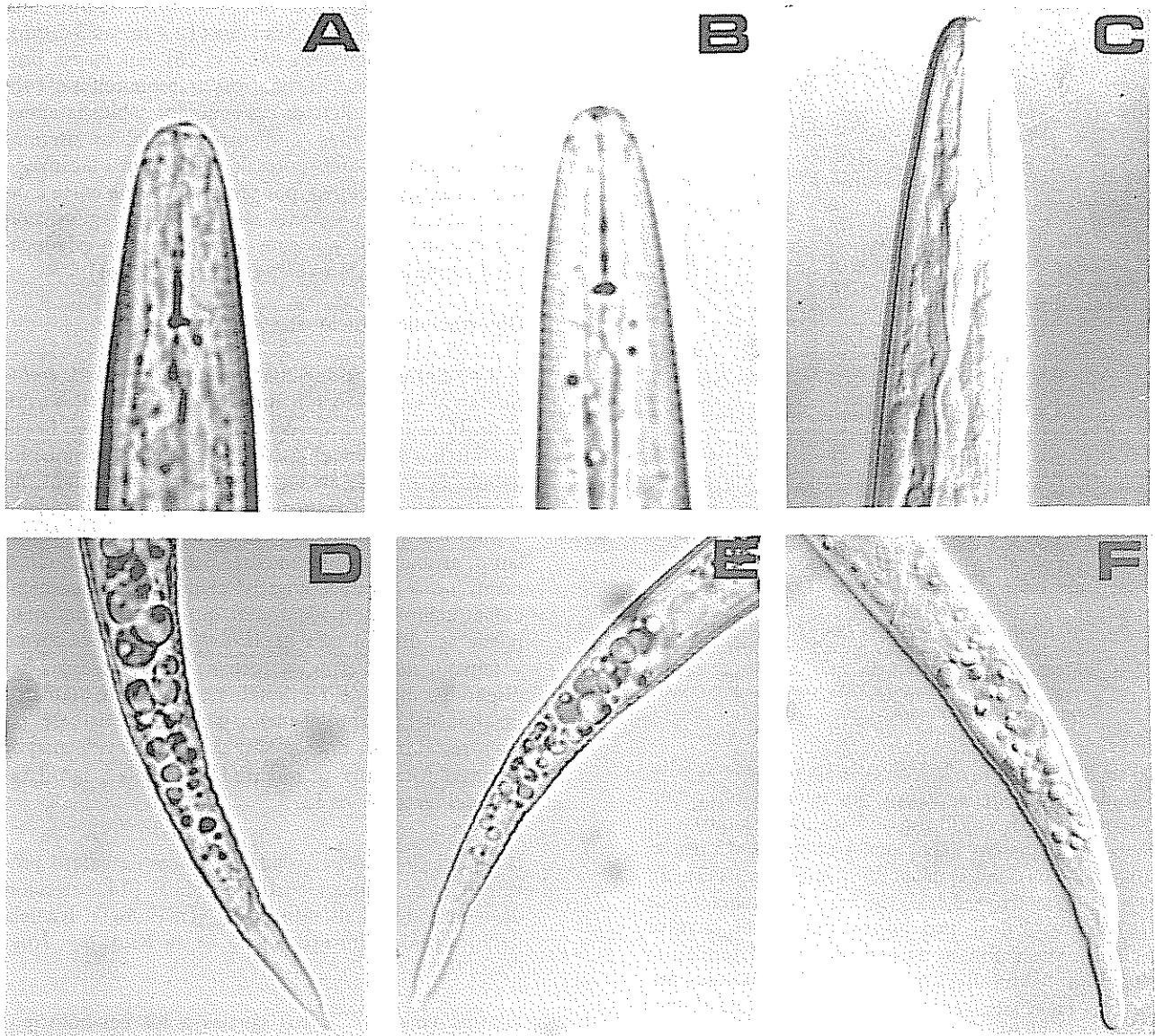


Fig. 7. Fotomicrografías de segundos estados juveniles de *Meloidogyne arabicida* sp. n. A-C: región anterior; D-F: cola; A, B, D, E: con óptica de campo brillante; C, F: con óptica de contraste de interferencia diferencial

Huevos

Medidas: Las medidas y otros parámetros de los caracteres evaluados en 30 huevos son presentados en el Cuadro I

Descripción: Huevos ovalados, similares a los de otras especies del género, embebidos dentro de un material gelatinoso.

Diagnóstico

Meloidogyne arabicida sp. n. se caracteriza por tener hembras con un diseño perineal de forma peculiar y

labios medios separados por una pequeña indentación en el medio, machos con una región cefálica lisa, de un sólo anillo y campos laterales areolados y J2 con una región cefálica lisa, con labios laterales angostos, levemente arqueados, una sola estria incompleta, relativamente corta, localizada en las porciones laterales de la región cefálica y el recto dilatado

Relaciones

M. arabicida sp. n. está relacionada con *M. sugamiensis* Toida y Yaegashi, 1984 (10) debido a la forma del cuerpo, del diseño perineal y de la región la-

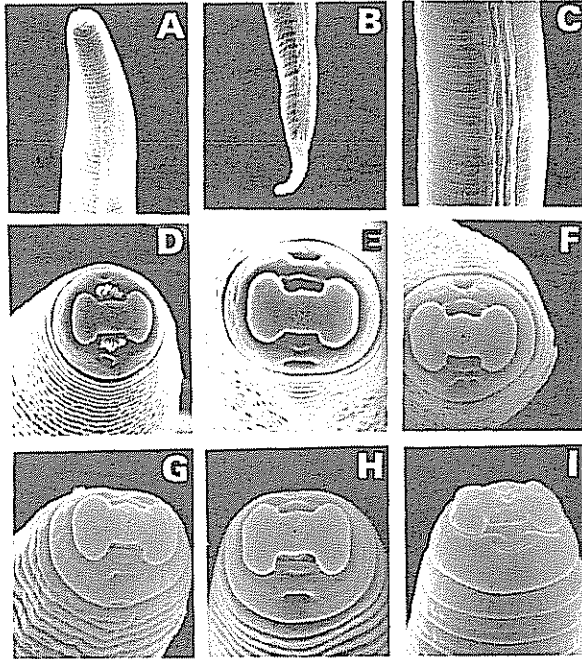


Fig. 8 Fotomicrografías al microscopio electrónico de rastreo de segundos estados juveniles de *Meloidogyne arabicida* sp. n. A: región anterior; B: cola; C: campo lateral a mitad del cuerpo; D-H: vista frontal; I: vista lateral de la región cefálica.

bial de sus hembras *M. arabicida* sp. n. puede ser distinguida de *M. suginamiensis* por tener hembras con un menor tamaño (773 μm vs 950 μm de largo), con un menor diámetro máximo del cuerpo (445 μm vs 740 μm), una mayor proporción a (1.7 vs 1.3), un mayor diámetro de la válvula del metacorpus (10.7 μm vs 7 μm), una mayor longitud de la vulva (23.7 μm vs 20 μm) y porque los labios laterales de la hembra no son discernibles (vs labios laterales discernibles en *M. suginamiensis*); los machos de *M. arabicida* sp. n. pueden ser diferenciados por tener el ancho máximo del cuerpo levemente menor (26.2 μm vs 31 μm), unas espículas con una longitud promedio menor (27.4 μm vs 30 μm) una mayor proporción a (55.2 vs 44), los nódulos del estilete redondeados (vs dirigidos posteriormente), por carecer de labios laterales discernibles (vs labios laterales prominentes), por carecer de indentaciones que dividen los labios medios y por tener el hemizonidio anterior al poro excretor (vs posterior al poro excretor). *M. arabicida* sp. n. también puede ser distinguida de *M. suginamiensis* porque sus J2 son más largos (443 μm vs 400 μm), tienen un estilete levemente más corto (10.5 μm vs

13 μm), una cola más larga (51.8 μm vs 28 μm), una zona hialina en la cola más larga (14.4 μm vs 3.5 μm), una mayor proporción a (32.4 vs 26), una menor proporción c (8.6 vs 15), una mayor proporción c' (4.9 vs 2.8), una cola digitada (vs conoide), labios laterales levemente arqueados y angostos (vs labios laterales muy arqueados, que sobresalen de la línea alcanzada por los labios medios), por tener una estria corta e incompleta en las porciones laterales de la región cefálica (vs sin estria) y porque el hemizonidio está localizado anterior al poro excretor (vs posterior)

Observaciones Adicionales

Los síntomas inducidos por el ataque de *M. arabicida* sp. n. en café son similares a los descritos para el de *M. coffeicola* Lordello y Zamith, 1960 en Brasil (6, 7); incluso en el caso de *M. arabicida* sp. n. ha habido necesidad, en un periodo de cuatro años, de arrancar los cafetos en un área de aproximadamente 10 ha, resembrar nuevos arbolitos y, al cabo de ese lapso, arrancarlos nuevamente, debido a que prácticamente no se produce cosecha alguna. Sólo para mencionar algunas, se podría citar que *M. arabicida* sp. n. puede ser diferenciada de *M. coffeicola* por la forma y tamaño del cuerpo, la forma y características del diseño perineal de las hembras, el menor diámetro máximo del cuerpo, el menor tamaño del estilete, las mayores proporciones a y c del macho y la mayor longitud total, mayor longitud de la cola y la dilatación del recto de los J2.

Holotipo (hembra): Aislada de raíces de café provenientes de la localidad tipo. Slide M-144, colección de nematodos, Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica

Alotipo (macho): Datos iguales a los del holotipo. Slide M-113, colección de nematodos, Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica

Paratipos (hembras, machos y J2): Datos iguales a los del holotipo. Depositados en UCDNC, Davis, California, USA, USDANC, Beltsville, Maryland, USA y colección de nematodos, Laboratorio de Nematología, escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica

Huésped y localidad tipos: café (*Coffeae arabica* L.) cv Caturra. Juan Vías, provincia de Cartago, Costa Rica.

LITERATURA CITADA

1. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979. Morphological comparison of second stage juveniles of six populations of *Meloidogyne hapla* by SEM. Journal of Nematology (EE UU) 11(1):5-16
2. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. Journal of Nematology (EE.UU.) 12(1):23-32.
3. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. Journal of Nematology (EE UU.) 12(40):300-313
4. FRANKLIN, M.I. 1962. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp. for identification. Nematologica (Holanda) 7:336-337
5. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1987. Nematodos asociados al arroz (*Oryza sativa* L.) en Costa Rica. III. Microscopia electrónica de rastreo de *Meloidogyne salasi* y *Tylenchorhynchus annulatus*. Turrialba (C.R.) 37(1):77-83
6. LORDELLO, L.G.E. 1972. Nematode pests of coffee. In Economic Nematology. Ed. by J. M. Webster. New York, Academic Press. P. 268-284.
7. LORDELLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L. 1960. *Meloidogyne coffeicola* sp.n., a pest of coffee trees in the State of Paraná, Brazil. Revista Brasileira de Biologia (Bra.) 20(4):375-379
8. TAYLOR, D.P.; NETSCHER, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica (Holanda) 20:268-269
9. THORNE, G. 1961. Principles of Nematology. New York, Mc Graw. 553 p.
10. TOIDA, Y.; YAEGASHI, T. 1984. Description of *Meloidogyne suginamiensis* (Nematoda: Meloidogynidae) from mulberry in Japan. Japanese Journal of Nematology (Japón) 14:49-57

Estudo da Microsporogênese e Formação de Sementes de uma Planta Monossômica de Café (*Coffea arabica* L.)¹

E.R. Forni-Martins*, N.D. da Cruz*

Abstract

The hybrid offspring of two normal *Coffea arabica* plants ($2n = 44$ chromosome), type *angustifolia*, one of which was irradiated, was studied. The chromosome number was determined, and microsporogenesis, pollen grain viability and fruit formation were examined. The plant was aneuploid (monosomic) with $2n = 43$. Many meiotic irregularities were observed, such as the absence of pairing in segments of some bivalents in some prophase stages; occurrence of monovalents and quadrivalents in prophase I and prometaphase I, and bridges and laggards in anaphase I. In spite of the meiotic irregularities, pollen grain analysis showed a viability of 80%, and the study of fruit formation indicated a high percentage of ovule fertilization. The value of the observation of quadrivalents as for the probable allopolyploid origin of the species is discussed. The occurrence of quadrivalents could be explained by the irradiation of the plant changing the pairing regulation system, or by the absence of one chromosome having one or more genes that inhibit the formation of polyvalents in normal conditions.

Resumo

Foi determinado o número cromossômico e analisada a microsporogênese, a viabilidade de grãos de pólen e formação de frutos de uma planta híbrida de *Coffea arabica*, proveniente de duas plantas normais ($2n = 44$ cromossomos), tipo *angustifolia*, tendo sido a planta mãe submetida a irradiação. A planta estudada é aneuplóide, monossômica, com $2n = 43$ cromossomos. Diversas irregularidades meióticas foram constatadas, como ausência de pareamento em segmentos de alguns bivalentes em certos estádios da prófase I, ocorrência de monovalentes e de tetravalentes em prófase I e pró-metáfase I, além de pontes e de cromossomos retardatários em anáfase I. Apesar das irregularidades, a análise de grãos de pólen mostrou 80% de viabilidade e o estudo da formação de frutos indicou boa porcentagem de fertilização de óvulos. A observação de tetravalentes permitiu discutir hipóteses sobre a origem da espécie através de auto ou de alopoliploidia. Argumentos referentes a essas hipóteses, citados em literatura, são discutidos. A ocorrência de tetravalentes pode ser assim explicada: 1) a irradiação incidente na planta mãe poderia ter alterado o sistema regulador do pareamento; 2) o cromossomo ausente na planta monossômica seria portador de um ou de vários genes que inibem a formação de multivalentes em condições normais.

¹ Recebido para publicação em março 1988
O primeiro autor recebe Bolsa de Pesquisa do CNPq

* Seção de Citologia, Instituto Agrônomo, IAC, C.P. 28, CEP 13020, Campinas, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea* é representado por aproximadamente 100 espécies (2). Estas são todas diplóides ($2n = 22$ cromossomos), com exceção da espécie *Coffea arabica* que é tetraplóide ($2n = 44$), sendo também a mais importante economicamente (1). A condição tetraplóide dessa espécie propicia o emprego de plantas aneuplóides em programas de melhoramento genético, pois a falta ou o excesso de cromossomos não acarreta desequilíbrio gênico tão insustentável quanto em indivíduos diplóides (3).

Dentre os aneuplóides, os monossômicos têm sido utilizados na transferência de cromossomos inteiros ou de segmentos cromossômicos de uma variedade para outra, ou de uma espécie para outra (7). Dessa maneira, a análise do comportamento meiótico, assim como a tentativa de identificação do cromossomo que confere a condição monossômica à planta, constituem-se em informações importantes em programas de melhoramento genético.

Plantas monossômicas apresentam diferenças de características fenotípicas em relação às encontradas em plantas com números cromossômicos normais. Estas diferenças estão associadas ao tamanho do cromossomo ausente ou à quantidade de heterocromatina presente no homólogo.

Assim, objetivou-se confirmar um suposto caso de aneuploidia, determinando o número cromossômico, o comportamento desses cromossomos na microsporogênese, a viabilidade de grãos de pólen e a formação de frutos em uma planta com características morfológicas diferentes das tipicamente encontradas em um cafeeiro normal.

MATERIAL E MÉTODOS

A planta estudada (H 5287) pertence à coleção de espécies mantida no Instituto Agronômico (Centro Experimental de Campinas), sendo proveniente do cruzamento de duas plantas normais ($2n = 44$ cromossomos) tipo *angustifolia*. Uma das plantas-mãe originou-se de sementes submetidas a irradiação de 5000R, utilizando-se um aparelho betatron existente na Universidade de São Paulo. A planta H 5287 apresenta um fenótipo diferenciado tanto das plantas dissômicas normais como do próprio tipo *angustifolia* que lhe deu origem, sugerindo ser um aneuplóide.

Botões florais foram coletados e fixados em Carnoy 3:1 (álcool: ácido acético). As lâminas para análise de células mães de pólen em divisão meiótica foram preparadas pela técnica do carmim acético (9), mediante esmagamento de anteras e, a seguir, obser-

vadas em microscópio fotônico. Foram analisadas cerca de 50 células em microsporogênese, sendo feitos desenhos esquemáticos e tiradas algumas fotografias.

Também foram preparadas lâminas para estudos da viabilidade de grãos de pólen, empregando-se a técnica do carmim acético (9), ligeiramente modificada. A determinação da viabilidade foi feita em dois anos agrícolas diferentes, amostrando-se cerca de 5 000 grãos de pólen.

A análise da formação de sementes foi feita mediante cortes transversais em frutos verdes na mesma fase de desenvolvimento, anotando-se o número de lojas com embrião em cada um deles.

RESULTADOS

Constatou-se realmente que a planta em estudo é aneuplóide do tipo monossômica, tendo $2n = 43$ cromossomos.

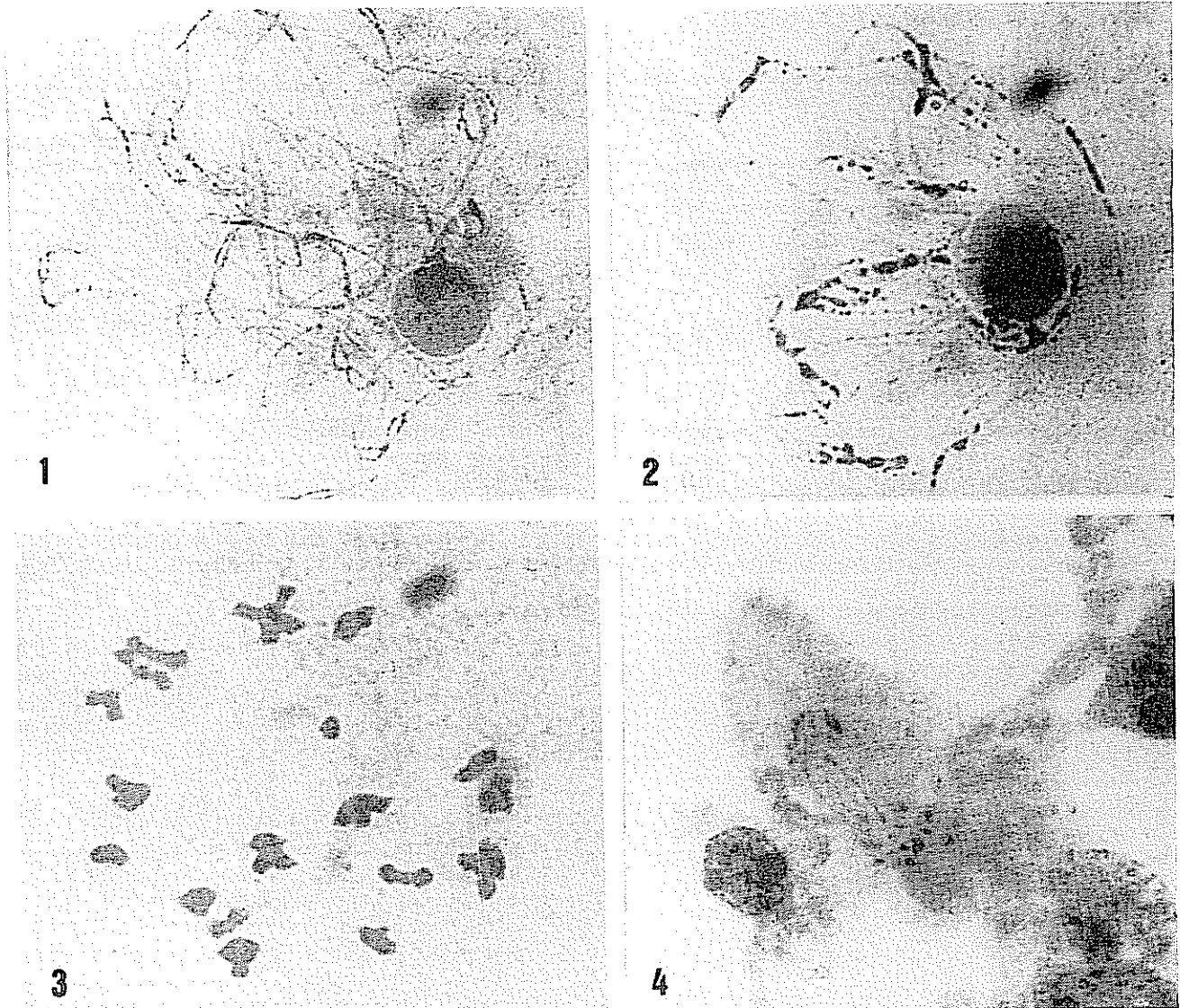
As principais observações no comportamento meiótico foram: 1) ocorrência de monovalentes, na maioria dos casos com formação de $21_{II} + 1_I$, nas fases de diacinese e pró-metáfase I; 2) ausência de pareamento em segmentos de alguns bivalentes, na fase de paquíteno (Fig. 1); 3) formação de alguns tetravalentes, na fase de paquíteno, diacinese e pró-metáfase I. As Figs. 2 e 3 mostram, respectivamente, tetravalentes nas fases de paquíteno e metáfase I. 4) ocorrência de pontes e de cromossomos retardatários em anáfase I (Fig. 4).

A análise da viabilidade de grãos de pólen evidenciou resultados semelhantes nos dois anos agrícolas analisados, encontrando-se apenas 20% de grãos vazios.

O estudo de frutos mostrou boa porcentagem de fertilização de óvulos. Dentre 200 frutos examinados, 111 eram do tipo "chato", apresentando desenvolvimento normal de duas lojas, com formação de uma semente em cada uma delas. O Quadro I mostra os tipos de frutos analisados e seus respectivos conteúdos nas lojas.

DISCUSSÃO

Conforme suspeitava-se pela análise do fenótipo da planta H 5287, confirmou-se a condição monossômica da mesma. A ocorrência de monovalentes, tetravalentes, pontes e de cromossomos retardatários durante a microsporogênese sugere uma segregação cromossômica desigual para os micrósporos resultantes,



Figs 1-4 Aspectos da microsporogênese no híbrido H 5287 de *Coffea arabica* 1 – Paquíteno com regiões de bivalentes não pareadas, x 1432; 2 – Diplótenu com formação de tetraivalentes, x 1833; 3 – Pró-metáfase I mostrando tetraivalentes, bivalentes e monovalente, x 2291; 4 – Anáfase I com cromossomos retardatários e pontes de cromatina, x 916

consequência de possível troca de pequenos segmentos (inversões ou translocações), porém a análise da viabilidade de grãos de pólen mostrou índices que podem ser considerados relativamente normais (80%) Essa aparente normalidade pode ser explicada pelo fato de a falta de um cromossomo em plantas poliplóides como é o caso de *C. arabica* ser menos drástica que em indivíduos diplóides embora diferentes graus de irregularidades possam ser associadas à falta específica de um determinado tipo de cromossomo no genoma normal (3)

A monossomia da planta H 5287 também parece afetar pouco a megasporogênese e a megagameto-

gênese, a se deduzir pela análise de frutos em desenvolvimento (Quadro 1), porém estudos feitos por Cruz (3) em plantas normais e em outras plantas monossômicas de café, distribuídas em oito diferentes classes fenotípicas, mostraram que, de acordo com o cromossomo ausente no genoma, os resultados foram bastante variáveis. Assim, a porcentagem de frutos tipo "chato", com desenvolvimento normal de dois endospermas variou de 15.0 a 73.0% e, para o caso do desenvolvimento de um endosperma e de um perisperma a variação foi de 1.0 até 15.0%. de acordo com os diferentes aneuplóides analisados Para os frutos tipo "moca", com desenvolvimento de apenas um endosperma, os valores variaram de 19 até 68%

Quadro 1. Tipos de frutos encontrados numa planta monossômica de *Coffea arabica* (H 5287).

Tipo de fruto	Conteúdo nas lojas	Frutos analisados	
		Número	%
"moca"	1 endosperma	52	26.0
	1 perisperma	2	1.0
"chato"	2 endospermas	111	55.5
	1 endosperma + 1 perisperma	24	12.0
"de 3"	2 perispermas	10	5.0
	3 endospermas	1	0.5

Ainda se comparados os resultados de Cruz (3) para sete plantas de café de fenótipo e comportamento meiótico normais com os do presente estudo, confirma-se que a monossomia parece ter afetado pouco o processo reprodutivo da planta H 5287, pois foram obtidos valores intermediários ou, ao menos, próximos aos limites de variação das mesmas (Quadro 1). Assim, no trabalho de Cruz (3), a variação na porcentagem de frutos tipo "chato" com dois endospermas foi de 57.0 a 87.0% e para aqueles com um endosperma e um perisperma foi de 2.0 a 13.0%. Para os frutos tipo "moca", com um endosperma, a variação citada para as plantas normais foi de 8.0 a 26.0%.

No presente trabalho, apenas em 18% dos frutos foram observados perisperma (Quadro 1: 1% em frutos "moca" e 17% em frutos "chato") num estágio em que tais estruturas deveriam estar em regressão. Segundo Mendes (10), esse chamado perisperma surge da divisão ativa das células externas do integumento logo no início da formação do embrião e, à medida que o número de células do endosperma aumenta, as células do perisperma são então comprimidas, dando espaço ao novo tecido.

Sybenga (14) apresenta uma revisão sobre possíveis causas de falhas na formação de endosperma em espécies de café, dentre as quais irregularidades mitóticas, com sugestão de correlação entre o defeito e o número de cromossomos do endosperma (Leliveld, 1938 apud 14). Nesses casos de formação de sementes vazias, o integumento é induzido a desenvolver-se o suficiente até formar uma película prateada forte que evita que o endosperma colapse sob a pressão do grão vazio (Ferwerda, 1948 apud 14). Pela descrição, essa película parece corresponder ao chamado perisperma de Mendes (10), donde pode-se inferir uma correlação entre o número de frutos com perisperma e com endosperma mal-formados.

A observação mais interessante na planta H 5287 foi a ocorrência de tetravalente em células em diferen-

tes estágios da microsporogênese, já que dentre os trabalhos realizados no Brasil sobre citogenética de *C. arabica*, apenas bivalentes foram observados (1). Embora Jackson (5) mencione que o pareamento cromossômico não reflita, necessariamente, a homologia entre genomas, a observação de multivalentes tem sido frequentemente associada à origem poliplóide através de autopoliploidia.

Entretanto, a espécie *C. arabica* é tida como alopólíde, com base em diferentes resultados, como na herança dissômica de híbridos (1), no comportamento meiótico (6) e nos estudos de pigmentos flavonóides (8). Além disso, apesar de já ter sido citada a ocorrência de multivalentes em algumas cultivares, Grasiás e Kamacher (4) não chegaram a associá-la a uma provável origem autopoliplóide, sugerindo que a espécie seria alopólíde, formada por espécie que manteriam alta homologia cromossômica.

A discussão de hipóteses para explicar a origem poliplóide de *C. arabica* torna-se mais complicada ao se considerar que, mesmo em autopoliplóides, se os cromossomos forem pequenos, a formação de tetravalentes pode ser dificultada (13). Além disso, em muitos poliplóides, como o trigo (11, 12), há evidências de genes controlando o pareamento cromossômico, os quais inibiriam a formação de multivalentes não só em auto como em alopólídes.

A hipótese de inibição de pareamento cromossômico por genes específicos poderia ser também aplicada a *C. arabica*, tanto supondo origem autotetraplóide como alopólíde, com possível envolvimento de espécies portadores de elevada homeologia cromossômica. Assim, extrapolando o exemplo do trigo para a planta monossômica de *C. arabica* aqui estudada, poder-se-ia supor que a falta de um cromossomo em relação ao complemento cromossômico normal tivesse possibilitado a formação de tetravalentes, mediante algum processo de desinibição genética.

Embora outros diferentes monossômicos de café, fenotipicamente distintos, já tenham sido anteriormente estudados por Cruz (3), a não constatação de irregularidades no pareamento cromossômico dos mesmos parece confirmar que a planta H 5287 difere também em relação ao cromossomo ausente no genoma. Este, especificamente, poderia estar envolvido no controle genético de pareamento cromossômico.

Ainda não se pode ignorar a influência de fontes mutagênicas, como a irradiação, sobre o comportamento de plantas a ela submetida. Assim, devido ao fato de a planta mãe da planta monossômica H 5287,

aqui estudada, ter sido irradiada, não se pode descartar uma possível influência desse evento sobre os resultados obtidos, a começar pelo caráter monossômico até a formação não característica de tetravalentes em *C. arabica*

CONCLUSÕES

A planta H 5287 de *Coffea arabica*, pertencente à coleção de espécies mantida no Centro Experimental de Campinas do Instituto Agrônomo, é aneuplóide, monossômica, com $2n = 43$ cromossomos.

Foram observadas diversas irregularidades meióticas na planta, como ausência de pareamento em seg-

mentos de alguns bivalentes em prófase I, ocorrência de monovalentes e de tetravalentes em prófase I e em pró-metáfase I, além de pontes e de cromossomos retardatários em anáfase I

A viabilidade de grãos de pólen foi igual a 80% e o estudo da formação de frutos mostrou boa taxa de fertilização de óvulos

A observação de tetravalentes, de ocorrência rara em *C. arabica*, pode ser explicada por alterações no controle genético do pareamento cromossômico, talvez devido à irradiação a que foi submetido um dos pais ou pela condição monossômica da planta em estudo

LITERATURA CITADA

- 1 CARVALHO, A.; FERWERDA, F.P.; FRAHM-LELIVELD, J.A.; MEDINA, D.M.; MENDES, A.J.T.; MONACO, L.C. 1969 Coffee. In Outlines of perennial crop breeding in the tropics. Ed. by Ferwerda, F.P.; Wit, F. Wageningen, H. Veerman & Zonen N.V. p. 189-241.
- 2 CHARRIER, A. 1978. La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascaro-coffee*) Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (*Eucoffee*) Paris, ORSTOM 223 p. (Mémoires ORSTOM no 87)
- 3 CRUZ, N.D. 1972 Aneuplóides de café Aspectos morfológicos e citológicos na análise de duas progênies de café "Mundo Novo" (*Coffea arabica* L.) Tese de Doutorado Piracicaba, USP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" 106 p.
- 4 GRASSIAS, M.; KAMMACHER, P. 1975 Observations sur la conjugaison chromosomique de *Coffea arabica* L. Café, Cacao, Thé 19(3):177-189
- 5 JACKSON, R.C. 1982 Polyploidy and diploidy, new perspectives on chromosome pairing and its evolutionary implications. American Journal of Botany 69(9):1 512-1 523.
- 6 KAMMACHER, P.; CAPOI, J. Sur les relations caryologiques entre *Coffea arabica* et *Coffea canephora* Café, Cacao, Thé 16(4):289-294.
- 7 KHUSH, G.S. 1973 Cytogenetics of aneuploids. New York, Academic Press 301 p.
- 8 LOPES, C.R.; CUNHA, R.A.; BLOTT, P. 1984. Estudo taxonômico do café (*Coffea arabica* L.) com emprego de métodos numéricos. Turrialba 34(4): 421-430
- 9 MEDINA, D.M.; CONAGIN, C.H.T.M. 1964 Técnica citológica. Campinas, Instituto Agrônomo 107 p. (Publicação no 2610).
- 10 MENDES, A.J.T. 1941 Cytological observations in coffee. VI Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. American Journal of Botany 28(9):784-789.
- 11 RILEY, R.; CHAPMAN, V. 1958 Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. Nature 182:713-715.
- 12 RILEY, R.; CHAPMAN, V.; KIMBER, G. 1960. Position of the gene determining the diploid-like meiotic behaviour of wheat. Nature 186:259-260
- 13 SRIVASTAV, P.K.; RAINA, S.N. 1982. Cytogenetics of *Clitoria* L. Induced autotetraploidy in *C. ternatea* Cytologia 47:99-107
- 14 SYBENGA, J. 1960. Genética y citología del café. Turrialba 10(3):83-137.
- 15 WHITE, M.J.D. 1973. And evolution. 3 ed. Cambridge. University Press 961 p

Efecto de Diferentes Adherentes y Formulaciones de una Bacteria Parasítica en el Combate del Ojo de Gallo *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc. en el Cafeto¹

S. Calvo*, E. Vargas**

ABSTRACT

The effect of different adhesives and formulations of the antagonistic bacterium 16At on the control of American leaf spot of coffee was studied at Turrialba, Costa Rica. Five cv. 'Caturra' coffee plants, seven years old, were chosen from each of the four foci of infection selected from a well-shaded coffee plantation. Two different formulations of the bacterium were used: mixed with peat and with nutrient broth. The adhesives used were cassava starch and linseed oil. Two spray applications, using water as carrier and with 15 days interval, were made during the rainy season. The effect of the treatments was determined by weekly evaluations of the following parameters: total leaves, diseased leaves, lesions per leaf, lesions with gemmae and total number of gemmae. These data were taken from eight plagiotropic branches per plant. The treatment bacteria + cassava starch + peat proved to be the best. It worked as a biologic balance since the bacteria population decreased after gemmae lyses had taken place; it remained low on the leaf surface but rose again when new gemmae were produced and parasitized, showing a good control of the disease under heavy infection conditions.

INTRODUCCION

Las bacterias, como agentes de combate biológico de enfermedades del follaje, tienen la ventaja sobre los hongos de ser primeras en la colonización del filoplano; además, poseen gran velocidad de crecimiento y habilidad de utilizar formas variadas de nutrimentos en diversas condiciones. La mayoría de ellas actúa por competencia de nutrimentos; otras, por producción de antibióticos (1, 7). Solamente hay dos estudios de bacterias parasíticas, específicamente de Morgan (5), con *Bacillus pumillas* que parasita *Puccinia graminis*, en trigo y cebada. Recientemente, en Costa Rica Mora (6) aisló una bacteria del filoplano de hojas sanas de cafeto, parasítica sobre *M. citricolor*, que desintegra las gemas y el micelio en 48 h

¹ Recibido para publicación el 5 de setiembre 1989. Parte de la tesis de grado de Licenciada en Fitotecnia, presentada por primera autora a la Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. Los fondos fueron suministrados por IDRC, Canadá.

* Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

COMPENDIO

En una finca ubicada en San Juan Norte de Turrialba, Costa Rica se llevó a cabo un ensayo en el período comprendido entre julio y noviembre de 1987. En el campo se seleccionaron cuatro focos de infección de la enfermedad. En cada uno, se tomaron seis plantas del cv. 'Caturra' de 7 a 8 años; donde no se había hecho aspersión de fungicidas, en uno de los lotes, se aplicó un tratamiento que consistió en 35 g de turba inoculada con la bacteria antagonista 16AI + adherente (aceite de linaza 4 cc); en otro grupo de plantas se aplicaron 100 cc de caldo nutritivo + bacteria antagonista + aceite de linaza (4 cc); a otro grupo, 35 g de turba inoculada + almidón (10 g) y el último grupo constituyó el testigo absoluto. En todos los casos se utilizaron siete litros de agua y se hicieron dos aspersiones cada 15 días. Las dosis fueron determinadas en un estudio previo, realizado en el Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas. El intervalo de aplicación se determinó midiendo la persistencia de la bacteria en pruebas previas en el campo. Semanalmente, se tomaron datos de las variables: número de hojas totales, número de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, en ocho ramas plagiotrópicas de cada planta. El comportamiento de los tratamientos, según la prueba de Tuckey, mostró que el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón fue el que presentó los promedios menores de porcentaje de lesiones con cabecitas, porcentaje de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas. Los tratamientos que siguieron en efectividad fueron: el de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente. En cuanto al comportamiento de los tratamientos y su relación con las condiciones climáticas, se observó un aumento de la enfermedad durante los recuentos cuarto, quinto, noveno y décimo; no obstante, las variables porcentaje de lesiones con cabecitas, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, se mantuvieron en niveles bajos para el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón; no fue así para los otros tratamientos; se obtuvo un buen control de la enfermedad bajo una presión de inóculo adecuada pero no alta.

sirviendo de sustrato alimenticio e incrementando la población de células, pero que, en ausencia de gemas, se mantiene en poblaciones bajas en el filoplano. Además, este investigador desarrolló una formulación de la bacteria utilizando turba en polvo como vehículo, la cual resultó efectiva al inhibir la infección cuando se perspersó sobre hojas en cámaras húmedas.

Para poder evaluar adecuadamente el potencial de las bacterias como agentes de combate biológico, se debe estudiar su persistencia en el filoplano y los

efectos que puedan tener las diferentes formulaciones y eventualmente, optimizar los esquemas de aplicación en el campo (7, 9). Knudsen (4) y Spurr (8), determinaron que las poblaciones de *Bacillus thuringiensis* (HD-1) y (HD-521), *Bacillus cereus* var *mycoïdes* y *Pseudomonas cepacea* (pc. 742), utilizadas para combatir el hongo *Cercospora arachidicola* en maní, decaían rápidamente después de 14 días de aplicadas. Ese hallazgo motivó la realización del presente estudio, tendiente a determinar el efecto de diferentes adherentes y formulaciones de la bacteria en el combate de la enfermedad, bajo condiciones de campo.

MATERIALES Y METODOS

Para determinar la dosis óptima de la bacteria parasítica que se podría usar en el campo, se realizaron pruebas en el Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, durante los meses de octubre de 1986 a febrero de 1987. Para ello, se utilizaron hojas de cafeto sanas y escogidas al azar de un cafetal ubicado en Tres Ríos, a 1 270 msnm y colocadas en cámaras húmedas transparentes, probándose cinco tratamientos: 1-10 gramos de turba inoculada + 90 cc de agua esterilizada; 2-5 gramos de turba inoculada + 95 cc de agua esterilizada; 3-2 gramos de turba inoculada + 98 cc de agua esterilizada; 4-1 gramo de turba inoculada + 99 cc de agua esterilizada y 5-0.5 gramos de turba inoculada + 99.5 cc de agua esterilizada.

Para cada tratamiento se tomó la correspondiente cantidad de turba y se procedió a inocularla con un cultivo bacteriano de 48 horas en agar nutriente, dejándola crecer en reposo por tres días, a temperatura ambiente, en bolsas plásticas. Para evitar problemas al momento de la aplicación, se filtró el inoculante colocando un poco de algodón en el fondo del embudo. Posteriormente, el inoculante se asperjó con un atomizador *Devilbis* No. 15, cubriendo totalmente las superficie de las hojas. Dos días después, se produjeron heridas en las hojas con un alfiler, a ambos lados de la vena central y con la ayuda de un pincel; se colocaron diez cabecitas de *Mycena citricolor* en las heridas. Las hojas se asperjaron con agua destilada, cada dos días, para mantener la humedad y durante los ocho días siguientes se hicieron observaciones diarias.

Las hojas se mantuvieron en cámaras húmedas transparentes que presentaron las características descritas por Mora (6). El número de repeticiones fue de siete para cada tratamiento.

Para conocer la unidad poblacional de la bacteria inoculada, se hicieron recuentos de células bacteria-

nas por triplicado, a los 0, 2, 6 y 8 días de aplicada la bacteria, empleando la técnica por dilución en platos Petri (18, 38, 42). Para ello, se utilizó un sacabocados de 1 cm de diámetro; se tomó, de cada hoja, cinco discos los cuales se colocaron en 10 ml de agua esterilizada y se hicieron diluciones por triplicado hasta 10^{10} (18, 37). Luego, se colocó 0.1 ml de las diluciones 10^6 , 10^7 , 10^8 y 10^9 en platos Petri con agar nutritivo y se dejaron a temperatura ambiente. El cálculo de colonias bacterianas se realizó al cuarto día cuando se procedió a contar el número de ellas. El color característico de la colonia de la bacteria en estudio, fue un amarillo fuerte.

En este ensayo se consideró, como mejor tratamiento, aquél en el cual la unidad poblacional bacteriana fuera mayor, a los ocho días de aplicados los tratamientos estudiados.

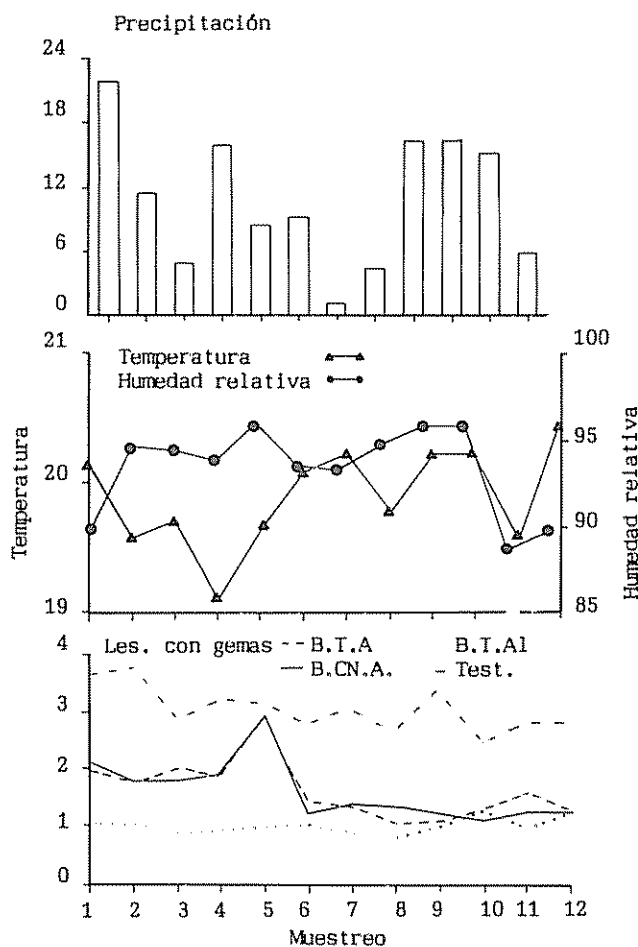


Fig. 1. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el número de lesiones con gemas de *M. citricolor* y se relación con los elementos climáticos.

Para determinar la frecuencia de las aplicaciones, el 23 de julio de 1987, se procedió a aplicar cada tratamiento en el campo, utilizando para ello un atomizador manual de espalda Carpi, de 16 litros, con boquilla cónica. Aproximadamente, 1 hora, 47, y 10 días después de la aplicación, se colectaron muestras de 12 hojas por tratamiento y se llevaron al Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, para evaluar la persistencia de la bacteria, empleando la técnica por dilución en platos Petri.

El ensayo de campo se estableció en una finca ubicada en San Juan Norte de Turrialba, provincia Cartago, Costa Rica, a 646 msnm. El ensayo se inició el 9 de julio y éste finalizó el 12 de noviembre de 1987. Las condiciones meteorológicas que ocurrieron durante el transcurso del estudio aparecen en la Fig. 1.

Las plantas de café utilizadas en el ensayo fueron del cultivar Caturra, de 7-8 años, con una infección alta de ojo de gallo debida, en parte a la sombra y sin haber efectuado ningún combate químico de la enfermedad.

Se escogieron en el campo los focos de infección que presentaran el mayor número de plantas; de éstas, se utilizaron seis plantas por tratamiento las cuales se numeraron al azar y se marcaron con cintas de diferentes color para diferenciar cada tratamiento, de manera que éstos quedaran separados. En cada planta se escogieron ocho ramas plagiotrópicas que tuvieran hojas con lesiones y éstas se marcaron con cinta, cuatro en el tercio medio y cuatro en el tercio inferior, orientadas en la dirección de los puntos cardinales.

Los tratamientos aplicados fueron: 1) Turba inoculada con la bacteria antagonista 16AT + aceite de linaza (adherente superior); 2) Bacteria antagonista + aceite de linaza + caldo nutritivo; 3) Turba inoculada con la bacteria antagonista + almidón de yuca; 4) Testigo absoluto.

La dosis utilizada fue de 35 g de turba que había sido inoculada con una población bacteriana base de 10^9 por aplicación, para cada tratamiento, excepto el número dos, en el cual sólo se aplicó la bacteria antagonista (con igual población bacteriana) con 100 cc de caldo nutritivo. Se utilizaron 10 g de almidón cuando éste fue empleado como adherente, pero, cuando el adherente fue aceite de linaza, se utilizaron 4 cc del mismo. Cada dosis fue disuelta en siete litros de agua y con ella, se procedió a asperjar uniformemente las plantas en el campo de manera que no hubiera goteo del producto. Debido al factor de dilución, la población bacteriana, ya en la superficie foliar, fue de aproximadamente de 10^6 .

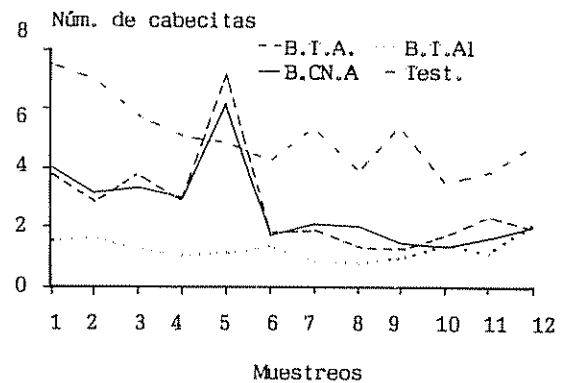


Fig 2. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el número de gemas de *M. citricolor*.

Las aplicaciones se realizaron cada 15 días, entre agosto y setiembre de 1987, utilizándose el mismo atomizador descrito. Semanalmente, se hicieron recuentos en cada bandola de las siguientes variables: hojas totales, hojas enfermas, lesiones por hoja, lesiones con gemas o cabezitas y número total de cabezitas. Se consideró que una cabezita era normal cuando se mantenía unida al pedicelo y conservaba su color natural.

El diseño experimental que se utilizó fue un irrestricto al azar, con seis repeticiones. Los muestreos generaron un arreglo de parcelas divididas, por lo que el análisis se hizo siguiendo este modelo.

RESULTADOS Y DISCUSION

La dosis óptima de la bacteria parasítica 16AT, a emplear en el campo, fue la de 0.5 g de turba inoculada + 99.5 cc de agua esterilizada que correspondió a 35 g de turba inoculada, diluida en siete litros de agua por tratamiento. Esta dosis fue la que mantuvo una población bacteriana mayor y la que determinó que, en hojas infectadas con *M. citricolor*, se evitara la formación de lesiones (Cuadros 1 y 2).

Se determinó que el intervalo óptimo de las aplicaciones de los tratamientos en el campo, sería cada quince días, pues, aproximadamente diez días después de la aplicación, la población bacteriana había decaído completamente para los tratamientos: Turba inoculada + Adherente y Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente, mientras que el tratamiento con Turba inoculada + Almidón mantuvo una población adecuada de bacterias. El hecho de que la población bacteriana en el testigo fuera de cero pudo haberse debido a que la bacteria fue aislada de las plantaciones del CATIE, en Turrialba, en donde las condiciones macro y microclimáticas son diferentes a la zona en que se

Cuadro 1. Niveles poblacionales de la bacteria parasítica 16AT, para cada tratamiento. Laboratorio de Microbiología de Suelos. 1986.

Recuento	Tratamiento				
	10 g Turba + 90 cc de agua	5 g Turba + 95 cc de agua	2 g Turba + 98 cc de agua	1 g Turba + 99 cc de agua	0.5 g Turba + 99.5 cc de agua
1:2 d d a.	1.37×10^{11}	3.6×10^{10}	5.05×10^9	4.3×10^{10}	4.73×10^{12}
2:6 d d a.	2.81×10^9	0	3.3×10^{11}	9.98×10^{10}	1.07×10^{12}
3:8 d d a.	0	0	6.5×10^{10}	5.05×10^9	8×10^{10}

estableció el experimento. Sin embargo, a la hora de introducirla, la bacteria fue capaz de establecerse y de actuar contra el patógeno (Cuadro 3).

En el ensayo de campo, se consideró que el mejor tratamiento sería aquél que disminuye significativamente, tanto el número de lesiones con cabecitas como el número de cabecitas, consideradas ambas como las variables más relevantes de la enfermedad estudiada.

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadros 1, 2 y 3), se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, los muestreos y la interacción de ambas para los parámetros hojas enfermas, porcentaje de lesiones con cabecitas, lesiones por hoja, lesiones con cabecitas y número de cabecitas.

El comportamiento de los tratamientos, según la prueba de Tuckey (Cuadros 4 y 5), indicó que el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón fue el que presentó los menores promedios de porcentaje de lesiones con cabecitas, porcentaje de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas. Los tratamientos que siguieron en efectividad fueron: el de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente.

La mayor efectividad para el combate de la enfermedad que presentó el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón, podría deberse a que el almidón de yuca que se utilizó como adherente, permitió que en la superficie foliar se mantuvieran partículas de mayor diámetro de turba de lo que podría lograrse con el adherente agrícola o aceite de linaza. Así, se logró que una mayor cantidad de células bacteriales permanecieran más tiempo en la superficie de la hoja y alcanzaran las cabecitas, utilizándolas como sustrato para multiplicarse. Podría pensarse también que el almidón, además de servir como adherente, fuera también fuente alimenticia para la bacteria; así, cualquier sustrato o medio que mantenga una población bacteriana mayor que la natural en la superficie foliar favorecerá el combate, ya sea al disminuir el inóculo por desintegración de las cabecitas inmaduras o impedir la infección, al desintegrar la cabecita desprendida del pedicelo, antes de la penetración. Otra característica que podría favorecer al almidón sería que, al secarse, formara una película capaz de proteger las células bacteriales de la inactivación por radiaciones ultravioleta, requisito indispensable en este tipo de combate biológico.

El tratamiento de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente, aparentemente, permitió un rápido crecimiento de bacterias debido a la presencia del caldo

Cuadro 2. Sobrevivencia de cabecitas en hojas inoculadas con *Mycena citricolor* para cada tratamiento. Laboratorio de Microbiología de Suelos. 1986.

Hoja	Tratamiento				
	10 g Turba + 90 cc de agua	5 g Turba + 95 cc de agua	2 g Turba + 98 cc de agua	1 g Turba + 99 cc de agua	0.5 g Turba + 99.5 cc de agua
1	0	0	0	0	0
2	0	2	0	2	0
3	0	3	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	1	0	1	0
7	0	0	0	0	0

Cuadro 3. Fluctuaciones poblacionales de la bacteria parasitica en el campo, para cada tratamiento. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Recuento	Tratamiento			Testigo
	Bact + I + Adh	Bact + CN + Adh	Bact + I + Alm	
1: 1hr d a	8.3×10^8	1.3×10^8	1.2×10^{10}	0
2: 4 d d a	2.4×10^9	1.7×10^9	1×10^{10}	0
3: 7 d d a	1×10^9	1×10^8	1×10^9	0
4: 10 d d a	0	0	1×10^7	0

I: Turba CN: Caldo nutritivo Alm: Almidón

nutritivo, en una proporción mayor que en los otros tratamientos. Pero, por estar disuelto en agua, se pudo haber perdido por lavado producido por el agua de lluvia y al terminarse esta fuente alimenticia, la población bacteriana decayó recuperándose hasta que la producción de nuevas cabecitas se incrementara y así, constituirse en el nuevo sustrato energético de las bacterias.

En cuanto al comportamiento mostrado por los tratamientos durante el ensayo y su relación con las condiciones climáticas que se presentaron (Fig 1), se observó un aumento acelerado de la enfermedad durante los recuentos cuarto, quinto, noveno y décimo, en algunos de los tratamientos. Durante estos muestreos, los promedios de las variables: porcentaje de lesiones con cabecitas, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, se mantuvieron en niveles bajos para el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón, no así para los tratamientos de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente. Durante este periodo, se presentaron altas precipitaciones al igual que porcentaje elevados de humedad relativa, lo cual favoreció el desarrollo de la enfermedad, como lo indican Bonilla y Carvajal (2, 3). La menor efectividad de los tratamientos expuestos pudo deberse a pérdida por lavado de los productos y no a la defoliación, pues el testigo fue el tratamiento que presentó mayor caída de hoja.

Pero, al incrementarse el número de cabecitas, las bacterias tuvieron un mayor sustrato del cual alimentarse y multiplicarse, y así reducir nuevamente el nivel de infección manteniéndose bajo hasta el final, de manera igual para todos los tratamientos y siempre inferior al testigo el cual todavía muestra una tendencia a aumentar. Podría pensarse que la temperatura influye en la efectividad de la bacteria, pues, durante el cuarto muestreo, ésta disminuyó pero se observó un aumento en el promedio de las variables: número de cabecitas, número de lesiones con cabecitas y porcentaje de lesiones con cabecitas, para los tratamientos biológicos, excepto el que contiene almidón el cual mantiene una mayor población de bacterias en la hoja (Cuadro 3). Este comportamiento parece indicar que el desarrollo de la bacteria es favorecido por temperaturas altas. Posterior a esos aumentos en los promedios de las variables, se alcanza un cierto equilibrio, manteniendo la bacteria una población adecuada con base en pocas cabecitas y una cierta capacidad de mantenerse en la filósfera por mecanismos aún desconocidos, lo cual le permite ir disminuyendo la producción de inóculo en forma progresiva mediante erradicación del hongo en un número significativo de lesiones (Fig. 1).

Si se observan las curvas de desarrollo de la enfermedad (Figs 1, 2 y 3), se nota que la cantidad de inóculo inicial fue diferente para cada tratamiento,

Cuadro 4. Promedio de las variables porcentaje de hojas enfermas y lesiones por hoja para cada tratamiento. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Tratamiento	Variable	
	% Hojas enfermas	Lesiones/Hoja
Bac + Turba + Adh	6.75	b*
Bac + C N. + Adh	7.18	b
Bac. + Turba + Alm	4.99	c
Testigo	8.33	a

* Medias seguidas de una misma letra no se consideran estadísticamente distintas según la prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 5. Promedio de las variables lesiones con cabecitas (cab), número de cabecitas y porcentaje de lesiones con cabecitas. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Tratamiento	Variable					
	Lesiones cab.		Número cab.		% Lesiones cab.	
Bac. + Turba + Adh	1.62	b*	2.72	b	2.17	b
Bac. + C.N. + Adh	1.59	b	2.64	b	2.25	b
Bac. + Turba + Alm	0.99	c	1.26	c	1.69	c
Testigo	3.03	a	5.08	a	3.26	a

* Medias seguidas de una misma letra no se consideran estadísticamente distintas según la prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$)

siendo menor para el de Bacteria + Turba + Almidón y mayor para el testigo, lo cual pudo haberle dado ventaja. No obstante, pareciera tener la conveniencia de que mantiene una mayor población de bacterias en la hoja.

Se determinó también que fue durante las primeras seis semanas cuando se produjeron las mayores reducciones en los promedios para cada una de las variables, en los tratamientos: Bacteria + Turba + Adherente y Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente (Figs. 1, 2 y 3). Esto señala la posibilidad de combatir esta enfermedad, en forma efectiva, si las aplicaciones de la bacteria se inician, en forma temprana, al comienzo de la época lluviosa cuando el inóculo está más bajo, como ocurrió en el tratamiento con almidón, el cual comenzó con inóculo bajo y alcanzó el equilibrio, desde el comienzo.

En cuanto a las aplicaciones se puede decir que, tanto el momento como la dosis y la frecuencia, parecieran ser las correctas ya que se mantuvo un combate efectivo de la enfermedad durante el ensayo. Se considera que la presión del inóculo en el ensayo fue adecuada mas no alta.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, F.L.; COOK, R.J. 1982. Biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 433 p.
2. BONILLA, J.C. 1980. Estudio del ojo de gallo causado por el hongo *Mycena citricolor*. In Simposio Latinoamericano sobre caficultura (3., 1980; Tegucigalpa, Honduras). Memorias Tegucigalpa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Zona Norte. p. 177-188.
3. CARVAJAL, J.F. 1939. Ojo de gallo (*Omphalia flavida*). Instituto de Defensa del Café de Costa Rica. Fotocopia. Tesis 371. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. p. 535-576.
4. KNUDSEN, G.R.; SPURR JUNIOR, A.W. 1987. Field persistence and efficacy of five bacterial preparations for control of peanut leaf spot. *Plant Disease* 71(5): 442-445.
5. MORGAN, F.L. 1963. Infection, inhibition and germ-tube lysis of the three cereal rusts caused by *Bacillus pumilus*. *Phytopathology* 53:1 346-1 348.
6. MORA, F. 1987. Combate biológico de ojo de gallo (*Mycena citricolor* Bert & Curt) Sacc, en café mediante bacterias antagonistas. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 58 p.

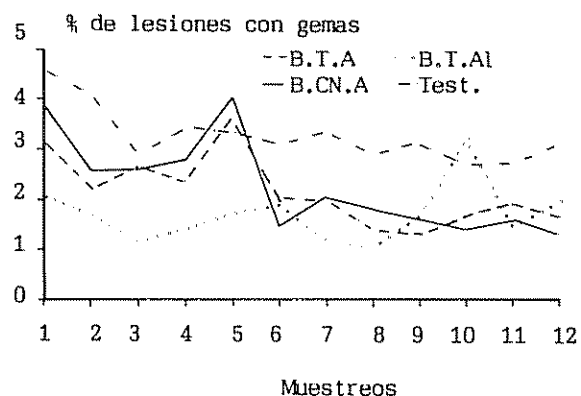


Fig. 3. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el porcentaje de lesiones con gemas de *M. citricolor*.

Sin embargo, el estudio pareciera indicar la posibilidad de que la bacteria no necesita adherente para mantenerse en el filoplano y que una sola aplicación hecha al inicio, sea suficiente para obtener un buen control de la enfermedad.

- 7 SCHROT, M.N.; LOPEZ, I.E.; HILLDEBRAND, D.C. 1983 Bacteria as biological control of plant disease. In Current perspective in microbial ecology. Ed. by M.S. Klug; L. A. Riddy. Washington American Society of Microbiology p. 349-354
- 8 SPURR, H.W. 1981. Introduction of microbial antagonists for the control of foliar pathogens. In

Biological control in crop production. Allanheld - Osmun Publishers. New Jersey. p. 323-332.

9. WINDELS, E.; LINDOW, S. 1985 Biological control on the phylloplane. St. Paul, Minnesota, The American Phytopathological Society 169 p.

Resistência Induzida no Complexo *Coffea arabica* L. *Hemileia vastatrix*

Berk.:et Br. Fenóis e Enzimas¹

P. Mazzafera*, A. C. N. Magalhães*

ABSTRACT

Resistance to *Hemileia vastatrix* was tested in discs of leaves of the cultivars Catuaí (S_h5) and F840 C1122-18 (S_h5 S_h2) of *Coffea arabica* by the pre-treatment with thermally inactivated uredospores of race II (v5) at 0.1 and 2mg/ml⁻¹ H₂O concentrations. The discs were inoculated with viable uredospores of race II at 0.25, 0.5 and 1mgml⁻¹ H₂O concentrations and on different days after the pre-treatment with inactivated uredospores. As expected, induced resistance was only obtained in the susceptible cultivar (Catuaí). Strongest evidence of induced resistance was observed in the combination of 2 mgml⁻¹ H₂O of inactivated uredospores with 0.5 mgml⁻¹ H₂O of viable uredospores, applied one day after pre-treatment. Total phenol content was also evaluated; however, no significant differences were observed among treatments. Phenolic extracts were analyzed by cellulose thin-layer chromatography and two new spots were detected, being identified as a flavonol in the susceptible cultivar Catuaí, and as an isoflavone in the resistant cultivar C1122-18. Flavonol might be associated with the induced resistance in leaf discs of Catuaí by the pre-treatment with inactivated uredospores, as suggested by its appearance on the days that induced resistance was most evident. Discs of leaves treated with inactivated uredospores of race II at concentrations of 0 and 2 mgml⁻¹ H₂O, were also assayed to peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase. No significant differences were observed between treatments, indicating, and as supported by other data, that the involvement of phenolics in induced resistance to leaf rust in coffee, might be more associated with qualitative than quantitative aspects. The results indicated the need for further studies on other phenolic enzymes.

RESUMO

Foi testada a indução de resistência em discos de folhas dos cultivares Catuaí (S_h5) e F840 C1122-18 (S_h5 S_h2) de *Coffea arabica* pelo pré-tratamento com esporos da raça II (v5) de ferrugem inativados termicamente, nas concentrações 0.1 e 2 mgml⁻¹ H₂O. Posteriormente, os discos foram inoculados com esporos viáveis da mesma raça de ferrugem nas concentrações 0.25, 0.5 e 1mgml⁻¹ H₂O e em diferentes dias após o pré-tratamento. Como esperado, a resistência induzida foi observada somente no cultivar suscetível Catuaí e a maior evidência do fenômeno ocorreu na combinação de 2 mg ml⁻¹ H₂O de esporos inativos com 0.5 mgml⁻¹ H₂O de esporos viáveis, inoculados um dia após o pré-tratamento. Também foi avaliado o conteúdo total de fenóis, no entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre tratamentos. Análises cromatográficas dos extratos fenólicos revelaram o aparecimento de um novo composto em Catuaí e um outro em C1122-18, sendo identificados como flavonol e isoflavona, respectivamente. Estes compostos não estavam presentes em cromatogramas do tratamento controle. Em Catuaí, o flavonol foi detectado nos dias em que a resistência induzida era mais evidente, sugerindo uma possível relação com este tipo de resistência. Nas dosagens de atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, nos discos de folhas pré-tratadas com 0 e 2 mgml⁻¹ H₂O de esporos inativos, não foram evidenciadas diferenças nos dois cultivares. Os resultados ressaltam o aspecto qualitativo do envolvimento dos compostos fenólicos na resistência induzida, assim como a necessidade de novos estudos com outras enzimas oxidativas de fenóis, intermediárias na via biossintética desses compostos.

¹ Recebido para publicação em 2 setembro 1988
os autores agradecem ao Instituto Agronômico de Campinas através da Seção de Genética, nas pessoas do Dr Alcides Carvalho e Dr Luiz Carlos Fazuoli, que propiciaram todas as condições para a realização deste trabalho, assim como um grande incentivo

* UNICAMP, I B., Depto Fisiologia Vegetal, CP6109, Campinas, SP, Brasil, CEP13081

INTRODUÇÃO

Alguns trabalhos relatam a importância dos compostos fenólicos como possíveis participantes na resistência de plantas às doenças. De maneira geral, estes estudos revelam o acúmulo desses compostos em tecidos vegetais em resposta à infecção por patógenos (21, 22).

Em plantas suscetíveis existem indicações de que o acúmulo de fenóis ocorre quando o tecido já foi invadido pelo patógeno, enquanto que em plantas resistentes o aumento também ocorre, porém, mais rápido o suficiente para bloquear o desenvolvimento do organismo invasor (42).

Em café existem contradições quanto a participação de fenóis, sob o aspecto quantitativo, na resistência à ferrugem. Nacacche (32) observou aumento do conteúdo total de fenóis em interações incompatíveis de café e ferrugem, utilizando-se de discos de folhas inoculados com esporos do fungo. Nas combinações compatíveis o mesmo ocorria, mas somente passado algum tempo após a inoculação. Por outro lado, Bruges e Contreiras (5) não obtiveram semelhantes resultados para interações incompatíveis, atribuindo que a qualidade, ou melhor, os tipos de fenóis é que estaria mais diretamente relacionado com a resistência, do que a quantidade desses compostos.

Normalmente, em plantas atacadas por parasitas o aumento do conteúdo de fenóis é acompanhado pela maior atividade de enzimas oxidativas e, em café, assim como para fenóis, os dados encontrados na literatura sobre comportamento enzimático são controversos.

Polifenoloxidase (PFO), peroxidase (PO) e fenilalanina amônia-liase (FAL) são enzimas que já foram amplamente estudadas em vários sistemas patógeno-hospedeiro, e têm em comum o fato de estarem diretamente implicadas no metabolismo dos fenóis. A PFO catalisa a passagem de monofenóis para O-quinonas (27). Quanto a PO existem fortes evidências do seu envolvimento na resistência de plantas às doenças, através da oxidação de compostos fenólicos para ser formada lignina e, assim, aumentar a resistência das paredes celulares do hospedeiro à ação hidrolítica de enzimas fúngicas (43). A FAL, enzima chave na biossíntese de fenóis, atua logo nos primeiros passos da via do ácido shiquímico (7) e tem sido relacionada com a resistência de plantas às doenças (6).

Para café, alguns autores dosaram a atividade de PO e PFO em plantas inoculadas com ferrugem. Nacacche (32) observou aumento de PO e PFO em interações incompatíveis, no entanto, Sievers *et al.* (40) não detectaram aumento em PO passadas 38 horas após a inoculação de ferrugem em cafeeiro resistente. Bruges e Contreiras (5) inocularam cafeeiros resistentes às raças I e II de ferrugem e observaram que a maior atividade em PFO ocorria somente após quase três semanas, caindo para os níveis iniciais após a quarta semana.

Quanto a FAL, nada foi feito em café em relação ao seu comportamento quando da inoculação com ferrugem. Sobre esta enzima o que se conhece pela literatura em café é o trabalho de Carrizosa e Espitia (8), abordando aspectos metodológicos.

Conseqüentemente, desde que muito pouco é conhecido sobre o papel dos fenóis e de enzimas envolvidas no seu metabolismo em cafeeiros infectados por ferrugem, seria de se esperar que menos ainda fosse conhecido à respeito do assunto no fenômeno da resistência induzida, onde a pré-exposição do tecido vegetal a um determinado tratamento leva ao aumento de resistência à posterior inoculação com fungo patogênico. Dois trabalhos pioneiros são conhecidos sobre resistência induzida em café (4, 30), porém, não abordam sobre fenóis e enzimas.

No presente trabalho foi investigado o papel dos compostos fenólicos na resistência induzida do cafeeiro à ferrugem, a partir do pré-tratamento de discos de folhas de dois cultivares de café, suscetível e resistente, com esporos inativados da raça II de ferrugem. Estudou-se ainda, o papel das enzimas PFO, PO e FAL no fenômeno da resistência induzida do cafeeiro à ferrugem, desde que, consideradas as posições em que essas enzimas são atuantes no metabolismo dos fenóis, poderiam estar relacionadas quanto aos aspectos quantitativo (FAL) e qualitativo (PO e PFO).

MATERIAIS E MÉTODOS

—Plantas e patógeno— A espécie *C. arabica* apresenta resistência vertical à *H. vastatrix* e segue a teoria gene-por-gene de Flor (33). As plantas usadas diferiam em apenas um gene de resistência, a saber Catuai ($S_{h1}5 S_{h1}5$) e F840 CI122-18 ($S_{h1}5 S_{h1}5 S_{h2} S_{h2}$). Esporos da raça II de ferrugem ($v_5 v_5$) foram obtidos em plantas infectadas e mantidas em casa de vegetação. A germinação dos esporos foi testada em água destilada (15) e permaneceu entre 20-30%. A inativação dos esporos foi feita em banho maria a 70°C/2 horas e testou-se a eficiência do tratamento com a posterior germinação em água.

—Teste de disco de folhas— Folhas sadias do 2° e 3° par de folhas foram coletadas da porção mediana das plantas no campo, no meio do dia com sol pleno. O teste de discos seguiu a padronização feita por Eskes (12), acondicionando-se discos de folhas, obtidos com um furador de rolhas ($r = 0.8$ cm), em uma caixa que tem no fundo espuma umedecida com água. A caixa é tampada com um vidro transparente e permanece em laboratório a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas e iluminação de luz fluorescente com 500-1000 lux. De cada folha coletada no campo, ao

todo 189, foram retirados 10 discos, que foram ordenados em 7 caixas, permanecendo agrupados de forma a representar a folha de origem. Em cada caixa os discos foram divididos em três grupos (Fig. 1). No mesmo dia em que isto foi feito (Dia 0), em cada disco de um grupo de cada caixa foi colocada uma gota (0,025 ml) de solução aquosa de esporos inativos de ferrugem raça II, na concentração $2 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$; outro grupo de cada caixa recebeu uma gota na concentração $1 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ e no último grupo, os discos foram gotejados com água destilada. Cada grupo em cada caixa foi subdividido, então, em três. Um subgrupo recebeu uma gota (0,025 ml) de solução aquosa de esporos viáveis na concentração $0,25 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$, outro de $0,5 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ e o último $1 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$. Porém, a inoculação com esporos viáveis foi feita em diferentes dias após o pré-tratamento com esporos inativos, correspondendo uma caixa a um dia. No dia 0 a concentração foi dobrada para ambos os tipos de esporos. Um dia após o pré-tratamento (Dia 1), as gotas do pré-tratamento sobre os discos estavam praticamente secas e as concentrações usadas de soluções com esporos viáveis foram normais. Assim, a cada dia (0, 1, 3, 5, 7, 10, 13 após o pré-tratamento) uma nova caixa era inoculada com esporos viáveis formando um fatorial de $3 \times 3 \times 7$. O desenvolvimento da doença foi avaliado pelo período de latência (em dias), tipo de reação (escala de 0-9 pontos), densidade de lesão (escala de 0-9 pontos) e porcentagem de discos lesionados (13).

Extração e determinação de fenóis – Ao mesmo tempo em que foi feito o experimento anterior, um outro semelhante foi realizado. No dia em que foram feitas as inoculações com esporos viáveis no primeiro

		esporos inativos ($\text{mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)			0			1			2		
		esporos viáveis ($\text{mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)			0,25	0,5	1	0,25	0,5	1	0,25	0,5	1
discos de folhas		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
		000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

Fig. 1 Esquema de inoculação de um grupo, ou de um dia.

experimento, no segundo os discos eram analisados quando ao teor total de fenóis. Desta forma, observou-se a influência do pré-tratamento sobre estes compostos. A extração foi feita com etanol 70% (lg peso fresco/20 ml) por 90 minutos sob refluxo (17). A determinação do conteúdo total de fenóis seguiu o método de Swain e Hillis (41).

Identificação cromatográfica dos compostos fenólicos – Os extratos etanólicos foram reduzidos de volume e resuspensos em metanol 80% (1,5 ml). Aplicou-se 0,05 ml de extrato metanólico por placa e na primeira direção empregou-se butanol: ácido acético: água (6:2:1) e na segunda, ácido acético 2% (11, 38). As placas foram observadas em UV longo e curto, com e sem vapores de amônia, e reveladas com solução aquosa de FeCl_3 e $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, para fenóis totais (3), solução etanólica de AlCl_3 com observação em UV, para flavonóides (35, 38) e com solução HCl-Vanilina 10%; para flavonóides com núcleo floroglucinol (35, 37).

Enzimas – Em face aos resultados obtidos nos testes de discos, que evidenciaram resistência induzida no pré-tratamento com $2 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ de esporos inativos (ver Resultados), as dosagens das atividades das enzimas foram feitas nessa concentração e $0 \text{ mg ml}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$.

Extração e dosagem da atividade de peroxidase e polifenoloxidase – A extração de PO e PFO seguiu o método de Nacacche (32) com pequenas alterações. Discos de folhas ($\pm 350 \text{ mg}$) foram macerados a frio (4°C) com 2 ml de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0 contendo KCl 0,8 M e ácido ascórbico 0,05 M. O volume foi completado a 5 ml e submetido a centrifugação a 10 000 rpm por 10 minutos a 4°C . O precipitado foi ressuspenso em 4 ml de tampão e novamente centrifugado. Aos sobrenadantes misturados adicionou-se 0,5 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e após filtração o extrato foi submetido a coluna de Sephadex G-25. Para as dosagens de atividade de PO utilizou-se o método de Kar e Mishra (20), porém, substituiu-se guaiacol por pirogalol como substrato. A mistura de reação continha 1,6 ml de tampão fosfato 0,125 M, pH 6,8, 1 ml de pirogalol 0,2 M, 1 ml de H_2O_2 0,25% e 0,4 ml de extrato enzimático. Como branco substituiu-se peróxido por tampão. A incubação foi feita a 25°C por 30 minutos, a reação interrompida por adição de 0,5 ml de H_2SO_4 5% e procedeu-se à leitura de absorbância em 420 nm. A atividade de PFO também seguiu o método de Kar e Mishra (20). A mistura de reação continha 2 ml de tampão fosfato 0,125 M, pH 6,8, 1 ml de pirogalol 0,2 M e 0,4 ml de extrato enzimático. O tampão fosfato continha piruvato de sódio 0,1 M para impedir a liberação de peróxido, que poderia estimular PO interferindo nos res-

Tabela 1. Período de latência (dias) em discos de folhas de Catuaí inoculados com raça II de ferrugem após pré inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II.

Esporos mgml ⁻¹ H ₂ O	Dias após a pré inoculação							\bar{x}	
	0	1	3	5	7	10	13		
Inativo	Viável	*							
		**							
	0.25	28.6	34.4	26.2	36.9	30.0	37.0	30.8	32.0
0	0.50	29.7	28.0	28.7	32.0	28.2	32.0	30.3	29.8
	1.00	29.8	28.0	26.5	31.6	32.0	29.3	33.2	30.1
\bar{x}		29.4	30.1 [▲]	27.1	33.5	30.1	32.8	31.4	30.6
	0.25	33.6	31.0	29.2	31.0	28.0	33.8	28.9	30.8
1	0.50	29.3	29.1	27.9	32.8	30.3	28.9	27.9	29.5
	1.00	34.5	29.0	32.8	32.0	28.6	31.9	32.1	31.6
\bar{x}		32.5	29.7 [▲]	29.9	31.9	29.0	31.5	29.6	30.6
	0.25	35.4	36.2 [△]	31.1	33.3	31.5	30.3	32.3	32.9
2	0.50	29.7b	61.5a [○]	34.5b	36.5b	28.0b	31.5b	39.0b	36.0
	1.00	30.4	38.3 [△]	28.6	33.3	30.8	31.5	30.3	32.4
\bar{x}		31.8b	45.3a [■]	31.4b	34.3b	30.1b	31.1b	32.2b	33.7
\bar{x}		31.2	35.1	29.5	33.3	29.7	31.8	31.1	31.7
CV%		9.49							

* Médias de três repetições.

** Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre dias, símbolos cheios entre pré-tratamentos com esporos inativos em um determinado dia e símbolos vazios entre tratamentos com esporos viáveis em um determinado pré-tratamento com esporos inativos em um determinado dia.

sultados (40). A incubação foi feita a 37°C por 30 minutos (40), a reação interrompida adicionando-se 0.5 ml de H₂SO₄ 5% e as leituras de absorbância foram feitas em 420 nm. Para ambas as enzimas os resultados da dosagem de atividade foram expressos em unidades de enzima, ou seja, a quantidade de proteína que causa a variação de uma unidade de absorbância por minuto (10).

Extração e dosagem de fenilalanina amônia-liase – Para extração da FAL preparou-se pó-cetônico de discos de folhas, conforme estabelecido por Carrizosa e Espitia (8). O tecido foi macerado com acetona 2% 2-mercaptoetanol a -25°C, na proporção de 1g de tecido verde/20 ml. O homogenato foi filtrado sob vácuo em funil de Buckner, efetuando-se, em seguida, lavagem com acetona 2% 2-mercaptoetanol (80 ml) a -25°C. Nova lavagem foi feita utilizando-se acetona a -25°C (20 ml). Para extração da FAL o pó-cetônico foi suspenso em tampão borato 0.1M, pH 8.8, na proporção de 1/100 (p/v), com agitação por 60 minutos a 4°C. O extrato foi centrifugado por 30 minutos em 20 000 rpm, a 4°C, e o sobrenadante utilizado para dosagem de atividade (8). O meio de reação continha 0.5 ml de extrato enzimático, 1ml de L-fenilalanina 12mM e 1.5 ml de tampão borato 0.1M, pH 8.8. Como branco substituiu-se o substrato por tampão. A

incubação deu-se a 40°C por 90 minutos e as leituras de absorbância foram feitas em 290 nm (8). Os resultados de atividade da FAL foram expressos em unidades de absorbância.

RESULTADOS

Teste de disco de folhas – Apesar de ser conhecido que o cafeeiro C1122-18 é resistente a ferrugem raça II, foram feitas as inoculações com esporos viáveis após o pré-tratamento com esporos inativos. Como esperado, não foi observado desenvolvimento do fungo nos discos de folhas, portanto, os resultados deste item referem-se ao Catuaí.

Na Tabela 1 são apresentados os dados de período de latência (PL). Na média geral de pré-tratamentos não houve diferenças significativas mas, na média de dias do pré-tratamento 2 mgml⁻¹ H₂O o dia 1 foi diferente dos restantes. No dia 1 este pré-tratamento foi diferente dos outros. Na interação 2 mgml⁻¹ H₂O/dia 1 a concentração 0.5 mgml⁻¹ H₂O de esporos viáveis teve o maior PL, em outras palavras, o desenvolvimento e a esporulação da ferrugem foi mais lenta do que nas outras interações. Na interação 2 mg/0.5 mgml⁻¹ H₂O o dia 1 foi diferente dos restantes, com maior valor para PL.

A Tabela 2 contém os dados de tipo de reação (TR). Somente nos dias 1 e 3 é que foram observados diferenças significativas entre os pré-tratamentos com esporos inativos. A concentração $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ teve os menores valores. Neste pré-tratamento o dia 1 diferiu de todos os outros. Apesar de não ter sido observada diferença significativa na interação $2 \text{ mg}/0.5 \text{ mg}/\text{dia } 1$, ela mostrou-se com o melhor valor para TR.

Em densidade de lesões (DL) (Tabela 3) a média do pré-tratamento de concentração $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ teve o menor valor, seguida por $1 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$. Na média geral de dias, o dia 0 diferiu de todos os outros com exceção do dia 3, que foi estatisticamente igual aos restantes. Na média de dias por pré-tratamento, o dia 1 foi diferente dos outros na concentração $1 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ e na concentração $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$, foi diferente do dia 3, mas igual aos dias 5, 7, 10 e 13. No dia 1 as concentrações 1 mg e $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ diferiram do controle ($0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), ocorrendo o mesmo no dia 3, e nos dias 5, 7 e 13 a maior concentração teve menor DL que $1 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ e o controle.

Para porcentagem de discos lesionados (PDL) (Tabela 4) a média do pré-tratamento $1 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ foi diferente dos outros. No dia 1 os pré-tratamentos 1 mg e $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ mostraram menor PDL que o controle. Nos dias 3, 5 e 7, o tratamento de concen-

tração intermediária diferiu do controle mas não da quele de maior concentração.

—Teor total de fenóis— Em Catuai o teste de variância indicou significância a 1% para a interação concentração de esporos inativos e dias. A decomposição desta interação mostrou diferenças significativas a 5% entre concentração de esporos inativos no dia 1, e a 1% entre dias para cada pré-tratamento. No entanto, tais diferenças não foram evidenciadas pelo teste de Tukey 5%. Contudo, observando a Tabela 5, notamos que, de um modo geral, os maiores valores para fenóis encontram-se nos dados do controle ($0 \text{ mg ml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$). Para C1122-18 não foi possível observar o mesmo, mas este genótipo apresentou maior conteúdo de fenóis do que Catuai.

—Análises cromatográficas— As Figs. 2 e 3 mostraram os cromatogramas dos extratos metabólicos de Catuai e C1122-18, respectivamente, representando os vários dias de análise dos discos que sofreram tratamentos com $0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ e $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ de esporos inativos. Ao todo foram identificadas 49 manchas, sendo 42 comuns aos dois genótipos de café. O Quadro 1 representa as identificações quanto a fenol, flavonóide e flavonóide com núcleo floroglucinol. Em Catuai (Fig. 2) foram identificadas 45 manchas e as de número 4 e 44 não foram encontradas em C1122-18. A mancha 31 foi muito pouco visível nos dias 0 e

Tabela 2. Tipo de reação (0 a 9 pontos) em discos de folhas de Catuai inoculados com raça II de ferrugem após pré inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II.

	Esporos $\text{mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$	Dias após a pré inoculação							\bar{x}
		0	1	3	5	7	10	13	
Inativo	Viável	*							
		**							
0	0.25	8.3	8.7	9.0	8.5	8.7	8.0	8.7	8.6
	0.50	8.0	9.0	8.7	8.0	8.7	8.0	8.7	8.4
	1.00	8.0	9.0	8.7	8.7	7.0	8.7	8.0	8.3
\bar{x}		8.1	8.9 [▲]	8.8 [▲]	8.4	8.1	8.2	8.5	8.4
1	0.25	7.0	8.0	8.3	9.0	8.5	7.7	9.0	8.2
	0.50	8.0	8.7	8.3	8.0	8.3	8.7	8.7	8.4
	1.00	6.0	8.7	7.3	7.0	8.3	8.5	8.5	7.8
\bar{x}		7.0	8.5 [▲]	8.0 ^{▲●}	8.0	8.4	8.3	8.7	8.1
2	0.25	6.0	6.0	8.0	7.9	8.0	8.0	8.0	7.4
	0.50	7.0	3.0	5.7	6.0	8.0	7.5	7.3	6.4
	1.00	7.7	6.0	8.0	7.9	8.3	8.0	8.0	7.7
\bar{x}		6.9a	5.0b [●]	7.2a [●]	7.3a	8.1a	7.8a	7.8a	7.2
\bar{x}		7.3	7.5	8.0	7.9	8.2	8.1	8.3	7.9
CV%		10.59							

* Médias de três repetições.

** Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% e símbolos cheios entre pré-tratamentos com esporos inativos em um determinado dia.

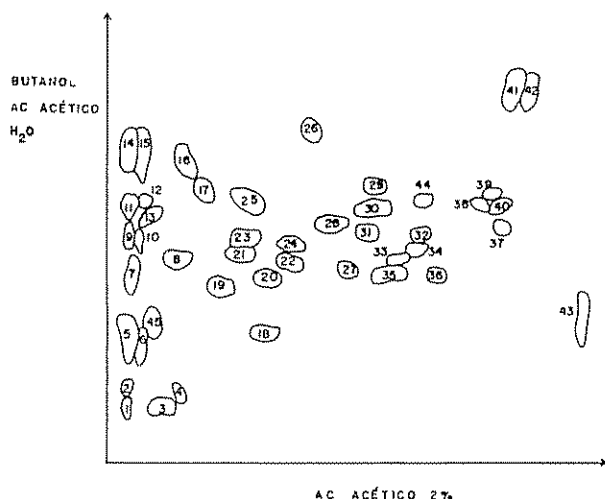


Fig. 2. Representação dos cromatogramas dos extratos de Catuaí, no ensaio de pré-inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II

1 na concentração $0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$, sendo visualizada melhor nos dias 1, 3 e 5 de $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$. A mancha 44 foi detectada apenas nos dias 3 e 5 de $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$.

Em C1122-18 (Fig. 3) identificaram-se 47 manchas sendo que as de número 46, 47, 48 e 49 não eram comuns a Catuaí. Também neste genótipo a mancha 31 apareceu no dia 0 e foi melhor visualizada nos dias 3 e 5 de $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$. A mancha número 47 foi observada somente em $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ nos extratos dos dias 3, 5, 7 e 10.

As manchas 31 e 44 foram identificadas como flavonóis e a 47 como isoflavona, segundo as observações em UV e a série de revelações realizadas.

Quanto às atividades das enzimas estudadas, em nenhum dos casos foram observadas diferenças significativas entre o tratamento controle ($0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) e com solução de $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ de esporos inativos de ferrugem raça II (dados não apresentados). Apenas foram detectadas algumas variações significativas para dias após o tratamento. Isto ocorreu para PO no cultivar C1122-18 e para PFO em Catuaí, no entanto, tais dados não mostraram uma variação coerente de atividades, e que pudessem ser relacionadas com os valores encontrados para fenóis totais.

Quanto a FAL, o cultivar C1122-18 apresentou tendência a possuir maior atividade do que o Catuaí, tanto no controle como no tratamento $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$.

DISCUSSÃO

Em café, somente dois trabalhos são conhecidos

sobre a resistência induzida à ferrugem com o próprio patógeno (4, 30). Neles avaliou-se somente o número de lesões, não sendo oferecidas informações sobre velocidade e/ou intensidade de esporulação. No presente trabalho isto foi observado através de PL e TR, no entanto, tanto para estes parâmetros como para DL e PDL faltaram maiores evidências para que fossem destacadas as interações proporcionadas segundo o modelo estatístico adotado (fatorial $3 \times 3 \times 7$). Porém, isto pode, em parte, ser explicado pelo fato do teste de variância ser baseado em médias e ao rigor do teste de Tukey.

De modo geral, pode-se concluir que na combinação $2 \text{ mg}/0 \text{ mg}/\text{dia 1}$ a resistência induzida expressou-se com maior intensidade. PL foi o parâmetro que mais evidenciou esta interação. Apesar de não ter sido diferenciado estatisticamente, pode-se notar que, em relação a $0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}/0 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$, na combinação $2 \text{ mg}/0 \text{ mg}$ os quatro parâmetros avaliados mostraram resistência induzida com maior intensidade no dia 1, decrescendo nos outros dias, principalmente quando considerados os dias 3 e 5.

Beretta *et al.* (4) induziram resistência à ferrugem em café, através da pré-exposição das folhas de mudas do cultivar Mundo Novo de *C. arabica* à esporos inativados termicamente (120°C). Os autores observaram que o pré-tratamento com esporos inativos na concentração de $2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ conferia resistência em níveis constantes até o sétimo dia à inoculação com esporos viáveis ($2 \text{ mgml}^{-1} \text{H}_2\text{O}$). Após este dia o número de lesões aumentava novamente, tendendo a igualar-se ao controle no 14º dia. No presente trabalho não foi notada a manutenção dos níveis de resistência iguais ao dia 1 nos outros dias.

Cabe, portanto, ressaltar que Beretta *et al.* (4) permitiram um intervalo de 96 horas entre o pré-tratamento com esporos inativos e a inoculação em si. Ainda, após a inoculação, as plantas permaneceram por 72h sob incubação em ambiente com alta umidade. Considerando-se que o indutor presente nos esporos de ferrugem localiza-se externamente na parede celular e é liberado facilmente em água (1, 4, 29), tais autores deram condições bastante propícias para que isto ocorresse pois, o período de molhamento foi de pelo menos três dias (72 horas), já que não foi citado em que condições permaneceram as plantas após o pré-tratamento, e no máximo de sete dias (96 horas + 72 horas).

Para o presente trabalho, o período de molhamento foi no máximo de dois dias, já que no dia 1 as gotas do pré-tratamento encontravam-se praticamente secas e a incubação com esporos viáveis era de 24

Tabela 3. Densidade de lesões (0 a 9 pontos) em discos de folhas de Catuaí inoculados com raça II de ferrugem após pré inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II.

Esporos mgml ⁻¹ H ₂ O		Dias após a pré inoculação							
		0	1	3	5	7	10	13	\bar{x}
Inativo	Viável	*							
		**							
0	0.25	7.0	5.7	6.7	3.5	7.0	4.0	3.3	5.3
	0.50	6.3	8.0	5.7	5.8	6.7	3.3	5.0	5.8
	1.00	7.0	6.7	6.7	6.0	3.7	5.3	3.7	5.6
\bar{x}		6.8	6.8 Δ	6.4 Δ	5.1 Δ	5.8 Δ	4.2	4.0 Δ	5.6 Δ
1	0.25	5.3	2.7	4.0	4.0	3.5	2.7	4.5	3.8
	0.50	6.0	3.3	4.3	4.5	4.7	6.3	4.7	4.8
	1.00	5.7	3.0	4.3	3.0	4.0	3.5	4.5	4.0
\bar{x}		5.7a	3.0b \circ	4.2a \circ	3.8a Δ	4.1a Δ	4.2a	4.6a Δ	4.2 \bullet
2	0.25	5.0	1.0	4.0	3.6	3.8	3.0	1.5	3.1
	0.50	6.3	1.0	2.7	2.0	3.0	2.0	2.0	2.7
	1.00	5.0	1.5	5.7	3.6	3.8	3.0	1.5	3.4
\bar{x}		5.4a	1.2c \circ	4.1ab \circ	3.1abc \circ	3.5abc \circ	2.7bc	1.7bc \circ	3.1 $\#$
\bar{x}		6.0a	3.7b	4.9ab	3.9b	4.5b	3.7b	3.4b	4.3
CV%		31.37							

* Médias de três repetições

** Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre dias, símbolos vazios entre pré-tratamentos com esporos inativos em um determinado dia e símbolos cheios entre pré-tratamentos com esporos inativos

horas. Caso realmente o tempo de molhamento afete a resistência induzida, explicando a diferença entre os dois trabalhos, torna-se bastante importante um dos pontos levantados por Johnson (18) para esta resistência, relativo ao tempo em que ela é eficiente após a indução. Isto poderia limitar a sua aplicação em condições de campo, entretanto, teria ainda um importante papel no melhoramento de plantas resistentes à doenças pois, pode gerar informações para a compreensão do controle genético de mecanismos de reconhecimento entre plantas e agentes patogênicos (39).

Fixando-se uma concentração de esporos inativos seria de se esperar que o aumento gradual da quantidade inoculada de esporos viáveis levasse a maiores valores de DL e PDL e menores de PL e TR. Isto não ocorreu quando considerada a concentração 2mg ml⁻¹ H₂O de esporos inativos, pois, a combinação deste pré-tratamento com a inoculação com a solução 0.5mgml⁻¹ H₂O de esporos viáveis levou a menores valores de DL e PDL e maiores de PL e TR, quando comparada à inoculação de 0.25 mgml⁻¹ H₂O de esporos viáveis. Frente a isto poder-se-ia considerar a influência nos resultados através da presença de um auto inibidor (31), obstrução física dos estômatos impedindo a penetração do fungo na folha, presença do parasita *Verticillium hemileiae* (2) e de outros mi-

croorganismos que inibissem a germinação dos esporos de ferrugem, como por exemplo, bactérias.

A primeira hipótese pode ser descartada facilmente, já que a interação 2mg/lmg apresentava maior quantidade de esporos, logo, de auto inibidor. A mesma justificativa pode ser aplicada à segunda hipótese, porém, para confirmação foram feitas impressões foliares dos discos com esmalte sintético (26), excluindo a obstrução física como interferência.

O fungo *V. hemileiae* parasita a ferrugem do café, rompendo a parede dos esporos (2). Tal fungo quando presente se manifesta por formar um esbranquiçamento no centro das lesões, o que não ocorreu durante a condução dos experimentos.

Quanto a interferência por bactérias foram feitas impressões foliares em discos que receberam as combinações 2mg/0.5 mg e 0 mg/0.5 mg nos dias 1 e 3. Na primeira combinação os dados sobre germinação foram divididos por 5 e os valores obtidos foram de 14.7% para o dia 1 e 12.2% para o dia 3. No controle a germinação foi de 12.4% e 16.1% nos dias 1 e 3, respectivamente, excluindo a influência de bactérias sobre a germinação.

Segundo Medeiros e Rodrigues Jr (28) e Rodrigues Jr et al. (36), que sugeriram a presença de compostos

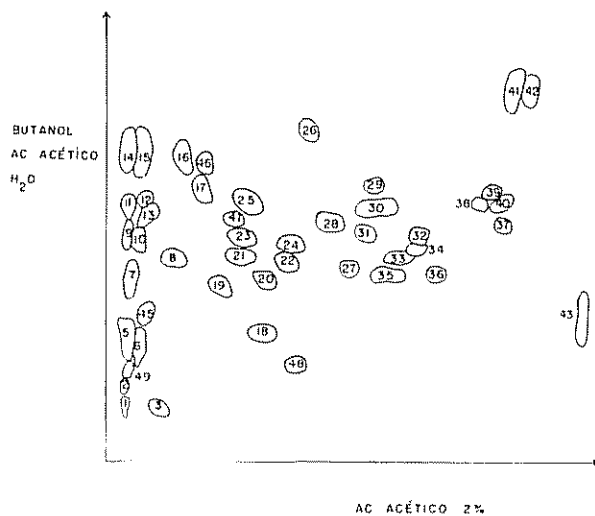


Fig 3 Representação dos cromatogramas dos extratos de C1122-18, no ensaio de pré-inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II.

tipo fitoalexinas em interações incompatíveis de café-ferrugem, a resistência vertical, expressa pelos genes S_{H_1} , não implicaria diretamente na produção de compostos fungitóxicos e sim que, os produtos codificados por estes fatores seriam responsáveis pelo reconhecimento da raça do patógeno. Posteriormente haveria a produção ou aumento da quantidade de com-

postos fungitóxicos. Isto de certa forma equivale ao conceito gene-por-gene de Flor (14), onde para um gene de avirulência do patógeno existe um gene de resistência do hospedeiro. Assim, a interação entre os produtos destes genes levariam para a incompatibilidade. Na ausência de genes de resistência na planta, que reconheceria o produto do gene do patógeno, haveria a suscetibilidade, da mesma forma que uma mutação no patógeno poderia levar a esta mesma reação.

Outra teoria que procura explicar a forma como ocorre o reconhecimento entre patógeno e hospedeiro propõe que, a suscetibilidade ocorre quando um produto de um gene de virulência interage com o produto do gene de suscetibilidade de planta, havendo o bloqueio da reação de defesa da planta. Na introdução de um novo gene de suscetibilidade por melhoramento, ou ocorrendo mutação, não ocorreria mais o bloqueio do mecanismo de defesa (44).

No entanto, tais modelos não se adaptam aos resultados aqui obtidos, assim como aos de outros autores (4, 30), onde induziu-se a resistência em café a uma raça patogênica de ferrugem com esporos da mesma raça, porém, inativados. Portanto, houve o reconhecimento entre planta e o patógeno na forma inativada.

Desta forma, seria mais aceitável a proposta de que o reconhecimento entre planta e patógenos não é es-

Tabela 4. Porcentagem de discos lesionados (%) em discos de folhas de Catuaí inoculados com raça II de ferrugem após pré inoculação com esporos inativos de ferrugem raça II.

Esporos		Dias após a pré inoculação							
mg/ml H ₂ O		0	1	3	5	7	10	13	\bar{x}
Inativo	Viável	*							
		**							
0	0.25	80.4	71.1	76.3	66.3	84.1	50.9	35.2	66.3
	0.50	83.3	100.0	66.3	70.5	71.5	46.6	55.4	70.5
	1.00	95.8	73.3	80.6	66.7	70.0	69.3	42.5	71.2
\bar{x}		86.5	81.5 Δ	74.4 Δ	67.8 Δ	75.2 Δ	55.6	44.4	69.3 Δ
1	0.25	64.0	27.0	44.9	37.5	34.0	40.0	62.5	44.3
	0.50	81.9	36.1	50.5	40.0	45.7	68.2	48.9	53.0
	1.00	70.4	33.6	48.5	51.3	60.1	50.0	45.0	51.3
\bar{x}		72.1	32.2 \circ	48.0 \circ	42.9 \circ	46.6 \circ	52.7	52.1	49.5 \bullet
2	0.25	57.6	13.7	58.9	62.5	60.9	54.4	48.3	50.9
	0.50	80.4	11.1	31.0	55.5	61.0	54.3	48.2	48.8
	1.00	62.5	16.3	74.1	70.0	60.9	54.3	47.9	55.1
\bar{x}		66.8	13.7 \circ	54.7 $\circ\Delta$	62.7 $\circ\Delta$	60.9 $\circ\Delta$	54.3	48.1	51.6 Δ
\bar{x}		75.1	42.5	59.0	57.8	60.9	54.2	48.2	56.8
CV%		30.91							

* Médias de três repetições.

** Símbolos vazios diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre pré-tratamentos com esporos inativos em um determinado dia e símbolos cheios entre pré-tratamentos com esporos inativos.

Tabela 5. Teor de fenóis totais em Catuai e C1122-18 (mgs tecido verde) – ensaio de pré inoculação de discos de folhas de café com esporos inativos de ferrugem raça II.

Esporos mgml ⁻¹ H ₂ O	Dias após a pré inoculação							\bar{x}
	0	1	3	5	7	10	13	
Catuaí	*							
0	13.4	16.0	14.2	12.9	14.5	15.4	12.8	14.2
1	13.4	12.0	13.5	15.2	11.7	12.3	11.4	12.8
2	13.4	12.6	13.4	11.2	15.1	13.4	11.6	12.9
\bar{x}	13.4	13.5	13.7	13.1	13.8	13.7	11.9	13.3 [▲]
CV%	11.03							
C1122-18								
0	16.0	15.1	15.2	15.2	12.9	15.1	14.8	14.9
1	16.0	13.7	12.8	14.9	12.7	13.9	15.4	14.2
2	16.0	15.4	13.8	15.8	13.5	15.3	14.2	14.9
\bar{x}	16.0	14.7	13.9	15.3	13.1	14.8	14.8	14.6 [●]
CV%	11.87							
\bar{x}	14.7	14.1	13.8	14.2	13.4	14.2	13.4	14.0

* Médias de três repetições.

** Símbolos cheios diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre genótipos

pecífico, já que mesmo raças avirulentas, ou ainda microorganismos não virulentos, podem induzir resistência em plantas (16, 23). A expressão da resistência seria dependente da presença de informação genética para mecanismos de resistência e da rapidez e magnitude pela qual esta seria transmitida e o (s) seu (s) produto (s) formado (s) (23, 24).

Segundo os dados sobre o teor total de fenóis, PL, TR, DL e PDL pode-se afirmar que, muito provavelmente, não houve relação entre a quantidade destes compostos e a resistência induzida observada. Porém não pode ser descartada a possibilidade de produção ou aumento em quantidade de um determinado composto mas, sem afetar de forma mensurável o conteúdo de fenóis totais.

Nacacche (32) observou aumento no total de fenóis em combinações compatíveis e incompatíveis de café e ferrugem. O aumento foi mais rápido e pronunciado nos casos de incompatibilidade. Por outro lado, Bruges e Contreiras (5) não observaram aumento nestes compostos e quinonas em interações incompatíveis de café e ferrugem, concluindo que não era possível atribuir a resistência observada à ação fungistática que poderia ocorrer devido ao acúmulo de fenóis, alegando ainda, que a resistência estaria associada a diferenças qualitativas dos compostos fenólicos, que poderiam estar presentes antes ou após a infecção. Quanto a este último aspecto, Lopes e Monaco (25) não conseguiram traçar qualquer relação entre tipos de compostos fenólicos encontrados nos frutos de vários cafeeiros e resistência à ferrugem.

Apesar de C1122-18 ter apresentado maior conteúdo de fenóis do que Catuaí, a sua resistência a raça II de ferrugem não poderia ser explicada somente por este aspecto quantitativo, já que é suscetível a outras raças de ferrugem.

Portanto, supondo-se que realmente os fenóis estejam relacionados à resistência do cafeeiro à ferrugem, a indução de resistência observada em discos de folhas de Catuaí não poderia ser explicada pelo aspecto quantitativo e sim pelo qualitativo, como observado nos cromatogramas das Figs. 2 e 3.

A resistência induzida em Catuaí foi observada com maior intensidade no dia 1 na combinação 2mg/0.5mg, mas, como citado anteriormente, ela parece também ter se manifestado nos outros dias, principalmente 3 e 5, com menor intensidade. No entanto, a mancha 44, identificada como um flavonol, foi observada somente nos dias 3 e 5. Isto poderia ser explicado pelo fato de que nestes dias a quantidade acumulada fosse tal, permitindo a visualização pelos métodos empregados. Mesmo a aplicação de maiores quantidades do extrato metanólico não permitiu a observação da mancha 44 no dia 1. Assim, seria correto afirmar que o aparecimento deste flavonol estivesse relacionado com o processo de resistência induzida mas, que o mesmo não seria o único responsável pela diminuição da infecção pela ferrugem nos discos de folhas de Catuaí. Comentário semelhante é válido para a mancha 47, identificada como uma isoflavona, visualizada em C1122-18.

Supondo-se serem estes compostos do tipo fitoalexinas, o discutido acima vêm, em parte, confirmar que tais compostos não são notáveis agentes antibióticos, pois, a quantidade requerida para interromper o avanço de uma infecção é considerada bastante alta ($LD_{50} = 1 \text{ a } 5 \times 10^{-4} \text{ M}$) (9, 24)

Quanto a mancha 31, identificada como um flavonol, provavelmente o seu aparecimento esteja relacionado aos ferimentos provocados pelo furador empregado na retirada dos discos, já que a mesma apareceu, para ambos os genótipos estudados, desde o dia 0 no tratamento controle

Nacacche (32) detectou aumento de PO e PFO em discos de folhas de cafeeiros ($S_h 1$, $S_h 4$ e $S_h 5$) inoculados com raça II de ferrugem, originando combinações compatíveis e incompatíveis. Nas interações de resistência o pico de atividade de PFO deu-se logo no 5º dia após a inoculação, enquanto que para a reação de suscetibilidade houve aumento significativo somente após o 28º dia. Para PO observou-se maior atividade no 14º dia nas interações incompatíveis e nas compatíveis não se observou aumento significativo dessa enzima. Quando discos de folhas foram expostos ao indutor extraído da parede celular dos esporos de ferrugem, houve aumento de PO e PFO nas combinações incompatíveis no período de 24 horas, no entanto, o aumento de atividade nas compatíveis não foi nítido. Assim, isto, de certa forma, confirma os dados obtidos sobre a atividade dessas enzimas no processo de resistência induzida.

Contrariando os resultados de Nacacche (32) surge o trabalho de Sievers *et al.* (40), que não detectaram aumento em PO em 38 horas após a inoculação de café ($S_h 2$) com esporos incompatíveis de ferrugem. Da mesma forma, Bruges e Contreiras (3) constataram que a máxima atividade de PFO —em combinações incompatíveis de café e ferrugem ocorria somente após 20 dias da inoculação e caía para o nível inicial após o 27º dia, sendo que este aumento era desprezível quando comparado com a planta sadia.

Segundo Sievers *et al.* (40), o aumento de PO em interações compatíveis de ferrugem e café ($S_h 2$) ocorreu somente após várias semanas depois da inoculação o que, juntamente com alguns dos dados de Nacacche (32), pode levar à suposição de que o aumento dessa enzima em plantas suscetíveis de café inoculadas com ferrugem seja mais uma consequência do que uma causa (19, 45), pois nos períodos considerados o fungo já se encontra estabelecido no mesófilo foliar.

Assim, os resultados aqui obtidos para PFO e PO vêm mostrar a complexidade do assunto, ressaltando ainda mais que no processo de indução de resistência outras enzimas do metabolismo dos fenóis podem estar envolvidas e que a resistência em si parece ser um processo dinâmico, onde muitos fatores podem estar envolvidos.

A dosagem da atividade da FAL indicou que não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, entretanto, C1122-18 mostrou tendência a apresentar maiores valores do que Catuaí. Tal resultado, visto desta forma, é concordante com o fato de que C1122-18 apresenta maior teor de fenóis do que Catuaí, permitindo especulações sobre a capacidade dessa enzima afetar o conteúdo dos compostos fenólicos nas células.

Os valores de atividades obtidos para FAL variaram bastante, apresentando o Catuaí um coeficiente de variação de 58% e C1122-18 de 50%, assim como os valores encontrados mostraram-se razoavelmente baixos. Para estudos da FAL em outras plantas tem-se utilizado de metodologias conhecidas e que não apresentam maiores dificuldades (46). Porém, em café a extração e dosagem dessa enzima parece possuir certa dificuldade no que diz respeito, principalmente, à interferência de fenóis, que uma vez unidos à proteínas causam a formação de polímeros praticamente insolúveis (34). Isto justificou o trabalho desenvolvido por Carrizosa e Espitia (8). No entanto, para o presente trabalho parece que algum tipo de interferência deve ter ocorrido, levando à obtenção de valores baixos de atividades e que, com relação à indução de resistência, não permitiu conclusões concretas.

Conclui-se, portanto, que no processo de resistência induzida do cafeeiro à ferrugem o metabolismo dos fenóis, se atuante, está aparentemente relacionado com o (s) tipo (s) de composto (s) e que, provavelmente, outras enzimas podem estar envolvidas no processo. Em face à dimensão e à grande variedade de compostos que podem ser formados através do metabolismo de fenóis, quinonas, ligninas, aminoácidos, ácidos cinâmicos e ácidos coumáricos, e a posição onde agem as três enzimas estudadas, as mesmas poderiam ser consideradas como atuantes em extremos da via biossintética, pouco sujeitas, portanto, a alterações significativas em suas atividades.

Com isto novos estudos estão sendo conduzidos a fim de se estudar a real importância dos fenóis na resistência induzida do cafeeiro à ferrugem, assim como a participação de outras enzimas no processo.

LITERATURA CITADA

1. ALBA, A.P.C.; GUZZO, S.D.; MAHLOW, M.P.F.; MORAES, W.B.C.; 1983. Common antigens in extracts of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. urediospores and *Coffea arabica* leaves and roots. Fitopatologia Brasileira 8:473-483.
2. BALDACCI, E.; GLILLINI, C.A.; SCARAMUZZI, G. 1971. Studies by transmission and scanning electron microscopy on the *Hemileia vastatrix-Verticillium hemileiae* association. Revista di Patol. Veg 7:127-145.
3. BARTON, G.M.; EVANS, R.S.; GARNER, J.A.F. 1952. Paper chromatography of phenolic substances. Nature (London) 170:249-250.
4. BERETTA, M.J.G.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. 1977. Induced protection to *Hemileia vastatrix* at a distance from the site of inducing action in coffee plants. Summa Phytopatologica 3(1):66-70.
5. BRUGES, J.; CONTREIRAS, J. 1968. Aspects biochimiques de la résistance du caféier à l'*Hemileia vastatrix*. Portugalia Acta Biol. Série A 10:75-88.
6. BURREL, M.M.; APRILES, J. 1974. Metabolism of phenylalanine and tyrosine by rice leaves infected by *Piricularia oryzae*. Physiological Plant Pathology 4:497.
7. CAMM, E.L.; TOWERS, G.H.N. 1977. Phenylalanine ammonia-lyase. Progress in Phytochemistry 4:169-188.
8. CARRIZOSA, M.I.; ESPINOSA, H.Z. 1982. Determinación de la fenilalanina amonio-lyase en extractos de hojas de cuatro variedades de café y en otros tejidos vegetales. Tese de Graduação em Química Colômbia, Universidade de Bogotá.
9. DARVILL, A.G.; ALBERSHILIN, P. 1984. Phytoalexins and their elicitors. A defense against microbial infection in plants. Annual Review of Plant Physiology 35:243-275.
10. DRAETTA, I.S.; LIMA, E.E. 1976. Isolamento e caracterização das polifenoloxidasas do café. Coletânea do Inst. de Tecnol. Alimentos (Campinas) 7:13-28.
11. EGGER, K. 1969. Plant phenol derivatives. In Thin Layer Chromatography. Ed. by E.S. Stahl. New York, Springer-Verlag, p. 687-706.
12. ESKES, A.B. 1982. The use of leaf disc inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Netherlands Journal of Plant Pathology 88(4):127-141.
13. ESKES, A.B.; TOMA-BRAGHINI, M. 1981. Assessment methods for resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). Plant Protection Bull. (FAO) 29:56-66.
14. FLOR, H.H. 1956. The complementary genetic system in flax rust. Advances in Genetics 8:29-59.
15. FUMIKO ITO, M.; SOAVE, J. PARADELA F., O.; RIBEIRO, I.J.A. 1978. Efeitos do substrato água sobre a germinação de uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Summa Phytopatologica 4:83-88.
16. GOODMAN, R.N.; KYRALY, Z.; ZAILLIN, M. 1967. Phenol metabolism. In Biochemistry and Physiology of Infectious Plant Disease, D. Van Nostrand, Inc. p. 187-231.
17. HARBORNE, J.B. 1973. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. Ed. by J.B. Harborne, London, Chapman and Hall. p. 278.
18. JOHNSON, L.B. 1978. Induced resistance to fungal diseases with special reference to yellow rust of wheat. Ann. Appl. Biology 89(1):107-110.
19. JOHNSON, L.B.; LEE, R.F. 1978. Peroxidase changes in wheat isolines with compatible and incompatible leaf rust infections. Physiological Plant Pathology 13:173-181.
20. KAR, M. e MISHRA, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology 57:315-319.
21. KOSUGE, T. 1969. The role of phenolics in the host response infection. Annual Review of Phytopathology 7:195-222.
22. KUC, J. 1966. Resistance of plants to infectious agents. Annual Review of Microbiology 20:337-370.
23. KUC, J. 1982. Induced immunity to plant disease. Bioscience 32(11):854-860.
24. KUC, J. 1985. Resistência sistêmica para moléstias de plantas e fitointerferons. São eles compatíveis? Fitopatologia Brasileira 10(1):15-40.
25. LOPES, C.R.; MONACO, L.C. 1977. Estudos de quimiotaxonomia em cultivares de *Coffea arabica* L. Turrialba 27(1):55-61.
26. MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; LEVY, F.A. 1984. Contagem do número de estomatos para identificação do efeito da colchicina em cafeeiros. In Congr. Bras. Pesquisas Cafeeiras (II). Resumos p. 193-194.
27. MAYER, A.M.; HAREL, E. 1979. Polyphenoloxidases in plants. Phytochemistry 18:193-215.
28. MEDEIROS, E.F.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1978. Produção de substâncias do tipo fitoalexinas em folhas de *Coffea arabica* L. inoculadas com ferrugens não patogênicas. Garcia de Orta 9(1-2):15-18.
29. MORAES, W.B.C.; MARTINS, E.M.F.; BERETTA, J.G. 1981. Studies on induced protection on coffee plants to *Hemileia vastatrix*. III. Chemical analysis of the inducer. Colloque International sur la Protection de Cultures Tropicales, Abstracts p. 58.

30. MORAES, W.B.C.; MARTINS, E.M.F.; MUSUMECI, M.R.; BERETTA, M.J.G. 1976. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. *Summa Phytopathologica* 2:39-43.
31. MUSUMECI, M.R.; MORAES, W.B.C.; STAPLES, R.C. 1973. Evidência de um autoinibidor de germinação nos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *O Biológico* 39(7):171-173.
32. NACHACCHE, V.M. 1983. Alterações bioquímicas em folhas de *Coffea arabica* resistentes e suscetíveis à infecção por *Hemileia vastatrix* (Ferrugem do café). Tese de Doutorado Escola Paulista de Medicina, Depto. de Bioquímica.
33. NORONHA-WAGNER, M.; BETTENCOURT, A.J. 1967. Genetic study of the resistance to leaf rust. I. Identification and behavior of four factors conditioning disease reaction in *Coffea arabica* L. to 12 physiologic races of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Canadian Journal of Botany* 45:2021-2031.
34. PIERPOINT, W.S. 1969. O-quinones formed in plant extracts. Their reactions with aminoacids and peptides. *Biochemical Journal* 112:609-616.
35. RIBEREAU-GAYON, P. 1972. Plant Phenolics. Edinburg, Oliver and Boyd, p. 254.
36. RODRIGUES JUNIOR, C.J.; BETTENCOURT, A.J.; RIJO, L. 1975. Race of pathogens and resistance to coffee leaf rust. *Annual Review of Phytopathology* 13:49-70.
37. ROUX, D.G.; MAIHS, A.E. 1960. Selective spray reagent for identification and stimation of flavonoid compounds associated with condensed tannins. *Journal of Chromatography* 4:65-74.
38. SEIKEL, M.K. 1962. Chromatography methods of separation, isolation and identification of flavonoid compounds. In *Chemistry of Flavonoid Compounds*. Ed. by T.A. Geissman, New York, Mac Millan. p. 34-69.
39. SEQUEIRA, L. 1983. Mechanisms of induced resistance in plants. *Annual Review of Microbiology* 37:51-79.
40. SIEVERS, S.; ABLANQUE, E.; BAUTISTA, E.; CHAPARRO, F.; GUTIERREZ, J.; HAVERKAMP, J.; MORENO, E.; PEÑA, M. DE POSADA, E.; ROJAS, M.A.L.; SPETIEL, D.; ZAMUDIO, V.; QUIJANO-RICO, M. 1980. Relationship between genetics and chemistry in the system *Coffea* spp/ *Hemileia vastatrix*. IX Colloque Ass. Scienc. Int. du Café (ASIC). London. p. 671-680.
41. SWAIN, T.; HILLS, W.E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science Food and Agriculture* 10:63-68.
42. TOUZÉ, A.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.T. 1982. Defence mechanisms of plants against varietal non-specific pathogens. In *Active Defence Mechanisms in Plants*. Ed. by R.K.S. Wood. London. p. 103-117.
43. VANCE, C.P.; SHERWOOD, R.I. 1977. Lignified papilla formation as a mechanism for protection in reed canarygrass. *Physiological Plant Pathology* 10:247-256.
44. DE WITT, P.J.M. 1983. Physiological studies on cultivar specific resistance of tomato plants to *Cladosporium fulvum*. Doctoral Thesis Wageningen, Netherlands. 124 p.
45. YAMAMOTO, H.; HOKIN, H.; TANI, T. 1978. Peroxidase and polyphenoloxidase in relation to the crown rust resistance of oat leaves. *Phytopathology* Z. 91:191-202.
46. ZUCKER, M. 1972. Light and enzymes. *Annual Review of Plant Physiology* 23:133.

Empleo de Bacterias Antagonistas en el Combate de la Enfermedad Ojo de Gallo del Cafeto Causada por *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc¹

F. Mora*, C. Ramirez**, E. Vargas***, T. Rodriguez****

ABSTRACT

Fifty-eight leaf bacterial isolates were obtained from coffee trees (*Coffea arabica*) planted in areas where American coffee leaf spot is endemic, namely, Turrialba, Montes de Oca and Los Santos, Costa Rica. Antagonism against the fungus was tested by inoculating bacterial isolates on healthy leaves of coffee cv. 'Arabica' that were subsequently inoculated with propagules of *M. citricolor* and on diseased leaves that showed typical symptoms and bore galls of the fungus. The criteria for antagonism were: an inhibition of disease development, and the prevention or destruction of propagule formation on the lesions. With this in mind, two antagonistic isolates were obtained from Turrialba, four from Montes de Oca and three from Los Santos. For microscopic studies, one of the most antagonistic bacterium (isolate No. 5) was utilized. Galls of the fungus, as observed with the naked eye and under the stereomicroscope, were destroyed in about 2-3 days upon inoculation with a suspension of the antagonistic bacteria. The profound alteration of the fungal tissue was confirmed under the scanning electron microscope. This change was also associated with the presence of numerous bacteria on the surface of the galls. The ultrastructural changes suggested a maceration of the fungal hyphae by bacterial hydrolytic exoenzymes possibly involved in the utilization of the fungal biomass by the bacteria. The antagonistic bacterial isolate grew well in peat; furthermore, bacterial suspensions obtained from this carrier and sprayed on leaves prevented the development of the disease.

COMPENDIO

Se aislaron 58 cepas bacterianas de hojas de plantas de café (*Coffea arabica*) procedentes de las zonas cafetaleras de Turrialba, Montes de Oca y Los Santos, Costa Rica. Se evaluó su antagonismo en cámara húmeda inoculándolas sobre hojas de cafeto sanas que luego se inocularon con propágulos de *M. citricolor* y sobre hojas con lesiones típicas de la enfermedad y con gemas del hongo en la superficie. El criterio de antagonismo, en el primer caso, fue evitar el desarrollo de la enfermedad y en el segundo, impedir la producción de propágulos sobre las lesiones así como la destrucción de los ya formados sobre las mismas. De esta manera, se aislaron dos cepas antagonistas de la zona de Turrialba, cuatro de Montes de Oca y tres de los Santos. Para el estudio final y los estudios de microscopía se escogió la cepa más antagonista. Observaciones al microscopio estereoscópico mostraron una maceración muy rápida de las gemas, lo cual fue confirmado con observaciones al microscopio electrónico de barrido, las cuales, además, mostraron la presencia de abundantes bacterias sobre las estructuras reproductoras del hongo. Los cambios estructurales del mismo sugieren el maceramiento por exoenzimas bacterianas con aparente provecho para las mismas. La bacteria antagonista se reprodujo en el medio acarreador de turba y las suspensiones de bacterias preparadas a partir del mismo y rociadas sobre la superficie de hojas inoculadas con el hongo, impidieron el desarrollo de la enfermedad.

INTRODUCCION

La enfermedad conocida como ojo de gallo, causada por el hongo *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc, ataca las hojas y frutos del cafeto y puede reducir la producción hasta en un 50%.

Este basidiomiceto rara vez produce en la naturaleza el estado perfecto (6). Durante la época lluviosa se pueden apreciar a simple vista las "gemas" o "cabecitas", estructuras asexuales del hongo, de color amarillo salmón y 0.5 mm en diámetro, sobre las lesiones producidas en hojas y frutos. Estos propágulos, que constituyen el inóculo primario, mantienen la enfermedad en el campo (5, 6). Las cabecitas adheridas al tejido enfermo por el pedicelo cuando están secas, se

¹ Recibido para publicación el 8 de agosto 1989
Este trabajo fue financiado parcialmente por el IDRC del Canadá.

* Ingeniera Agrónoma, Centro de Investigaciones Agronómicas; Universidad de Costa Rica, San Pedro, Costa Rica.

** Profesor Investigador, Microbiología de Suelos, Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales, CATIE, Turrialba 7170, Costa Rica

Catedrático, Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica, San Pedro, Costa Rica.

Instructora Licenciada, Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San Pedro, Costa Rica.

desprenden con el agua; mediante el salpique se transportan a las hojas vecinas. Sobre el tejido sano y si hay agua libre, la cabecita inicia la infección del tejido foliar. Las gemas se pueden adherir a diversos animales (6), lo cual favorece su diseminación a largas distancias. El hongo sobrevive en las lesiones durante la época seca y se activa con los primeros aguaceros, fructifica y perpetúa la enfermedad dentro de la plantación. El hongo infecta hojas y frutos donde forma manchas circulares, bien definidas de 0.5 a 1 cm de diámetro. La enfermedad aparece en zonas de altura media y de alta humedad o en zonas más bajas, cuando hay abundantes lluvias, neblinas y temperaturas bajas. El hongo eventualmente causa la caída de las hojas y los frutos (6).

Esta enfermedad, de combate obligado en las plantaciones bien manejadas, se controla con fungicidas de alta toxicidad de uso restringido (13). De ahí la importancia de buscar alternativas efectivas de control, para reducir la producción del inóculo y la infección del hongo, como el combate biológico, objetivos alcanzables y de gran potencial con base en antecedentes encontrados en la literatura científica (1, 2, 7, 9). El presente trabajo explora la posibilidad de utilizar bacterias antagonistas aisladas de distintas localidades de Costa Rica contra la enfermedad "Ojo de Gallo".

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento de las bacterias. Se recolectaron hojas de café al inicio de la estación lluviosa (Mayo, 1976), en tres sitios de Costa Rica en donde la enfermedad es endémica: cerca de la ciudad de Turrialba, cantón del mismo nombre, provincia de Cartago; Sabanilla de Montes de Oca, cantón de San Pedro, provincia de San José y la zona de Los Santos, cantón de Acosta, provincia de San José. El mismo está situado a 634 msnm, tiene una temperatura media anual de 20.8°C, humedad relativa de 88% y una precipitación media mensual, para mayo, de 285 mm. Según la clasificación de zonas de vida elaborada por de Tossi (12), el primer sitio pertenece al bosque tropical muy húmedo. El segundo sitio está ubicado a 1 035 msnm, temperatura media de 18.3°C, humedad relativa media anual de 80% y precipitación media mensual de 52 mm, clasificada como perteneciente al bosque subtropical húmedo. El último sitio está localizado a 1 429 msnm, no se poseen datos meteorológicos y pertenece al bosque muy húmedo montañoso bajo.

Las hojas colectadas mostraron síntomas de ojo de gallo y en el laboratorio se procesaron como sigue: con un sacabocados esteril de 1 cm de diámetro se obtuvieron 10 discos por hoja (10 hojas por sitio) que

tenían tanto tejido enfermo como sano. Los discos se colocaron en un erlenmeyer de 600 ml con 100 ml de solución nutritiva diluida 1:10 (K_2PO_4 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, NaCl 0.1 g, manitol 10 g, extracto de levadura 2 g y agua destilada 1 litro) se agitó mecánicamente por 2 min. con perlas de vidrio de 0.25 cm de diámetro, se hicieron diluciones decimales en el mismo medio hasta $1:10^{-10}$. Luego se tomó 0.1 ml de cada una de las diluciones y se sembraron en platos Petri con agar nutritivo (extracto de carne 3 g, peptona 5 g, agar 18 g y agua destilada 1 litro). Los platos se incubaron a temperatura ambiente por 4 días. Cada día se hicieron observaciones para constatar la aparición de colonias las que se sembraban de inmediato por rayado, en el mismo medio, con el propósito de mejorar su pureza antes de pasarlas a tubos inclinados con agar nutritivo (AN) para su mantenimiento.

Prueba de antagonismo. Se colectaron hojas de café de mediana edad y plagiótropicas, de cafetales cv "Arabica" situados en los alrededores de la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, en Sabanilla de Montes de Oca. Las hojas se inocularon con la bacteria y el hongo en la siguiente forma: a partir del crecimiento superficial bacteriano de 48 h, en tubos AN inclinado, se preparó una suspensión bacteriana de aproximadamente 1×10^9 ml⁻¹ en solución salina tamporada (KH_2PO_4 0.43 g, Na_2HPO_4 1.48 g, NaCl 7.2 g y H_2O destilada 1 l), la cual se roció hasta el punto de escurrimiento sobre las hojas, 48 h antes de la inoculación con el hongo. La inoculación se realizó, con ayuda de una aguja esteril, se hicieron 10 grupos de inoculación, consistentes en 5 perforaciones puntuales a ambos lados de la vena central de la hoja. Luego, se colocaron, con la ayuda de un pincel, 10 cabecitas del hongo por sitio de inoculación. Las hojas se rociaron con agua destilada con el aspersor de *DeVilbiss*, procedimiento que se repitió cada 2 días, para mantener la humedad sobre las hojas. En los tratamientos testigo, este procedimiento de inoculación del hongo aseguró el 100% de infección. Las hojas se incubaron por 8 días en cámara húmeda y se hicieron observaciones diarias. Además, se trajeron hojas infectadas del campo que presentaban lesiones del hongo y gemas. Las bacterias se rociaron sobre las hojas, como ya fue descrito. En este caso, también se utilizó cámara húmeda y 5 hojas por aislamiento bacteriano. La cámara húmeda consistió en una armazón de alambre maleable, en forma de caja rectangular, de 45 x 32 x 13 cm. Dicha armazón fue colocada dentro de una bolsa plástica transparente; en el fondo, se colocó una lámina de espuma de poliuretano de 1.5 cm de espesor de longitud y anchura igual a la armazón. Cuando las hojas estuvieron dentro de la bolsa plástica, se cerró con una banda de caucho. En todos los casos, el número de repeticiones fue de 5 hojas; la

unidad experimental fue la hoja, así, el número total de lesiones fue de 50. Además de los tratamientos con las bacterias en estudio, se incluyeron dos testigos: el absoluto (hojas rociadas con solo agua) y el relativo (hojas inoculadas solo con el hongo). En este estudio se consideraron únicamente como antagonistas aquellas bacterias que inhibieron totalmente el desarrollo de las lesiones y que, además, maceraron las gemas del hongo tanto en las hojas inoculadas como las infectadas traídas del campo. En este último caso, se impidió también la formación de nuevos propágulos.

Procesamiento y observación de las muestras. Las hojas se inocularon con una suspensión bacteriana de un aislamiento antagonista y con el hongo, en la manera ya descrita. Las hojas se muestrearon a los 3 días, cuando los propágulos del hongo mostraban un frasco deterioro de su estructura. La preparación de las muestras se hizo de acuerdo con los procedimientos descritos por Parson *et al.* (10), Baum *et al.* (4) y Heslop-Harrison (8). Las hojas se fijaron en glutaraldehído al 4% y posteriormente se colocaron en tetróxido de osmio y luego se deshidrataron en una serie ascendente de alcohol etílico. Las muestras deshidratadas se llevaron a punto de secado crítico en un

deseCADador Hitachi HCP-2 y luego se cubrieron con una capa de oro durante 3 min. en un cobertor iónico Eiko 18-3. Las observaciones se hicieron en un microscopio electrónico de rastreo (MER) Hitachi modelo S-570 y se tomaron las fotografías empleando película Verichrome Pan, Kodak VP-120.

Efecto de los aislamientos bacterianos sobre los propágulos del hongo en lesiones. Para estudiar este efecto se colectaron hojas infectadas de la zona de Turrialba, en las cuales había lesiones bien desarrolladas y algunas de las cuales, al momento de la colecta, presentaban las gemas típicas del hongo. Al inicio del experimento se hizo un recuento del número total de lesiones por hoja, el número de cabecitas y el número total de cabecitas y al final del periodo de incubación solo se contó el número total de cabecitas. También, se utilizaron 5 hojas por tratamiento que incluyó un testigo sin bacteria, y las bacterias bajo investigación. Las hojas se rociaron con las bacterias en la manera ya descrita y se colocaron en cámaras húmedas. Se hizo un recuento de las cabecitas a los 2, 4, y 6 días después de rociadas las hojas. Luego del cuarto recuento de cabecitas, se eliminaron las existentes con un pincel y se colocaron de nuevo las hojas en cámaras húmedas, a los 6 días se hizo un recuento para determi-

Cuadro 1. Efecto de diferentes aislamientos bacterianos antagonistas sobre la infección del hongo *Mycena citricolor* en hojas de café (*Coffea arabica*).

Procedencia	Número de aislamiento	Número total de lesiones ¹	Días después de la inoculación								
			2			4			6		
			CAMBIOS EN LAS GEMAS ²								
Deshidratación	Descoloración	Maceración	Deshidratación	Descoloración	Maceración	Deshidratación	Descoloración	Maceración			
Turrialba	1	1/50		+		++	++			+	
	5	1/50	+	+		++	++			+	
Montes de Oca	2	0/50	+							+	
	3	9/50	+	+		++	++			+	
	4	2/50	+	+		++	++			+	
	6	2/50	+	+						+	
Los Santos	8	1/50	+	+						+	
	0	1/50	+	+		++	++			+	
	10	0/50		+		++	++			+	
Testigo inoculado ³		50								Aparición de lesiones	

1 Número de lesiones observadas / Número de lesiones en testigo inoculado con el hongo.

2 Deshidratación – Pérdida de la turgencia de la gema
Descoloración – Cambio drástico de amarillo limón a marrón oscuro
Maceración – Gema no era visible al ojo desnudo.

3 Número total de hojas por tratamiento. 5, 10 lesiones por hoja inoculada total de 50 lesiones causadas por el hongo.

nar si las bacterias remanentes sobre la lesión eran capaces de impedir la formación de nuevas gemas. Los tratamientos empleados en esta fase fueron: 9 cepas antagonistas y un testigo que consistió en hojas con cabecitas que no fueron tratadas con bacterias. Se emplearon 5 repeticiones por tratamiento.

Preparación de inoculante en turba e inoculación de hojas infectadas. Para estudiar la posibilidad de utilizar el suelo de turba como un portador de las bacterias antagonistas, de la misma manera que se hace con *Rhizobium*, se preparó un inoculante como sigue: se cultivó un aislamiento bacteriano antagonístico (la número 5 aislada de la zona de Turrialba) en tubos de agar nutritivo que se incubaron a temperatura ambiente por 48 h. Seguidamente, se suspendieron las bacterias en solución salina y se inoculó en bolsa plástica con turba esteril y neutralizada con carbonato de calcio a razón de 7.5% en una proporción de 5 ml de caldo por 10 g de turba. El recuento bacteriano se hizo mediante dilución y siembra en platos de Petri con AN. Para determinar la efectividad de este preparado, a los 3 días de inoculada la turba se agregó solución salina tamponada, a razón de 10:1 y la suspensión resultante se aplicó a las hojas infectadas. Se utilizaron 5 hojas por tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento de las cepas. A partir de las hojas de café, se obtuvieron 34 cepas bacterianas de la zona de Turrialba, 14 de Sabanilla de Montes de Oca y 10 de Los Santos. El número de bacterias en el tejido foliar fue alto, pues se obtuvieron colonias aisladas a partir

de las diluciones 10^{-6} , lo cual sugiere que estas son de importancia en la comunidad microbiana de la filósfera. Se muestreó tejido con síntomas de la enfermedad para lograr el aislamiento de bacterias antagonistas (parásitas) que pudieran estar asociadas al micelio del patógeno.

Prueba de antagonismo. Se probó el antagonismo de los aislamientos bacterianos contra el hongo sobre las hojas de café y no *in vitro*, buscando condiciones similares a las naturales, pues a menudo, el antagonismo encontrado bajo las condiciones un tanto artificiales de un medio de cultivo no correlaciona con el antagonismo *in vivo* (11).

En las hojas inoculadas con el hongo mostraron un 100% de infección, ya que todos los puntos de inoculación en todas las hojas desarrollaron lesiones, bajo las condiciones de experimentación (Cuadro 1). Así, las condiciones de incubación en la cámara húmeda fueron apropiadas para el desarrollo de la enfermedad.

Para seleccionar a las bacterias antagonistas se escogieron aquellas que inhibían drásticamente el desarrollo de la enfermedad. De esta manera, del total de cepas evaluadas 9 se comportaron como antagonistas (Cuadro 1). Se aislaron bacterias antagonistas de las muestras de todas las zonas cafetaleras estudiadas. Las bacterias rociadas sobre las hojas inhibieron la infección por el hongo y el desarrollo de la enfermedad y alteraron drásticamente las gemas del hongo que se

Cuadro 2. Efecto de diferentes aislamientos bacterianos antagonistas sobre la producción de gemas del hongo *Mycena citricolor* en hojas infectadas de café (*Coffea arabica*).

Procedencia	Número de aislamiento bacteriano	Días después de la inoculación ¹			
		0	2	4	6
		Número promedio de gemas por hoja ²			
Turrialba	1	14.4	3.6	1.2	1.2
	5	16.8	1.4	1.0	0.0
Montes de Oca	2	15.8	4.4	0.8	0.8
	3	14.6	1.4	0.8	0.6
	4	17.0	0.4	0.4	0.4
	6	16.8	2.8	3.8	4.4
Los Santos	8	13.6	0	0	0
	9	14.4	1.2	0.4	0
	10	14.6	0	0	0
Testigo sin bacteria		14.6	16.0	19.2	21

1 Se asperjó la suspensión bacteriana sobre las hojas al punto de escurrimiento con un número aproximado de 10^9 bacterias ml^{-1} .

2 Promedio de 5 hojas infectadas.

habían utilizado como fuente del inóculo. En el Cuadro 1 se presentan los cambios visuales que experimentaron los propágulos del hongo.

Dos días después de la inoculación, 7 de 9 cepas provocaron deshidratación severa y descoloración de las cabecitas del hongo. A los 4 días se habían acentuado los síntomas y en algunos casos, como en la cepa 2 y la 8, se había macerado totalmente el tejido del hongo pues visualmente no era posible distinguir la identidad de las gemas. A los 6 días, todas las bacterias antagonistas habían macerado el tejido del hongo hasta destruirlo. Estas observaciones sugirieron una acción parasítica directa de las bacterias sobre el hongo que en última instancia impidió el desarrollo de la enfermedad. Como hubo un efecto similar en los aislamientos provenientes de zonas diferentes, los resultados sugieren la existencia de una flora bacteriana que coexiste con el hongo en las zonas endémicas estudiadas y que posiblemente ejerza, bajo condiciones naturales, un efecto antagónico al hongo el cual parece ser insuficiente pues no controla la enfermedad.

La metodología de aislamiento, que incluyó tanto tejido sano como enfermo (con micelio del hongo), parece haber asegurado el aislamiento de estas bacterias de todos los sitios.

Las observaciones realizadas al MER arrojaron luz sobre la naturaleza de la acción de las bacterias sobre el hongo (Fig 1a, b). Además de los cambios visuales, la pérdida de turgencia y descoloración, se observó también el desarrollo masivo de las bacterias sobre las estructuras fúngicas, las que mostraron una desorganización drástica, sugiriendo la utilización de la biomasa del hongo por las mismas. Las bacterias produjeron posiblemente enzimas hidrolíticas que maceraron el tejido del hongo previo a su utilización; dicha maceración causó eventualmente los cambios ultraestructurales observados.

En el tratamiento testigo inoculado con el hongo, la enfermedad se desarrolló normalmente. Al tercer día después de la inoculación, se observó una área necrótica color café oscuro alrededor de las cabecitas, que mantenían su turgor y color inicial. Además, se pudo observar el desarrollo de micelio alrededor de las mismas. Siete días después de la inoculación, las lesiones del hongo estaban bien desarrolladas sobre los puntos de inoculación en la hoja.

Efecto de las bacterias sobre las gemas y su producción en hojas con lesiones de *Mycena citricolor*
Una característica deseable en un antagonista es que evite la infección del patógeno y el desarrollo de la enfermedad pero también que disminuya la producción de nuevos propágulos si se aplica sobre tejidos infectados. Para evaluar el efecto de las bacterias antagonistas sobre la producción de gemas de *M. citricolor* se rociaron las mismas sobre lesiones del hongo en



Fig 1. a) Gema de *Mycena citricolor* Bert & Curt Sacc, hongo causa del ojo de gallo del cafeto (*Coffea arabica* L.), tres días después de haber sido inoculada sobre hojas de cafeto con bacterias antagonistas. Nótese el gran número de bacterias sobre el estroma indiferenciado del hongo (MER 1 200 x) b) Acercamiento que muestra numerosas bacterias bacilares sobre un estroma macerado e indiferenciado de hongo. Nótese estructuras de adherencia (glicocalix) de las bacterias (MER 12 000 x)

hojas infectadas naturalmente. Los resultados de tal experimento se presentan en el Cuadro 2. Se observó en las hojas infectadas y no rociadas con las bacterias, el número de gemas aumentó de un promedio de 14.6 a 21 en un lapso de 6 días. Por otro lado todas las bacterias antagonistas ejercieron un efecto inmediato sobre las gemas ya producidas sobre las lesiones de las hojas a tal punto de disminuir, en un lapso de 2 días, el número de gemas de apariencia sana de un promedio de 15 a 4.4 en la bacteria menos antagonista (aislamiento 2 de Montes de Oca) y a 0 con los aislamientos 8 y 10 (de la zona de Los Santos). El efecto no se circunscribió a las gemas ya existentes sino también se evitó la producción de nuevos propágulos del hongo, lo cual refuerza el efecto antagonista de las células bacterianas remanentes sobre las lesiones. De rociar la bacteria en una plantación infectada se estarían eliminando no solamente los propágulos ya formados sino también la formación de nuevo inóculo. En el artículo adjunto se presenta información al respecto. Se es-

pera que, como resultado de la acción sobre las cabezitas existentes la población bacteriana, como lo evidencian las fotografías al MER haya aumentado y que este aumento quizás haya contribuido a evitar la salida de nuevos propágulos del hongo. Cabe mencionar que, bajo condiciones naturales, habría que determinar por cuanto tiempo las bacterias inoculadas sobre las lesiones son capaces de ejercer este efecto antagonista sobre hojas infectadas, pues Blakeman (3) menciona el posible decaimiento de la población bacteriana sobreviviente sobre las hojas como resultado de la competencia por substratos. Sería también de interés investigar el efecto de otros factores ambientales como la radiación, la humedad relativa y la temperatura sobre la sobrevivencia de las bacterias bajo condiciones de campo. De esta manera se podría conocer el efecto de sitio

Por otro lado, sería importante explorar el mecanismo de acción de las bacterias, los factores que afectan su fisiología y la estabilidad genética de esta característica. Además, se debería investigar el efecto de tratamientos coadyuvantes como protectores de la luz ultravioleta y substratos sobre la efectividad de las bacterias en el control de este patógeno. Esta característica haría a las bacterias candidatas potenciales para el combate biológico de esta enfermedad. Las bacterias se rociaron relativamente en gran cantidad (alta densidad de inóculo) y habría que investigar el número mínimo de bacterias capaz de evitar la infección y la producción de propágulos bajo condiciones de campo. Los resultados de tales investigaciones se informan en el texto adjunto

Preparación de inóculo de bacteria antagonista y su efecto sobre el desarrollo de gemas del hongo producidas sobre las lesiones en hojas de cafeto. Se utilizó turba procedente de la zona de Los Chiles de Upala, Costa Rica, previamente evaluada y seleccionada como material buen portador de *Rhizobium* en la preparación de inoculantes para leguminosas, como acarreador de las bacterias antagonistas. Después de 6 días el número de bacterias fue de $2 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$, número adecuado para un inoculante bacterial. Es decir, la turba aparentemente podría ser un acarreador adecuado de las bacterias para su aplicación a nivel de campo. Las preparaciones hechas con el aislamiento bacteriano no. 5 en este acarreador, tal como se describe en el presente trabajo, resultaron muy efectivas cuando se rociaron sobre hojas infectadas con el hongo, pues el 65% de las gemas mostraron cambios visuales drásticos después de 2 días de la inoculación; a los 4 días no había una sola cabezita sana sobre las hojas

Los resultados anteriormente descritos subrayan el potencial real del uso de bacterias antagonistas en el control biológico de esta enfermedad, pues no solo hubo un excelente control de la misma cuando se rociaron suspensiones de las bacterias obtenidas de cultivos sino también con este material acarreador, lo que habría la posibilidad de la reproducción y formulación de gran escala para, previas pruebas, su aplicación en el campo. El artículo adjunto evalúa, a nivel de campo la efectividad de tal estrategia.

LITERATURA CITADA

- ANDREWS, J.H. 1985. Strategies for selecting antagonistic microorganisms from the phylloplane. In Biological control on the phylloplane. Ed. by C.E. Windells; S.E. Lindow. Saint Paul, The American Phytopathological Society. p. 31-34.
- BAKER, C.J.; THOMAS, C.A.; SASSER, M.; MACFALL, J. 1983. Inhibitory effects of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73:1 148-1 152.
- BLAKEMAN, J.P. 1985. Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control on the phylloplane. In Biological control on the phylloplane. Ed. by C.E. Windells; S.E. Lindow. Saint Paul, The American Phytopathological Society p. 6-30.
- BAUM, B.R.; TULLOCH, A.P.; BAILEY, L.G. 1980. A survey of epicuticular waxes among genera of Triticeae. I. Ultrastructure of glumes and some leaves as observed with the scanning electron microscope. *Canadian Journal of Botany* 58:2 467-2 480.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. OFICINA DEL CAFE. 1978. Manual de recomendaciones para cultivar café. 3 ed. 68 p.
- GONZALEZ, L.C. 1974. Principales enfermedades de los cultivos en Costa Rica. San José, Universidad de Costa Rica. 150 p.
- HENIS, Y.; CHET, I. 1975. Microbiological control of plant pathogens. *Adv. Appl. Microbiol.* 19:85-111.
- HESLOP-HARRISON, Y. 1970. Scanning electron microscopy of fresh leaves of *Pinguicula*. *Science* 167:172-174.
- LINDOW, S.E.; ARNY, D.C.; UPPER, C.D. 1983. Biological control of frost injury: establishment and effects of an isolate of *Erwinia herbicola* antagonistic to ice nucleation active bacteria on corn in the field. *Phytopathology* 73:1 102-1 106.

- 10 PARSON, E.; BOLE, B.; HALL, D.J.; THOMAS, W.D.E. 1973. A comparative survey of techniques for preparing plant surfaces. *Journal of Microscopy* 101:59-75.
- 11 SCHROTH, M.N.; LOPER, J.E.; HILDEBRAND, D.C. 1983. Bacteria as biocontrol agents of plant disease. In current perspectives in microbial ecology. Ed. by M.J. Klug; C.A. Reddy. Washington, American Society for Microbiology. p. 362-369.
- 12 TOSSI, J.A. 1969. Mapa ecológico de la República de Costa Rica. San José, C.R.; Instituto Geográfico Nacional. Escala 1:750.000. Color.
- 13 VARGAS, E. 1984. Interacción del tratamiento biológico y químico en el combate de ojo de gallo (*Myce-
na citricolor*) en el café. *Agronomía Costarricense* 8:91-97.

Caracterización Morfológica del Nematodo Nodulador del Café *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). I. Hembras y Huevos¹

L. Flores*, R. López*

ABSTRACT

A morphological, morphometrical and allometrical study of 30 females and 30 eggs from each of four populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*, collected in different locations of Costa Rica, was carried out. In females, all quantitative characters were highly variable, as their coefficients of variability were greater than 10%. The female perineal pattern was considered the most reliable character for the precise identification of this important species. The presence of five nuclei in the glandular, basal portion of the esophagus is reported for the first time. In eggs, both length and diameter had low variability.

COMPENDIO

Se hizo un estudio morfológico, morfométrico y alométrico de 30 hembras y 30 huevos en cada una de cuatro poblaciones del nematodo nodulador del café, *Meloidogyne exigua*, provenientes de varias localidades de Costa Rica. En las hembras, todas las características cuantitativas tuvieron una alta variabilidad, dado que sus coeficientes de variación fueron superiores al 10%. El diseño perineal fue considerado como el carácter cualitativo más importante para la identificación precisa de esta importante especie. Por primera vez se informa sobre la presencia de cinco núcleos en la porción glandular basal del esófago de las hembras. En los huevos, la longitud y el diámetro tuvieron una baja variabilidad.

INTRODUCCION

La economía de Costa Rica se basa principalmente en la exportación de café (*Coffea arabica* L.); debido a ello, es necesario conocer los diferentes factores que puedan reducir su producción; el daño que causan los nematodos es uno de los problemas con que se enfrenta este cultivo. Son numerosas las especies de nematodos fitoparásitos que pueden

afectar al café; entre ellas, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, es la más comúnmente asociada al cultivo (12, 13, 17)

Uno de los aspectos más importantes en Fitoneematología es el conocimiento exhaustivo de la morfología de las especies con el fin de identificarlas en forma precisa y distinguir las de otras; con este conocimiento se logra una mayor efectividad en las tácticas de manejo, como la rotación de cultivos y el uso de cultivares resistentes, las cuales contribuyen a reducir el daño causado por nematodos (4, 14).

La literatura a nivel mundial referente a la descripción de caracteres morfológicos en *M. exigua* es poca; la descripción original y otros trabajos posteriores carecen, en su mayoría, de estudios estadísticos comple-

¹ Recibido para su publicación el 19 de diciembre de 1989. Parte de una tesis de grado presentada por el primer autor ante la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica.

* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Los autores desean agradecer la ayuda del Ing. Luis A. Salazar F. y de la Sra. Suria Sánchez.

tos que permitan tener un mejor criterio para reconocer su variabilidad y los límites de sus principales características. Debido a los anteriores hechos, se realizó un trabajo que tuvo como objetivo obtener, de cuatro poblaciones de *M. exigua* colectadas en diferentes localidades de Costa Rica, información que facilite la identificación de esta especie con base en la caracterización morfológica, con énfasis en ciertos aspectos estadísticos. En este artículo se presentan los datos obtenidos en el estudio de las hembras y de los huevos.

MATERIALES Y METODOS

Las poblaciones de *M. exigua* que fueron utilizadas en este trabajo provenían de las localidades de: 1) Naranjo, provincia de Alajuela; 2) La Isabel, Turrialba, provincia de Cartago; 3) Rivas, Pérez Zeledón, provincia de San José y 4) San Vito de Coto Brus, provincia de Puntarenas; estas poblaciones fueron identificadas como N, LI, R y SV, respectivamente, y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de café cv. 'Caturra' y de chile (*Capsicum annuum* L.) cv 'California Wonder'

Para el aislamiento de cada población se lavaron raíces con nódulos para eliminar el suelo adherido y luego disectadas para la obtención de huevos. Para obtener las hembras, las raíces agalladas fueron calentadas hasta ebullición en lactofenol puro durante 2-3 minutos y luego dejadas enfriar a temperatura ambiente; posteriormente, las hembras fueron disectadas de las agallas. Los huevos fueron montados en agua mientras que la porción anterior de las hembras fue montada en lactofenol puro; los diseños perineales de las hembras fueron preparados por el método descrito por Franklin (5) modificado por Taylor y Netscher (16), pero, sin teñir las raíces. En cada población, 30 especímenes fueron observados y medidos con la ayuda de un dispositivo calibrado, adaptado a un microscopio de luz; también, se prepararon dibujos de la porción anterior y el diseño perineal de las hembras con la ayuda de este dispositivo.

Se hizo un análisis estadístico de las diferentes características medidas o calculadas, el que incluyó el valor promedio, la desviación estándar, el error estándar del promedio, el coeficiente de variación (c.v.) en % y los límites de confiabilidad ($P = 0.95$) de cada una. Aquellos caracteres que tuvieron un c.v. $\leq 10\%$ fueron considerados estables para la identificación de *M. exigua*, según el criterio seguido por varios autores (8, 15). Además, se hizo un análisis de las características del diseño perineal de las hembras, de acuerdo con el método propuesto por Esser *et al.* (3).

RESULTADOS

Caracteres cuantitativos

En los Cuadros 1 a 4 se presentan las medidas y otros parámetros de las características evaluadas en cada población. En términos generales, se encontró que la mayoría de los caracteres morfológicos evaluados tuvieron una alta variación intraespecífica ya que el c.v. superó el 10%. Se encontró que en las poblaciones N, SV y R (Cuadros 2-4), la longitud de la válvula del metacarpus tuvo c.v. inferiores al 10%, no así en la población LI (Cuadro 1). El diámetro de la válvula del metacarpus tuvo c.v. mayores al 10% en las poblaciones LI y SV (Cuadros 3 y 4). En la población R la longitud de la abertura vulval, la distancia interfasmial y la proporción longitud/diámetro de la válvula del metacarpus tuvieron c.v. menores al 10% (Cuadro 2).

Con base en la coincidencia o no entre poblaciones de los límites de confiabilidad de cada característica, se encontró que la longitud del estilete, la longitud de la abertura vulval, la altura de nódulos y la proporción a fueron poco variables en las hembras de las poblaciones N, R y SV (Cuadros 1, 2 y 4). La longitud del cuerpo, el diámetro máximo del cuerpo, la longitud del metacarpus, el diámetro de nódulos, las distancias poro excretor—estoma y ano—vulva, el diámetro de la válvula del metacarpus y el porcentaje del poro excretor en las poblaciones R y SV, fueron similares entre sí (Cuadros 2 y 4), así como en las poblaciones N y LI (Cuadros 1 y 3). Las características de mayor variabilidad interpoblacional fueron: el diámetro del cuello a la mitad del metacarpus, las distancias interfasmial y mitad del metacarpus—estoma, el diámetro del metacarpus, la longitud de la válvula del metacarpus, el OGDE, el diámetro/altura de nódulos, la longitud/diámetro del metacarpus y la longitud/diámetro de la válvula del metacarpus.

El Cuadro 5 resume los promedios, errores estándar del promedio, desviación estándar, límites de confiabilidad ($P = 0.95$) y c.v. de las hembras y huevos de las cuatro poblaciones de *M. exigua*.

Por tener valores de c.v. inferiores al 10%, la longitud y el diámetro del huevo fueron considerados como caracteres estables en las cuatro poblaciones (Cuadros 1-4) mientras que la proporción longitud/diámetro del huevo presentó c.v. mayores al 10% en las poblaciones N, R y SV (Cuadros 1, 2 y 4).

Caracteres cualitativos

Las hembras son piriformes y tienen el cuello bien definido (Fig. 1); son blanquecinas en su mayoría y

Cuadro 1. Algunas características morfométricas y alométricas de hembras y huevos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de Naranja de Ajajuela.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Hembras					
Medidas (µm)					
Longitud total	466.9*	14.70	76.39	438.1-495.7	16.4
Diámetro máximo	265.8	7.81	42.76	250.5-281.1	16.1
Diámetro a mitad del metacarpus	58.7	1.91	10.46	55.0-62.4	17.8
Mitad metacarpus a estoma	72.1	1.94	10.65	68.3-75.9	14.8
Diámetro metacarpus	34.9	1.30	7.10	32.4-37.4	20.3
Longitud metacarpus	39.1	1.34	7.33	36.5-41.7	18.7
Diámetro válvula metacarpus	10.1	0.17	0.95	9.7-10.5	9.4
Longitud válvula metacarpus	11.0	0.19	1.06	10.6-11.4	9.6
Estilete	11.8	0.23	1.25	11.3-12.3	10.6
Altura de nódulos	1.8	0.04	0.22	1.7-1.9	12.2
Diámetro de nódulos	2.8	0.06	0.33	2.7-2.9	11.8
OGDE**	4.9	0.14	0.75	4.6-5.2	15.3
Poros excretor a estoma	31.5	1.48	8.11	28.6-34.4	25.7
Longitud abertura vulval	17.8	0.50	2.75	16.8-18.8	15.4
Ano a vulva	16.5	0.37	2.05	15.8-17.2	12.4
Distancia interfasmidial	19.1	0.45	2.49	18.2-20.0	13.0
Proporciones					
a	1.8*	0.06	0.31	1.7-1.9	17.2
Diámetro nódulos/altura	1.6	0.04	0.20	1.5-1.7	12.5
Longitud metacarpus/diámetro	1.1	0.03	0.28	1.0-1.2	16.4
Long. válvula metacarpus/diámetro	1.1	0.03	0.14	1.0-1.2	12.7
Porcentaje					
Poros excretor	7.0*	0.49	2.57	6.0-8.0	36.7
Medidas lineales en huevos (µm)					
Longitud	87.8	1.18	6.48	85.5-90.1	7.4
Diámetro	38.2	0.49	2.68	37.2-39.2	7.0
Proporción					
Longitud/diámetro	2.3	0.05	0.26	2.2-2.4	11.3

* Promedio de 27 observaciones. Los restantes promedios son de 30 observaciones.

** OGDE: Distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica

en unos pocos casos, de color negro. En todas las poblaciones se encontraron algunos especímenes con una protuberancia posterior. En cada población había de 10 a 20% de hembras aberrantes (región del cuello orientada hacia el lado ventral del cuerpo) (Fig. 1 E-H). La cutícula es anulada; las anulaciones se hacen más finas en el extremo anterior del cuello (Fig. 2). La región cefálica es fuerte y acentuada (Fig. 2C). El estilete es fino y generalmente recto (Fig. 3C); en algunos casos, el cono se presenta levemente curvado hacia el lado dorsal (Fig. 2B y 2D); la columna tiene un diámetro constante en toda su extensión; en algu-

nos especímenes se observó que el estilete tenía una pequeña deformación poco antes de los nódulos la cual consistía en un doblez de la columna (Fig. 2A y 2D). Los nódulos son pequeños, ovoides transversalmente. La extensión del vestíbulo fue observada claramente (Fig. 2). La posición del poro excretor es variable; el ducto excretor es evidente a su inicio pero no se observó exactamente en donde desemboca. El lumen del esófago es fuerte y evidente, desde el cilindrico procorpus hasta la válvula del metacarpus; posterior a esta estructura, se vuelve débil (Fig. 2B y 2D) o se hace indistinguible (Fig. 2A y 2C). El meta-

Cuadro 2. Algunas características morfométricas y alométricas de hembras y huevos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de Rivas de Pérez Zeledón.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Hembras					
Medidas (μm)					
Longitud total	368.2*	13.36	65.44	342.0–394.4	17.8
Diámetro máximo	203.9	7.08	38.78	190.0–217.8	19.0
Diámetro a mitad del metacarpus	44.0	1.52	8.33	41.0–47.0	18.9
Miudad a metacarpus a estoma	64.6	1.50	8.21	61.7–67.5	12.7
Diámetro metacarpus	26.1	1.19	6.53	23.8–28.4	25.0
Longitud metacarpus	31.4	0.94	5.14	29.6–33.2	16.4
Diámetro válvula metacarpus	9.3	0.16	0.87	9.0–9.6	9.4
Longitud válvula metacarpus	10.1	0.13	0.72	9.8–10.4	7.1
Estilete	12.1	0.25	1.38	11.6–12.6	11.4
Altura de nódulos	1.8	0.04	0.22	1.7–1.9	12.2
Diámetro de nódulos	2.6	0.05	0.30	2.5–2.7	11.5
OGDE**	4.8	0.14	0.78	4.5–5.1	16.3
Poros excretor a estoma	22.2	1.07	5.86	20.1–24.3	26.4
Longitud abertura vulval	18.1	0.33	1.81	17.5–18.7	10.0
Ano a vulva	14.2	0.26	1.45	13.7–14.7	10.2
Distancia interfasmial	21.0	0.37	2.00	20.3–21.7	9.5
Proporciones					
a	1.8*	0.06	0.28	1.7–1.9	15.5
Diámetro nódulos/altura	1.4	0.04	0.22	1.3–1.5	15.7
Longitud metacarpus/diámetro	1.3	0.04	0.20	1.2–1.4	15.4
Long. válvula metacarpus/diámetro	1.1	0.02	0.10	1.06–1.14	9.1
Porcentaje					
Poros excretor	6.2*	0.38	1.84	5.4–7.0	29.7
Medidas lineales en huevos (μm)					
Longitud	89.0	1.11	6.10	86.8–91.2	6.9
Diámetro	41.4	0.62	3.40	40.2–42.6	8.2
Proporción Longitud/diámetro	2.2	0.04	0.24	2.1–2.3	10.9

* Promedio de 24 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

corpus es fuerte y redondeado (Fig. 2), con aparato valvular ovalado y fuerte, que se localiza en el centro del metacarpus o que está desplazado longitudinalmente (Fig. 2C y D). Los lóbulos esofágicos son difíciles de delimitar, al igual que el número de núcleos; sin embargo, se observó un máximo de tres lóbulos esofágicos y cinco núcleos (Fig. 2A)

El diseño perineal es redondeado (Fig. 3); el arco dorsal es bajo, redondeado; la zona del perineo tiene, en la mayoría de los diseños, una estria; la región de la vulva carece de estrias. En algunos casos se presentaron diseños con orientación hacia uno de los lados. La zona 1 está compuesta por pocas estrias; la zona 2 tiene estrias lisas y distanciadas entre sí, continuas en su mayoría pero unas pocas interrumpidas; la zona 3

tiene estrias levemente onduladas e interrumpidas que aparentan campos laterales; en esta área, hay una menor separación entre estrias; en la zona 4 las estrias son lisas, en pocas ocasiones onduladas, distanciadas entre sí y más interrumpidas que las estrias de la zona 2

DISCUSION

Los valores promedio de la longitud del estilete de las hembras, en las cuatro poblaciones, fueron superiores a lo anotado por Lordello y Zamith (13), pero, inferiores a lo informado por otros autores (3, 9, 11). La altura de los nódulos fue similar a lo encontrado por Jepson (9), con excepción de la población L.I la cual tuvo un promedio mayor; el diámetro de

Cuadro 3. Algunas características morfométricas y alométricas de hembras y huevos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de La Isabel de Turrialba.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Hembras					
Medidas (μm)					
Longitud total	462.3**	14.68	74.84	433.5-491.1	16.2
Diámetro máximo	298.1	13.24	72.50	272.1-324.1	24.3
Diámetro a mitad del metacarpus	44.2	1.80	9.87	40.7- 47.7	22.3
Mitad metacarpus a estoma	79.7	3.00	16.38	73.8- 85.6	20.6
Diámetro metacarpus	28.4	1.27	6.98	25.9- 30.9	24.6
Longitud metacarpus	38.3	1.65	9.05	35.1- 41.5	23.6
Diámetro válvula metacarpus	10.2	0.27	1.50	9.7- 10.7	14.7
Longitud válvula metacarpus	11.9	0.24	1.34	11.4- 12.4	11.3
Estilete	13.6	0.26	1.41	13.1- 14.1	10.4
Altura de nódulos	2.5	0.12	0.67	2.3- 2.7	26.8
Diámetro de nódulos	2.8	0.10	0.53	2.6- 3.0	18.9
OGDE****	4.6	0.14	0.74	4.3- 4.9	16.1
Poros excretor a estoma	34.3***	1.29	6.92	31.8- 36.8	20.2
Longitud abertura vulval	23.1	0.62	3.37	21.9- 24.3	14.6
Ano a vulva	16.4	0.67	3.65	15.1- 17.7	22.3
Distancia interfasmidial	23.9	0.70	3.81	22.5- 25.3	15.9
Proporciones					
a	1.6**	0.07	0.35	1.5- 1.7	21.9
Diámetro nódulos/altura	1.2	0.06	0.33	1.1- 1.3	27.5
Longitud metacarpus/diámetro	1.4	0.06	0.31	1.3- 1.5	22.1
Long. válvula metacarpus/diám.	1.2	0.03	0.16	1.1- 1.3	13.3
Porcentaje					
Poros excretor	7.4*	0.39	1.97	6.6- 8.2	26.6
Medidas lineales en huevos (μm)					
Longitud	85.8	0.83	4.54	84.2- 87.4	5.3
Diámetro	35.7	0.30	1.67	35.1- 36.3	4.7
Proporción					
Longitud/diámetro	2.4	0.04	0.21	2.3- 2.5	8.8

* Promedio de 25 observaciones.

** Promedio de 26 observaciones.

*** Promedio de 29 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

**** OGDE: Distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica

los nódulos y la proporción diámetro/altura de nódulos fue menor en todas las poblaciones que lo anotado por la primera autora del presente trabajo. Rasgos morfológicos cualitativos del estilete, como la curvatura dorsal del cono, al igual que la forma de los nódulos, concuerdan con las descripciones de varios autores (1, 9, 13, 18).

Los valores promedio del OGDE concuerdan con los de Lordello y Zamith (13); las poblaciones N y R tuvieron valores similares a una de las dos poblaciones evaluadas por López (11)

La longitud del cuerpo en las poblaciones LI y N tuvo valores inferiores a lo informado por López (11), pero, similares a los de otros autores (13). El diámetro máximo del cuerpo tuvo valores menores a los encontrados por varios autores (11, 13), con la excepción de la población LI la cual concordó con los valores informados por Lordello y Zamith (13). La presencia de algunas hembras con la región del cuello orientada al lado ventral y con protuberancia posterior, concuerda con lo observado previamente (11, 12).

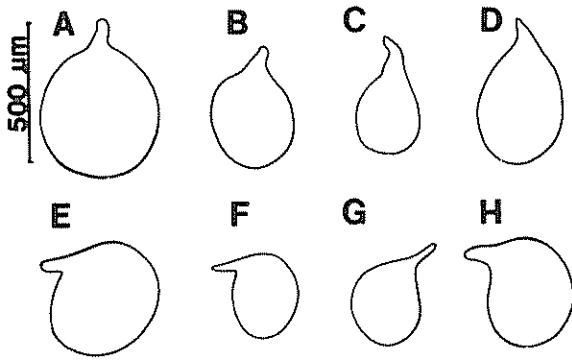


Fig. 1 Formas del cuerpo de hembras de *Meloidogyne exigua*. A-D: hembras normales; E-H: hembras aberrantes (A, E: La Isabel de Turrialba; B, F: San Vito de Coto Brus; C, G: Rivas de Pérez Zeledón; D, H: Naranjo)

Los valores promedio de la longitud y diámetro del metacarpus en la población R y SV fueron similares a lo anotado por Lordello y Zamith (13), mientras que en las otras poblaciones los valores fueron más altos. Las dos primeras poblaciones presentaron valores promedio menores a los informados por López (11) en la distancia estoma – poro excretor

Los trabajos previos con *M. exigua* no hacen referencia al número de lóbulos esofágicos y núcleos en las hembras; sin embargo, algunos autores (7) han encontrado que hembras de otras especies del género presentan cinco lóbulos y cinco núcleos esofágicos; los hallazgos del presente trabajo concuerdan con los anteriores autores en cuanto al número de núcleos, no así en el número de lóbulos esofágicos

La longitud de la abertura vulvar y la distancia del ano a la vulva difieren de los presentados por López (11); en la primera variable, la población LI tuvo un valor promedio mayor y las restantes poblaciones tuvieron valores inferiores; en la segunda, los valores fueron inferiores a lo informado por este autor

Los valores de la distancia interfasmial encontrados en este trabajo fueron menores a lo anotado por López (11); solamente la población LI tuvo valores similares.

La forma general y las características de las estrias en el diseño perineal concuerdan con descripciones anteriores (1, 3, 10, 11, 13, 18) El trabajo de López (11) difiere sólo en el número de estrias en el perineo; este autor menciona tres estrias, mientras que en el presente trabajo sólo fue observada una estria. La concordancia antes mencionada confirma que el diseño perineal puede ser considerado como el carácter de mayor importancia en las hembras para la identificación de la especie (2, 6).

La longitud del huevo, en todas las poblaciones, concuerda con los valores dados por varios autores (1, 13), no así los valores promedio del diámetro en las poblaciones LI y SV, los cuales fueron menores a lo informado por los anteriores autores.

Los hallazgos de esta investigación, en particular, los basados en los valores del c.v. y en la concordancia o no de los límites de confiabilidad, permiten concluir que, en el caso de las hembras, sólo la forma de los nódulos del estilete y en particular, la forma y otras características del diseño perineal, son suficientemente estables como para ser considerados útiles en la identificación de esta especie. La disparidad encontrada entre poblaciones, en los valores promedio de las características evaluadas, así como la falta de coincidencia en sus límites de confiabilidad, podrían ser interpretadas como una prueba de la gran variación morfométrica que presenta *M. exigua*; en este sentido, también pueden ser mencionadas las variaciones en cuanto a la curvatura del estilete y la posición del cuello dentro de una misma población. Finalmente, el presente estudio ha permitido definir los límites de variabilidad de las hembras y huevos de *M. exigua*, así como definir aquellas características que no son estables y por ende no son útiles en la sistemática de la especie.

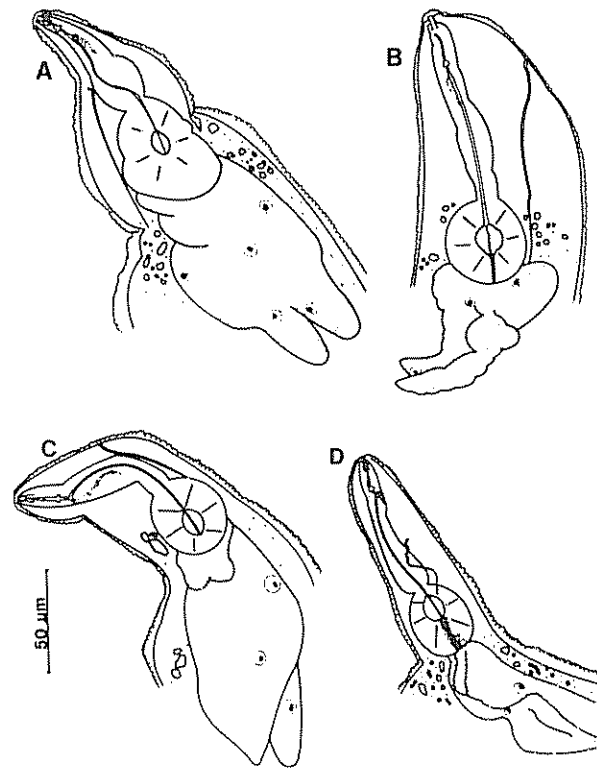


Fig. 2 Porción anterior del cuerpo de hembras de *Meloidogyne exigua* provenientes de la Isabel de Turrialba (A), Naranjo (B), Rivas de Pérez Zeledón (C) y San Vito de Coto Brus (D)

Cuadro 4. Algunas características morfométricas y alométricas de hembras y huevos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de San Vito de Coto Brus.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Limites de confiabilidad	C.V. (%)
Hembras					
Medidas (μm)					
Longitud total	364.5****	10.30	51.48	344.3-384.7	14.1
Diámetro máximo	203.0	6.11	33.49	191.0-215.0	16.5
+ Diámetro a mitad del metacarpus	39.7	1.36	7.43	37.0-42.4	18.7
Mitad metacarpus a estoma	59.7	2.03	11.12	55.7-63.7	18.6
Diámetro metacarpus	24.8	0.69	3.77	23.4-26.2	15.2
Longitud metacarpus	33.0	0.81	4.42	31.4-34.6	13.4
Diámetro válvula metacarpus	9.2	0.18	0.99	8.8-9.6	10.8
Longitud válvula metacarpus	10.8	0.15	0.80	10.5-11.1	7.4
Estilete	11.4	0.22	1.20	11.0-11.8	10.5
Altura de nódulos	2.0	0.06	0.36	1.9-2.1	18.0
Diámetro de nódulos	2.6	0.05	0.35	2.5-2.7	13.5
OGDE****	4.4	0.14	0.76	4.1-4.7	17.3
Poros excretor a estoma	22.2****	1.00	5.25	20.2-24.2	23.6
Longitud abertura vulval	16.8	0.36	1.96	16.1-17.5	11.7
Ano a vulva	13.9	0.34	1.87	13.2-14.6	13.5
Distancia interfasmial	20.0	0.53	2.91	19.0-21.0	14.6
Proporciones					
a	1.8**	0.05	0.24	1.7-1.9	13.3
Diámetro nódulos/altura	1.3	0.03	0.19	1.2-1.4	14.6
Longitud metacarpus/diámetro	1.4	0.04	0.24	1.3-1.5	17.1
Long. válvula metacarpus/diám	1.2	0.03	0.15	1.1-1.3	12.5
Porcentaje					
Poros excretor	6.3*	0.32	1.52	5.7-6.9	24.1
Medidas lineales en huevos (μm)					
Longitud	87.8	1.59	8.69	84.7-90.9	9.9
Diámetro	36.6	0.45	2.46	35.7-37.5	6.7
Proporción					
Longitud/diámetro	2.4	0.06	0.32	2.3-2.5	13.3

* Promedio de 23 observaciones.

** Promedio de 25 observaciones.

*** Promedio de 28 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

**** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

Cuadro 5. Algunas características morfométricas y alométricas de hembras y huevos de cuatro poblaciones de *Meloidogyne exigua* proveniente de diferentes localidades de Costa Rica.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Hembras					
Medidas (μm)					
Longitud del cuerpo	417.4**	8.24	83.27	401.2-433.6	19.9
Diámetro máximo del cuerpo	242.7	5.81	63.66	231.3-254.1	26.2
Diámetro cuello a mitad del metacarpus	46.6	1.05	11.53	44.6-48.6	24.7
Mitad metacarpus a estoma	69.0	1.28	14.06	66.5-71.5	20.4
Diámetro metacarpus	28.5	0.67	7.30	27.2-29.8	25.6
Longitud metacarpus	35.4	0.68	7.44	34.1-36.7	21.0
Diámetro válvula metacarpus	9.7	0.11	1.18	9.5-9.9	12.2
Longitud válvula metacarpus	10.9	0.11	1.19	10.7-11.1	10.9
Longitud del estilete	12.2	0.14	1.55	11.9-12.5	12.7
Altura de nódulos	2.0	0.04	0.49	1.9-2.1	24.5
Diámetro de nódulos	2.7	0.04	0.40	2.6-2.8	14.8
OGDE****	4.7	0.07	0.76	4.6-4.8	16.2
De poro excretor a estoma	27.6***	0.79	8.53	26.1-29.1	30.9
Longitud abertura vulval	18.9	0.32	3.53	18.3-19.5	18.7
Distancia de ano a vulva	15.2	0.24	2.67	14.7-15.7	17.6
Distancia interfasmidial	21.0	0.31	3.37	20.4-21.6	16.0
Proporciones					
a	1.8**	0.03	0.31	1.7-1.9	17.2
Diám/altura nódulos	1.4	0.03	0.28	1.3-1.5	20.0
Long/diámetro metacarpus	1.29	0.02	0.26	1.25-1.33	20.2
Long/diám válvula metacarpus	1.14	0.01	0.15	1.12-1.1	13.2
Porcentaje					
Poros excretor	6.7*	0.21	2.07	6.3-7.1	30.9
Medidas lineales en huevos (μm)					
Largo	87.6	0.61	6.64	86.4-88.8	7.6
Ancho	38.0	0.31	3.40	37.4-38.6	8.9
Proporción					
Largo/ancho huevo	2.3	0.03	0.28	2.2-2.4	12.2

* Promedio de 99 observaciones.

** Promedio de 102 observaciones.

*** Promedio de 107 observaciones. El resto de promedios corresponde a 120 observaciones. Todas las medidas en μm .

**** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

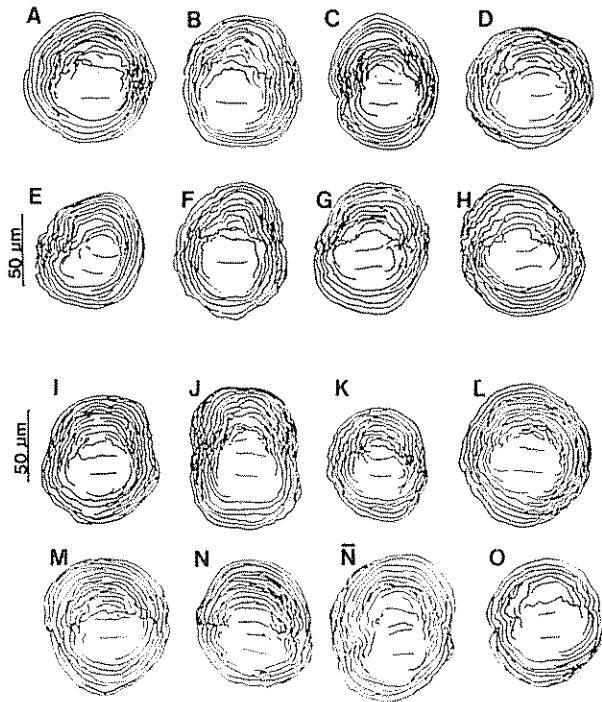


Fig. 3. Diseños perineales de *Meloidogyne exigua* provenientes de Naranjo (A-D), San Vito de Coto Brus (E-H), Rivas de Pérez Zeledón (I-L) y La Isabel de Turrialba (M-O)

LITERATURA CITADA

- 1 CHITWOOD, B.G. 1949. "Root-knot nematodes" Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington (E.E.U.U.) 16:90-104.
- 2 LIENHACK, J.D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHILLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. Journal of Nematology (E.E.U.U.) 12(4):300-313.
- 3 ESSER, R.P.; PERRY, V.G.; TAYLOR, A.L. 1976. A diagnostic compendium of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae). Proceedings of the Helminthological Society of Washington (E.E.U.U.) 43(2):138-150.
- 4 FAZOUOLI, L.C.; MONACO, L.C.; CARVALHO, A. 1977. Resistencia do cafeiro a nematóides; tales en progenies e híbridos, para *Meloidogyne exigua* Bragantia (Bra.) 36(29):297-307.
- 5 FRANKLIN, M.I. 1962. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp. for identification. Nematologica (Holanda) 7:336-337.
- 6 FRANKLIN, M.I. 1972. The present position in the systematics of *Meloidogyne*. European Mediterranean Plant Protection Bulletin (Francia) 6:5-13.
- 7 GARCIA-MARIÑEZ, R.; TAYLOR, A.L.; SMART, G.C. 1982. *Meloidogyne cruciani* n. sp., a root-knot nematode from St. Croix (U.S. Virgin Islands) with observations on morphology of this and two other species of the genus. Journal of Nematology (E.E.U.U.) 14(3):292-303.
- 8 JEPSON, S.B. 1983. Identification of *Meloidogyne* a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy, with a key to 24 species. Revue de Nématologie (Francia) 6(2):291-309.
- 9 JEPSON, S.B. 1983. Identification of *Meloidogyne* species; a comparison of stylets of females. Nematologica (Holanda) 29:132-143.
- 10 JEPSON, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford, United Kingdom. Commonwealth Agricultural Bureaux International. 265 p.
- 11 LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. Turrialba (C.R.) 34(4):445-458.
- 12 LOPEZ, R. 1985. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne exigua* con el microscopio electrónico de rastreo. Nematropica (E.E.U.U.) 15(1):27-36.
- 13 LORDELLLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L. 1958. On the morphology of the coffee root-knot nematode *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington (E.E.U.U.) 25(2):133-137.
- 14 SOSA-MOSS, C. 1985. Report on the status of *Meloidogyne* research in Mexico, Central America and the Caribbean countries. In Advanced Treatise on *Meloidogyne*. v. I. Biology and Control. North Carolina, E.E.U.U. Ed. por J.N. Sasser, C.C. Carter. p. 327-346.
- 15 TARJAN, A.C.; FREDERICK, J.J. 1978. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae*. Journal of Nematology (E.E.U.U.) 10(2):152-160.
- 16 TAYLOR, D.P.; NETSCHER, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica (Holanda) 20(2):268-269.
- 17 TAYLOR, A.L. 1987. Identification and estimation of root-knot nematode species in mixed populations. Florida, E.E.U.U., Florida Department of Agriculture & Consumer Services. Bulletin 12. 73 p.
- 18 WHITEHEAD, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. Transactions of the Zoological Society of London (G.B.) 31:263-401.

Caracterización Morfológica del Nematodo Nodulador del Cafeto *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). II. Machos¹

L. Flores*, R. López*

ABSTRACT

A morphological, morphometrical and allometrical study of 30 males from each of four populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*, collected in different localities of Costa Rica, was carried out with the help of light microscopy. Out of 36 characteristics studied, only the distances stoma-base of stylet knobs, stoma-middle metacarpus, the stylet, the stylet cone and the shaft + the knobs of the stylet could be considered stable, as their coefficients of variability were less than 10% in all populations.

INTRODUCCION

Tal y como ha sido señalado previamente (2), el conocimiento de los factores que pueden causar daño al cafeto (*Coffea arabica* L.), entre ellos los nematodos fitoparásitos, es de primordial importancia para la economía de Costa Rica. En el caso de estos parásitos es reconocido que la especie *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887 es la que con más frecuencia se asocia al cultivo. Como parte de un proyecto más amplio, se hizo un estudio morfológico de machos pertenecientes a cuatro poblaciones de esta especie, colectadas en diferentes localidades de Costa Rica. Los resultados de este estudio son presentados a continuación. En un trabajo previo fueron presentados los datos pertinentes a las hembras y a los huevos de estas poblaciones de *M. exigua* (2).

MATERIALES Y METODOS

Las poblaciones de *M. exigua* que fueron utilizados en este estudio fueron colectadas en 1) Naranjo, pro-

COMPENDIO

Con la ayuda del microscopio de luz fue hecho un estudio morfológico, morfométrico y alométrico de 30 machos en cada una de cuatro poblaciones del nematodo nodulador del cafeto, *Meloidogyne exigua*, colectadas en diferentes localidades de Costa Rica. De un total de 36 características analizadas, sólo las distancias estoma-base de los nódulos del estilete, estoma-mitad del metacarpus, el estilete, el cono del estilete y la columna + los nódulos del estilete, fueron consideradas estables, dado que sus coeficientes de variación fueron inferiores al 10% en todas las poblaciones.

vincia de Alajuela; 2) La Isabel de Turrialba, Provincia de Cartago; 3) Rivas de Pérez Zeledón, provincia de San José y 4) San Vito de Coto Brus, provincia de Puntarenas. Estas poblaciones fueron identificadas como N, LI, R y SV, respectivamente, y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de cafeto, cv. Caturra y Chile (*Capsicum annum* L.), cv. California Wonder.

Para el aislamiento de los machos de cada población, fueron lavadas con agua potable raíces con nódulos para eliminar el suelo adherido: luego fueron disectados con la ayuda de un bisturí y un microscopio estereoscópico. Los machos obtenidos fueron fijados en TAF caliente y luego montados en una gota de TAF sobre portaobjetos de vidrio, a temperatura ambiente. En cada población fueron observados y medidos 30 especímenes con la ayuda de un dispositivo calibrado adaptado a un microscopio de luz; también fueron preparados dibujos de las porciones anterior y posterior de los machos con la ayuda de este dispositivo; además, fueron tomadas fotomicrografías de la porción anterior de algunos machos con la ayuda de un sistema fotográfico adaptado a un microscopio de luz con óptica de contraste de interferencia diferencial Nomarski.

Por otra parte, fue hecho un análisis estadístico de las diferentes características medidas o calculadas;

¹ Recibido para su publicación el 23 de enero 1990. Parte de una tesis de grado presentada por el primer autor ante la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica.

* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Los autores agradecen la ayuda técnica de la Sra. Suria Sánchez.

este análisis incluyó el valor promedio, la desviación estándar, el error estándar del promedio, el coeficiente de variación (C.V.) en % y los límites de confiabilidad ($P = 0.95$) de cada una. Aquellas características que tuvieran un C.V. $\leq 10\%$ fueron consideradas estables, es decir, poco variables, siguiendo el criterio de varios autores (3, 6).

RESULTADOS

Caracteres cuantitativos

Los análisis estadísticos de las características de los machos de cada población son presentados en los Cuadros 1-4. Al utilizar C.V. menores del 10% como criterio calificador de poca variabilidad, se podría decir que la distancia del estoma a la base de los nódulos, el diámetro de la región cefálica, la longitud del estilete y la longitud columna + nódulos fueron caracteres estables. Las poblaciones N, LI y R tuvieron C.V. menores a 10% en la distancia del estoma a la mitad del metacarpus (Cuadros 1-3). Los valores de la longitud del cono fueron menores al 10% en LI, R y SV (Cuadros 7-9). El diámetro del metacarpus, la distancia del poro excretor al estoma y la proporción a tuvieron c.v. superiores al 10% en las poblaciones N, R y SV (Cuadros 1, 3 y 4).

El C.V. del diámetro de los nódulos y el de la longitud del gubernaculum fueron menores al 10% en la población N (Cuadro 1), mientras que en la población R la longitud del metacarpus tuvo un valor menor al 10% (Cuadro 3). Las poblaciones N y SV (Cuadros 1 y 4), R y N (Cuadros 1 y 3) tuvieron C.V. menores al 10% en la longitud de la válvula del metacarpus y la longitud de las espículas, respectivamente.

Al considerar el traslape de los límites de confiabilidad para evaluar la variabilidad entre poblaciones, se encontró que la longitud del cuerpo, la distancia del estoma al poro excretor, la longitud del esófago, el diámetro máximo del cuerpo, la distancia del estoma a la mitad del metacarpus, la distancia del estoma a la base del estilete, la longitud del estilete y la longitud del cono, la longitud de la columna + los nódulos, el diámetro del metacarpus y de la región cefálica y la distancia de los fasmidios al terminus fueron las características menos variables en machos para las poblaciones LI, R y SV (Cuadros 2-4). Por otra parte, las demás características tuvieron una gran variabilidad interpoblacional. En las poblaciones N, R y SV la altura de la región cefálica podría ser considerada de poca variabilidad (Cuadros 1, 3 y 4).

El Cuadro 5 reúne los valores de las características para las cuatro poblaciones. Al considerar el valor del

10% de C.V. como punto diferenciador entre caracteres estables y variables, se determinó que la distancia del estoma a la mitad del metacarpus, la distancia del estoma a la base de los nódulos, la longitud del estilete, la longitud del cono y la longitud de la columna + nódulos pueden ser considerados caracteres estables.

Caracteres cualitativos

El cuerpo es vermiforme, con la porción anterior aguzada y la posterior redondeada. Esta parte tiene una curvatura hacia el lado ventral. Las anulaciones son fuertes. Los campos laterales son areolados, y están formados por cuatro líneas laterales; las dos líneas externas son arqueadas; pequeñas zonas de la banda lateral central carecen de estrias (Fig. 2 E). La región cefálica sobresale ligeramente del resto del cuerpo (Fig. 1 A-D). El estilete es fuerte (Fig. 1 A-D, 3); el cono es de extremo anterior fino, ensanchado en la base y abarca más de la mitad de la longitud del estilete; la columna es de diámetro constante en toda su extensión; los nódulos son prominentes y redondeados. El procorpus es cilíndrico, dos a tres veces más largo que el metacarpus, el que es ovalado y contiene el aparato valvular de forma ovalada y muy evidente. Posterior a la válvula el lumen del esófago se torna difícil de observar (Fig. 1 A-B). El anillo nervioso rodea la parte posterior del istmo (Fig. 1 A). La localización del poro excretor varía; el ducto excretor es fuerte y no es visible al llegar al intestino. El lóbulo basal del esófago traslapa el intestino ventralmente y tiene núcleos difíciles de observar; en algunos especímenes fue posible observar un máximo de tres núcleos. La mayoría de los machos tiene una gónada; unos pocos presentaban dos gónadas; en ambos casos estas estructuras podían estar flexionadas o extendidas. Las espículas tienen una forma arqueada, son cortas, con excepción de los machos de la población N, de cabeza redondeada y corta, la hoja ensanchada y la parte terminal fina (Fig. 2 A-D). El gubernaculum es simple. Los fasmidios están localizados en la banda central de los campos laterales, abajo de la abertura cloacal y presentan formas de poros (Fig. 2 E). La cola es corta y de extremo redondeado (Fig. 2 A-D).

DISCUSION

En todas las poblaciones evaluadas los valores promedio del diámetro máximo del cuerpo, la distancia del estoma al poro excretor, la altura de la región cefálica, el diámetro de nódulos y la proporción a fueron similares a lo anotado por Lordello y Zamith (5). Valores mayores a lo anotado por estos autores se presentaron en la población N para la longitud del cuerpo, OGDE, diámetro del metacarpus, longitud de espículas y longitud de la cola; esta población así como la LI, tuvieron valores menores en la altura de nódulos y en la proporción b.

Cuadro 1. Algunas características morfométricas y alométricas de machos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de Naranjo de Alajuela.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	1 208.8	30.65	167.85	1 148.7 – 1 268.9	13.9
Esófago	239.9	10.35	56.70	219.6 – 260.2	23.6
Testículo	587.2	17.73	97.12	552.4 – 622.0	16.5
Diámetro máximo	45.4	0.95	5.22	43.5 – 47.3	11.5
Poros excretor estoma	121.6	3.33	18.27	115.1 – 128.1	15.0
Estoma a mitad metacarpus	77.8	0.99	5.40	75.9 – 79.7	6.9
Estoma a base nódulos	21.8	0.30	1.62	21.2 – 22.4	7.4
Altura de región cefálica	4.3	0.09	0.52	4.1 – 4.5	12.1
Diámetro región cefálica	11.0	0.16	0.90	10.7 – 11.3	8.2
Poros excretor a mitad metacarpus	53.1	1.78	9.77	49.6 – 56.6	18.4
Estilete	19.4	0.30	1.67	18.8 – 20.0	8.6
Cono del estilete	9.9	0.20	1.08	9.5 – 10.3	10.9
Columna + nódulos	9.4	0.15	0.80	9.1 – 9.7	8.5
Altura de nódulos	2.6	0.07	0.36	2.5 – 2.7	13.8
Diámetro de nódulos	4.6	0.08	0.42	4.4 – 4.8	9.1
OGDE**	4.6	0.13	0.70	4.3 – 4.9	15.2
Longitud metacarpus	16.9	0.32	1.77	16.3 – 17.5	10.5
Diámetro metacarpus	11.4	0.24	1.34	10.9 – 11.9	11.8
Diámetro válvula metacarpus	4.4	0.12	0.63	4.2 – 4.6	14.3
Longitud válvula metacarpus	5.7	0.10	0.56	5.5 – 5.9	9.8
Espículas	27.1	0.41	2.24	26.3 – 27.9	8.3
Gubernaculum	7.6	0.13	0.73	7.3 – 7.9	9.6
Longitud de cola	11.6	0.35	1.91	10.9 – 12.3	16.5
Cloaca – fasmidios	2.4*	0.22	1.12	2.0 – 2.0	46.7
Fasmidios – extremo cola	9.2*	0.30	1.54	8.6 – 9.8	16.7
Diámetro de cloaca	20.4	0.55	3.03	19.3 – 21.5	14.8
Proporciones					
a	26.8	0.77	4.20	25.3 – 28.3	15.7
b	5.3	0.25	1.39	4.8 – 5.8	26.2
c	106.1	3.05	16.71	100.1 – 112.1	15.7
c'	0.6	0.02	0.09	0.56 – 0.6	15.0
Longitud cuerpo/mitad metacarpus a estoma	15.5	0.35	1.90	14.8 – 16.2	12.3
Diámetro región cefálica/altura	2.5	0.08	0.43	2.3 – 2.7	17.2
Diámetro nódulos/altura	1.8	0.05	0.27	1.7 – 1.9	15.0
Longitud válvula metacarpus/diámetro	1.3	0.04	0.20	1.2 – 1.4	15.4
Porcentajes					
Poros excretor	10.1	0.27	1.48	9.6 – 10.6	14.7
Testículos	48.7	0.97	5.29	46.8 – 50.6	10.9

* Promedio de 26 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

Los valores promedio de altura de nódulos y proporción a en las cuatro poblaciones concuerdan con los datos de Chitwood (1); la longitud de estilete en la población N tuvo un mayor valor que el informado por este autor, mientras que las otras tres poblaciones tuvieron valores similares.

El valor OGDE en las poblaciones LI, R y SV fue similar a lo encontrado por López (4) y mayor a lo anotado por otros autores (5).

En la población R la longitud del gubernaculum y la proporción b tuvieron un menor valor promedio que lo encontrado por algunos autores (5); en la población SV el gubernaculum y las proporciones b y c tuvieron menores valores promedio. La longitud de la cola en esta última población fue superior a lo anotado por Lordello y Zamith (5).

Solamente la población N tuvo espículas de mayor longitud que lo informado por López (4); las otras

Cuadro 2. Algunas características morfométricas y alométricas de machos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de Rivas de Pérez Zeledón.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Limites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	895.3	28.22	154.59	840.0 - 950.6	17.3
Esófago	204.8	7.22	39.57	190.6 - 219.0	19.3
Testículo	404.2	20.64	113.06	363.7 - 444.7	28.0
Diámetro máximo	32.9	0.93	5.10	31.1 - 34.7	15.5
Poros excretor a estoma	109.5	2.31	12.66	105.0 - 114.0	11.6
Estoma a mitad metacarpus	69.1	0.85	4.66	67.4 - 70.8	2.7
Estoma a base nódulos	20.3	0.29	1.60	19.7 - 20.9	7.9
Altura de región cefálica	4.3	0.10	0.54	4.1 - 4.5	12.6
Diámetro región cefálica	8.7	0.15	0.84	8.4 - 9.0	9.7
Poros excretor a mitad metacarpus	48.1	1.96	10.74	44.3 - 51.9	22.3
Estilete	17.7	0.23	1.25	17.2 - 18.2	7.1
Como del estilete	9.3	0.14	0.74	9.0 - 9.6	8.0
Columna + nódulos	8.4	0.14	0.75	8.1 - 8.7	8.9
Altura de nódulos	2.3	0.07	0.38	2.2 - 2.4	16.5
Diámetro de nódulos	3.5	0.9	0.48	3.3 - 3.7	14.3
OGDE**	4.0	0.10	0.50	3.8 - 4.2	12.5
Longitud metacarpus	14.8	0.24	1.33	14.3 - 15.3	9.0
Diámetro metacarpus	9.4	0.22	1.21	9.0 - 9.8	12.9
Diámetro válvula metacarpus	3.5	0.10	0.50	3.3 - 3.7	14.3
Longitud válvula metacarpus	4.9	0.10	0.50	4.7 - 5.1	10.2
Espículas	24.5	0.36	1.96	23.8 - 25.2	8.0
Gubernáculum	6.8	0.10	0.80	6.6 - 7.0	11.8
Longitud de cola	9.2	0.30	1.66	8.6 - 9.8	18.0
Cloaca - fasmidios	1.7*	0.10	0.70	1.5 - 1.9	41.2
Fasmidios - extremo cola	7.4*	0.32	1.58	6.8 - 8.0	21.4
Diámetro de cloaca	15.8	0.33	1.81	15.2 - 16.4	11.5
Proporciones					
a	27.3	0.56	3.07	26.2 - 28.4	11.2
b	4.5	0.15	0.81	4.2 - 4.8	18.0
c	99.5	3.84	21.03	92.0 - 107.0	21.1
c'	0.6	0.01	0.08	0.58 - 0.62	13.3
Longitud cuerpo/mitad metacarpus a estoma	12.9	0.35	1.91	12.2 - 13.6	14.8
Diámetro región cefálica/altura	2.0	0.05	0.25	1.9 - 2.1	12.5
Diámetro nódulos/altura	1.6	0.04	0.23	1.5 - 1.7	14.4
Longitud válvula metacarpus/diámetro	1.4	0.04	0.20	1.3 - 1.5	14.3
Porcentajes					
Poros excretor	12.5	0.34	1.86	11.8 - 13.2	14.9
Testículos	44.7	1.36	7.47	42.0 - 47.4	16.7

* Promedio de 24 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

poblaciones concuerdan con lo anotado por este autor.

La forma de los nódulos del estilete concuerda con lo informado por Chitwood (1), pero difiere de lo encontrado por otros autores (3, 5)

Los valores de la longitud total del cuerpo de los machos de *M. exigua* estudiados coinciden con los de la escala que utilizó Jepson (3) para separar los machos de varias especies de *Meloidogyne*, sin embargo,

esta autora afirma que la región cefálica de estos machos es de contorno truncado y que los nódulos del estilete tienen forma de pera, lo que difiere de lo encontrado en este estudio; los machos de las poblaciones costarricenses estudiadas tienen una estructura cefálica que sobresale ligeramente del cuerpo y los nódulos son prominentes y redondeados

La presencia de algunos machos con cuerpo retorcido y el número de gónadas concuerda con lo observado por López (4), pero no con lo mencionado por otros autores (5).

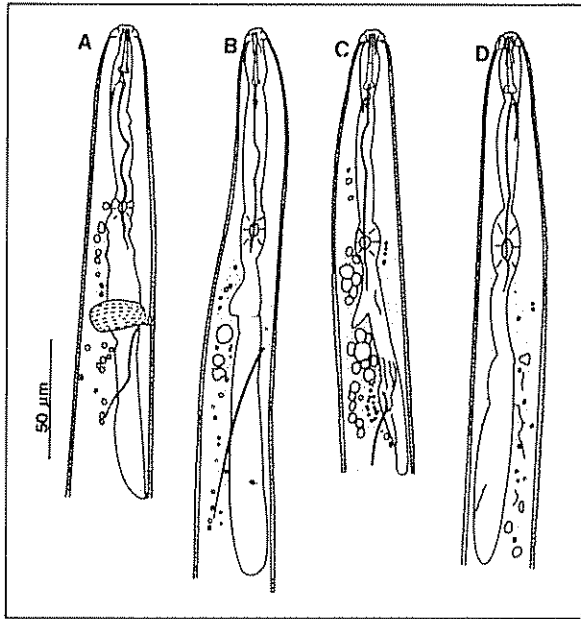


Fig 1. Porción anterior del cuerpo de machos de *Meloidogyne exigua*, provenientes originalmente de A: La Isabel de Turrialba; B: Rivas de Pérez Zeledón; C: Naranjo y D: San Vito de Coto Brus.

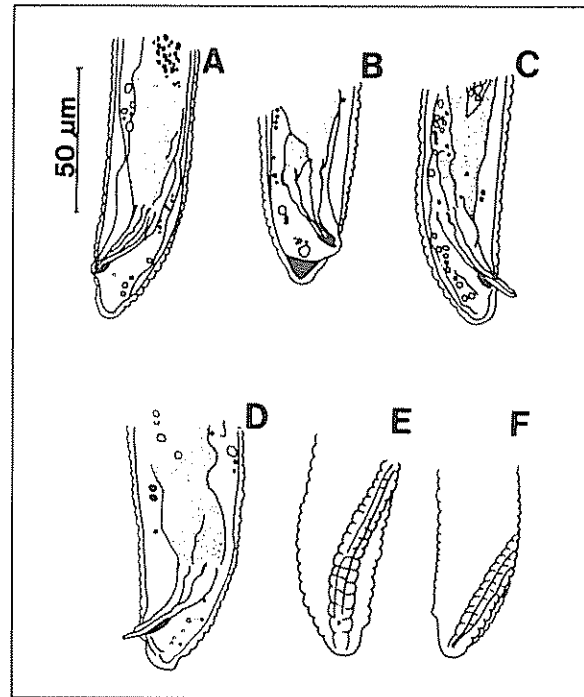


Fig. 2. Porción posterior del cuerpo de machos de *Meloidogyne exigua*, provenientes originalmente de A: La Isabel de Turrialba; B: Rivas de Pérez Zeledón; C: Naranjo y D: San Vito de Coto Brus.

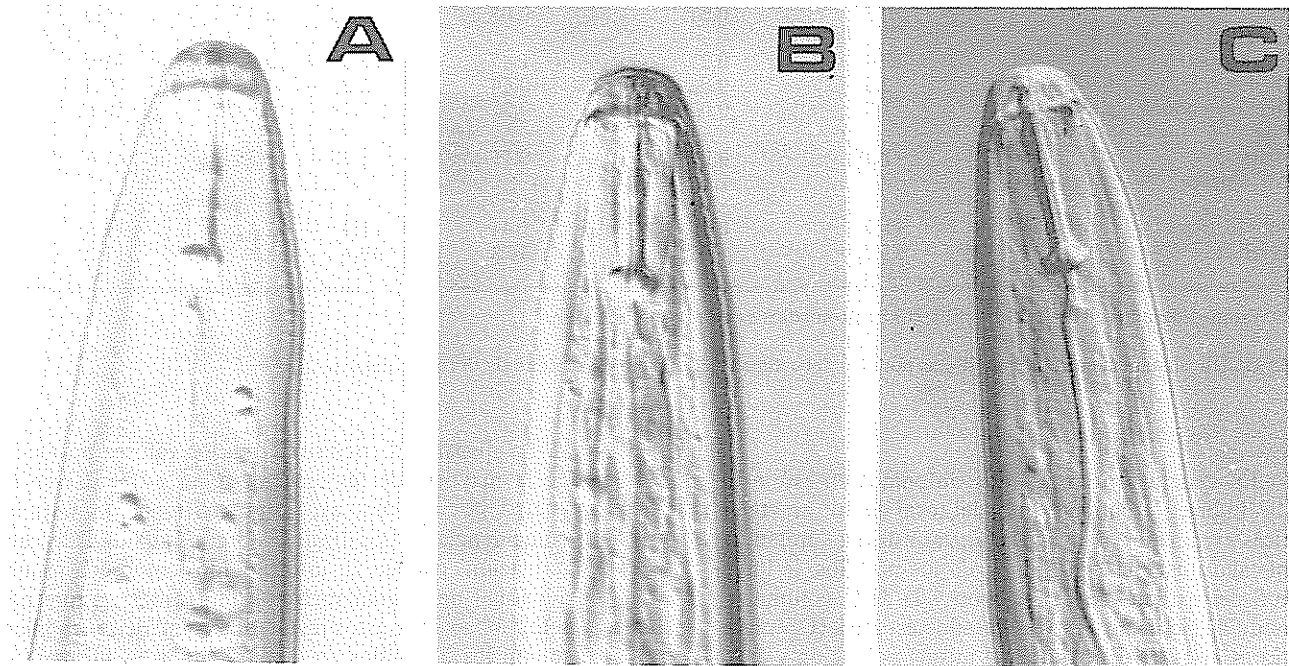


Fig 3. Fotomicrografías de la porción anterior del cuerpo de machos a *Meloidogyne exigua* con óptica de contraste de interferencia diferencial A: La Isabel de Turrialba; B-C: Naranjo

Cuadro 3. Algunas características morfométricas y alométricas de machos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de La Isabel de Turrialba.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	931.1	21.25	116.38	889.4 – 972.8	12.5
Esófago	202.4	6.77	37.10	189.1 – 215.7	18.3
Testículo	479.7	16.76	91.78	446.9 – 512.5	19.1
Diámetro máximo	35.5	0.77	4.22	34.0 – 37.0	11.9
Poros excretor a estoma	109.4	1.79	9.83	105.9 – 112.9	9.0
Estoma a mitad metacarpus	69.8	0.90	4.92	68.0 – 71.6	7.0
Estoma a base nódulos	20.8	0.27	1.46	20.3 – 21.3	7.0
Altura de región cefálica	4.0	0.10	0.57	3.8 – 4.2	14.3
Diámetro región cefálica	9.7	0.12	0.67	9.5 – 9.9	6.9
Poros excretor a mitad metacarpus	43.3	1.48	8.12	40.4 – 46.2	18.8
Estilete	18.2	0.25	1.38	17.7 – 18.7	7.6
Cono del estilete	9.5	0.17	0.95	9.2 – 9.8	10.0
Columna + nódulos	8.6	0.14	0.74	8.3 – 8.9	8.6
Altura de nódulos	2.3	0.07	0.41	2.2 – 2.4	17.8
Diámetro de nódulos	3.9	0.09	0.51	3.7 – 4.1	13.1
OGDE**	3.9	0.10	0.57	3.7 – 4.1	14.6
Longitud metacarpus	14.4	0.30	1.66	13.8 – 15.0	11.5
Diámetro metacarpus	9.5	0.16	0.85	9.2 – 9.8	8.9
Diámetro válvula metacarpus	3.7	0.09	0.50	3.5 – 3.9	13.5
Longitud válvula metacarpus	4.7	0.10	0.54	4.5 – 4.9	11.5
Espículas	24.6	0.46	0.53	23.7 – 25.5	10.3
Gubernáculum	7.3	0.19	1.02	6.9 – 7.7	14.0
Longitud de cola	9.8	0.26	1.43	9.3 – 10.3	14.6
Cloaca – fasmidios	2.5*	0.18	0.92	2.1 – 2.9	36.8
Fasmidios – extremo cola	7.4*	0.24	1.21	6.9 – 7.9	16.4
Diámetro de cloaca	17.7	0.38	2.07	17.0 – 18.4	11.7
Proporciones					
a	26.3	0.35	1.90	25.6 – 27.0	7.2
b	4.7	0.15	0.82	4.4 – 5.0	17.4
c	96.7	3.38	18.49	90.1 – 103.3	19.1
c'	0.57	0.01	0.08	0.55 – 0.59	14.0
Longitud cuerpo/mitad metacarpus a estoma	13.4	0.27	1.47	12.9 – 13.9	11.0
Diámetro región cefálica/altura	2.5	0.08	0.44	2.3 – 2.7	17.6
Diámetro nódulos/altura	1.8	0.07	0.37	1.7 – 1.9	20.6
Longitud válvula metacarpus/diámetro	1.29	0.03	0.15	1.23 – 1.35	11.6
Porcentajes					
Poros excretor	11.9	0.26	1.41	11.4 – 12.4	11.8
Testículos	51.2	1.05	5.73	49.1 – 53.3	11.2

* Promedio de 26 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica

En general, los resultados obtenidos en este estudio inducen a concluir que, del total de 36 características estudiadas, sólo las distancias estoma –mitad del metacarpus y estoma– base de los nódulos, la longitud del estilete, la de su cono y la de la columna + nódulos podrían ser considerados estables (C.V. inferiores al 10%) dentro de una misma población y entre poblaciones de diferentes origen geográfico; estas características entonces son útiles para la identificación de los machos de *M. exigua*.

La disparidad encontrada en los valores promedio de la mayoría de las características evaluadas en las cuatro poblaciones, así como la frecuente falta de coincidencia de los límites de confiabilidad de cada población, pueden ser interpretados como una prueba adicional de la gran variación morfométrica que presenta *M. exigua*, estos resultados coinciden plenamente con los obtenidos en hembras de estas mismas poblaciones (2) y permiten reducir el número de características confiables que es necesario estudiar para la identificación precisa de este importante nematodo.

Cuadro 4. Algunas características morfométricas y alométricas de machos de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de San Vito de Coto Brus.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	1 023.5	35.27	193.20	954.4 – 1 092.6	18.9
Esófago	222.1	8.32	45.56	205.8 – 238.4	20.5
Testículo	503.9	21.48	117.67	461.8 – 546.0	23.4
Diámetro máximo	37.6	1.05	5.75	35.5 – 39.7	15.3
Poros excretor a estoma	115.6	2.41	13.18	110.9 – 120.3	11.4
Estoma a mitad metacarpus	70.7	1.32	7.25	68.1 – 73.3	10.3
Estoma a base nódulos	20.4	0.18	0.97	20.0 – 20.8	4.8
Altura de región cefálica	4.3	0.09	0.50	4.1 – 4.5	11.6
Diámetro región cefálica	9.6	0.13	0.70	9.3 – 9.9	7.3
Poros excretor a mitad metacarpus	50.1	1.66	9.09	46.8 – 53.4	18.1
Estilete	18.0	0.17	0.94	17.7 – 18.3	5.2
Cono del estilete	9.5	0.13	0.71	9.2 – 9.9	7.5
Columna + nódulos	8.5	0.12	0.65	8.3 – 8.7	7.6
Altura de nódulos	2.5	0.07	0.41	2.4 – 2.6	16.4
Diámetro de nódulos	4.0	0.11	0.58	3.8 – 4.2	14.5
OGDE**	4.5	0.13	0.72	4.2 – 4.8	16.0
Longitud metacarpus	15.6*	0.35	1.90	14.9 – 16.3	12.2
Diámetro metacarpus	9.7	0.27	1.46	9.2 – 10.2	15.1
Diámetro válvula metacarpus	4.1	0.11	0.58	3.9 – 4.3	14.1
Longitud válvula metacarpus	5.2	0.09	0.52	5.0 – 5.4	10.0
Espículas	23.0	0.50	2.73	22.0 – 24.0	11.9
Gubernaculum	6.5*	0.21	1.12	6.1 – 6.9	17.2
Longitud de cola	11.5	0.30	1.66	10.9 – 12.1	14.4
Cloaca – fasmidios	3.7	0.27	1.47	3.2 – 4.2	39.7
Fasmidios – extremo cola	7.8	0.42	2.32	7.0 – 8.6	29.7
Diámetro de cloaca	18.3	0.56	3.07	17.2 – 19.4	16.8
Proporciones					
a	27.3	0.63	3.43	26.1 – 28.5	12.6
b	4.8	0.23	1.28	4.3 – 5.3	26.7
c	90.0	3.05	16.68	84.0 – 96.0	18.5
c'	0.64	0.02	0.10	0.60 – 0.68	15.6
Longitud cuerpo/mitad metacarpus a estoma	14.05	0.40	2.30	13.7 – 15.3	15.9
Diámetro región cefálica/altura	2.3	0.05	0.27	2.2 – 2.4	11.7
Diámetro nódulos/altura	1.6	0.06	0.33	1.5 – 1.7	20.6
Longitud válvula metacarpus/diámetro	1.3	0.03	0.19	1.2 – 1.4	14.6
Porcentajes					
Poros excretor	11.5	0.29	1.58	10.9 – 12.1	13.7
Testículos	49.2	1.11	6.07	47.0 – 51.4	12.3

* Promedio de 29 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

Cuadro 5. Algunas características morfométricas y alométricas de machos de cuatro poblaciones de *Meloidogyne exigua* proveniente de diferentes localidades de Costa Rica.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	1 014.7	18.26	199.90	978.9 – 1 050.5	19.7
Esófago	217.3	4.32	47.29	208.8 – 225.8	21.8
Testículo	493.8	11.24	123.05	471.8 – 515.8	24.9
Diámetro máximo	37.9	0.63	6.89	36.7 – 39.1	18.2
Poros excretor a estoma	114.0	1.33	14.55	11.4 – 116.6	12.8
Estoma a mitad metacarpus	71.9	0.60	6.58	70.4 – 73.1	9.2
Estoma a base nódulos	20.8	0.14	1.55	20.5 – 21.1	7.5
Altura de región cefálica	4.2	0.05	0.55	4.1 – 4.3	13.1
Diámetro región cefálica	9.7	0.10	1.13	9.5 – 9.9	11.6
Poros excretor a mitad metacarpus	48.7	0.92	10.02	46.9 – 50.5	20.6
Estilete	18.3	0.13	1.46	18.0 – 18.6	8.0
Cono del estilete	9.6	0.08	0.90	9.4 – 9.8	9.4
Columna + nódulos	8.7	0.08	0.84	8.5 – 8.9	9.7
Altura de nódulos	2.4	0.04	0.41	2.3 – 2.5	17.1
Diámetro de nódulos	4.0	0.06	0.61	3.9 – 4.1	15.3
OGDE**	4.3	0.06	0.67	4.2 – 4.4	15.6
Longitud metacarpus	15.4**	0.18	1.92	15.0 – 15.8	12.5
Diámetro metacarpus	10.0	0.14	1.48	9.7 – 10.3	14.8
Diámetro válvula metacarpus	3.9	0.06	0.66	3.8 – 4.0	16.9
Longitud válvula metacarpus	4.9	0.08	0.90	4.7 – 5.1	18.4
Espículas	24.8	0.25	2.77	24.3 – 25.3	11.2
Gubernáculum	7.0	0.09	1.02	6.8 – 7.2	14.6
Longitud de cola	10.5	0.18	1.95	10.1 – 10.9	18.6
Cloaca – fasmidios	2.6*	0.13	1.32	2.3 – 2.9	50.8
Fasmidios – extremo cola	8.0	0.18	1.86	7.6 – 8.4	23.3
Diámetro de cloaca	18.0	0.28	3.02	17.5 – 18.5	16.8
Proporciones					
a	26.9	0.30	3.24	26.3 – 27.5	12.0
b	4.8	0.10	1.13	4.6 – 5.0	23.5
c	98.1	1.74	19.00	94.7 – 101.5	19.4
c'	0.59	0.01	0.09	0.57 – 0.61	15.3
Longitud cuerpo/mitad metacarpus a estoma	14.1	0.20	2.15	13.7 – 14.5	15.2
Diámetro región cefálica/altura	2.3	0.04	0.41	2.2 – 2.4	17.8
Longitud válvula metacarpus/diámetro	1.7	0.03	0.32	1.6 – 1.8	18.8
Porcentajes	1.32	0.02	0.19	1.28 – 1.36	14.4
Poros excretor	11.5	0.16	1.79	11.2 – 11.8	15.6
Testículos	48.5	0.60	6.56	47.3 – 49.7	13.5

* Promedio de 106 observaciones

** Promedio de 119 observaciones. El resto de promedios corresponde a 120 observaciones. Todas las medidas en μm .

*** OGDE referido a la distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

LITERATURA CITADA

- CHIWOOD, B.G. 1949 "Root-knot nematodes" Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE UU.) 16:90-104.
- FLORES, L.; LOPEZ, R. 1990. Caracterización morfológica de *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). I. Hembras y huevos. Turrialba (C.R.) 40: (en prensa)
- LORDELLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L. 1958. On the morphology of the coffee root-knot nematode *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE UU.) 25(2): 133-137
- JEPSON, S.B. 1983. Identification of *Meloidogyne* a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy, with a key to 24 species. Revue de Nematologie (Francia) 6(2):291-309.
- LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. Turrialba (C.R.) 34(4):445-458
- TARJAN, A.C.; FREDERICK, J.J. 1978. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae*. Journal of Nematology (EE UU.) 10(2):152-160.

Caracterización Morfológica del Nematodo Nodulador del Cafeto *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). III. Segundos Estados Juveniles¹

L. Flores*, R. López*

ABSTRACT

A morphological, morphometrical, and allometrical study of 30 second-stage juveniles (J2) from each of four populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*, collected in different localities of Costa Rica, was carried out with the help of the scanning electron microscope. Of 35 quantitative characters studied, the tail length, total length, esophagus length, stylet and shaft + basal knobs, diameter of cephalic region at base, phasmid-terminus distance, stoma-middle of metacarpus, stoma-excretory pore, stoma-base of stylet, ratio c and the excretory pore and phasmid percentage varied little, as their coefficients of variability were less than 10% in all populations. The presence of a dilated rectum in *M. exigua* J2 is reported for the first time.

INTRODUCCION

A rededor de 71 especies han sido descritas en el género *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nemata: Heteroderidae) (6, 14); sin embargo, algunas de las descripciones son consideradas incompletas. entre otras cosas por no incluir aspectos estadísticos importantes desde el punto de vista taxonómico. Uno de estos casos es el de *M. exigua* Goeldi, 1887, la especie tipo del género que comúnmente parasita plantas de cafeto (*Coffea arabica* L.). La literatura acerca de la morfología de esta especie es poca a nivel mundial; la descripción original y otros trabajos posteriores carecen, en su mayoría, de estudios estadísticos completos que permitan tener un mejor criterio sobre su variabilidad y los límites de sus principales características.

Las diferencias morfológicas son consideradas el mejor criterio para la diferenciación de las especies dentro de un género. Generalmente las medidas de ca-

COMPENDIO

Se realizó una caracterización morfológica, morfométrica y alométrica de juveniles en segundo estado (J2) de cuatro poblaciones de *Meloidogyne exigua*. provenientes de varias localidades de Costa Rica. Fueron estudiadas 35 características cuantitativas y varias cualitativas, con la ayuda de un microscopio de luz. Se encontró que la forma y longitud de la cola, la longitud total, el esófago, la longitud del estilete y la de su columna + nódulos, el diámetro de la región cefálica en su base, las distancias fasmidios-terminus, estoma-mitad del metacarpus, estoma-poro excretor, estoma-base del estilete, la proporción c y los porcentajes del poro excretor y de los fasmidios tuvieron poca variabilidad, por lo que fueron considerados útiles para la sistemática de este nematodo. Se informa por primera vez sobre la presencia de J2 con recto dilatado.

da característica varían, pero están contenidas dentro de ciertos límites para cada especie; estos límites pueden ser estimados por métodos estadísticos (5). La identificación precisa de las especies es considerada necesaria para la aplicación correcta de tácticas de manejo como la rotación de cultivos y la siembra de cultivares resistentes, las que reducen el daño causado por estos parásitos (4, 11).

Este trabajo representa la parte final de la serie sobre la caracterización morfológica de cuatro poblaciones de *M. exigua* colectadas en diferentes localidades de Costa Rica, e incluye los datos referentes a los segundos estados juveniles (J2), con énfasis en ciertos aspectos estadísticos.

MATERIALES Y METODOS

Las poblaciones de *M. exigua* usados en este estudio fueron colectadas en 1) Naranjo, provincia de Alajuela; 2) La Isabel de Turrialba, provincia de Cartago; 3) Rivas de Pérez Zeledón, provincia de San José y 4) San Vito de Coto Brus, provincia de Puntarenas. Estas poblaciones fueron identificadas como N, LI, R y SV, respectivamente, y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de cafeto, cv. Caturra y Chile (*Capsicum Annuum* L.), cv. California Wonder

¹ Recibido para su publicación el 25 de enero de 1990. Parte de una tesis de grado presentada por el primer autor ante la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica.

* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. Los autores agradecen la ayuda técnica de la Sra. Suria Sánchez y el Ing. Luis Salazar.

Para el aislamiento de los J2 de cada población, raíces con nódulos fueron lavadas y luego disectadas con la ayuda de un bisturí y un microscopio estereoscópico. Los J2 obtenidos fueron fijados en TAF caliente (60°C) y luego montados en TAF mantenido a temperatura ambiente (aprox. 22°C). En cada población fueron observados y medidos 30 especímenes con la ayuda de un dispositivo calibrado adaptado a un microscopio de luz (ML); también fueron preparados dibujos de la porción anterior y posterior de los J2 con la ayuda de este dispositivo. También fue hecho un análisis estadístico de las diferentes características medidas o calculadas; este análisis incluyó el valor promedio, la desviación estándar, el error estándar del

promedio, el coeficiente de variación (c.v.) en % y los límites de confiabilidad ($P = 0.95$) de cada una. Aquellas características que tuvieran un c.v. $\leq 10\%$ fueron consideradas estables, siguiendo el criterio de varios autores (7, 12).

RESULTADOS

Caracteres cuantitativos

Los análisis estadísticos de las características de los J2 de cada población son presentados en los Cuadros 1 a 4. Se encontró que los que tuvieron c.v. menores al 10%, y por consiguiente fueron estables la longi-

Cuadro 1. Algunas características morfométricas y alométricas de juveniles en segundo estado de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de Naranjo de Alajuela.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	353.1**	2.48	13.56	348.2 - 358.0	3.8
Esófago	149.8	2.01	11.01	145.9 - 153.7	7.3
Diámetro máximo	14.1	0.28	1.55	13.6 - 14.6	11.0
Diám. a nivel poro excretor	13.7	0.24	1.31	13.2 - 14.2	9.6
Mitad metacarpus a poro excretor	24.0	0.44	2.40	23.1 - 24.9	10.0
Mitad metacarpus-al estoma	47.7	0.37	2.02	47.0 - 48.4	4.2
Diámetro región cefálica	4.8	0.05	0.25	4.7 - 4.9	5.2
Altura región cefálica	2.0	0.05	0.25	1.9 - 2.1	12.5
Estilete	9.1	0.10	0.54	8.9 - 9.3	5.9
Longitud del cono	4.7	0.07	0.36	4.6 - 4.8	7.7
Diámetro de nódulos	1.8	0.04	0.23	1.7 - 1.9	12.8
Altura de nódulos	1.0	0.04	0.22	0.9 - 1.1	22.0
Base del estilete al estoma	12.6	0.08	0.44	12.4 - 12.8	3.5
Columna + nódulos	4.4	0.08	0.36	4.2 - 4.6	8.2
OGDE*	3.3	0.07	0.42	3.2 - 3.4	12.7
Longitud válvula metacarpus	3.3	0.03	0.18	3.2 - 3.0	5.5
Diám. válvula metacarpus	3.2	0.05	0.26	3.1 - 3.3	8.1
Poro excretor a estoma	71.8	0.66	3.64	70.5 - 73.1	5.1
Longitud cola	45.8	0.69	3.78	44.4 - 47.2	8.3
Longitud región hialina	13.5	0.26	1.45	13.0 - 14.0	10.7
Diám. a comienzo región hialina	4.1	0.06	0.34	4.0 - 4.2	8.3
Diámetro anal	8.9	0.19	1.02	8.5 - 9.3	11.5
Ano - comienzo zona hialina	32.3	0.72	3.94	30.9 - 33.7	12.2
Fasmidios - extremo de cola	31.6	0.38	2.09	30.9 - 32.3	6.6
Proporciones					
a	25.2	0.44	2.41	24.3 - 26.1	9.6
b	2.4	0.03	0.16	2.3 - 2.5	6.7
c	7.7	0.10	0.53	7.5 - 7.9	6.9
c'	5.2	0.06	0.31	5.1 - 5.3	6.0
Long. cola/long. reg. hialina	3.4	0.08	0.46	3.2 - 3.6	13.5
Diám. reg. cefálica/altura	2.4	0.06	0.32	2.3 - 2.5	13.3
Diám. nódulos/altura	1.9	0.10	0.54	1.7 - 2.1	28.4
Long. válvula metacarpus/diám.	1.05	0.02	0.09	1.01 - 1.0	8.6
Long. reg. hialina/estilete	1.5	0.03	0.17	1.4 - 1.6	11.3
Porcentajes					
Poro excretor	20.3	0.18	0.96	19.9 - 20.7	4.7
Fasmidios	91.0	0.09	0.48	90.8 - 91.2	0.5

* OGDE: Distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica

** Promedios de 30 observaciones

tud del cuerpo, la distancia del estoma a la mitad del metacarpus, el diámetro de la región cefálica, la longitud del estilete, la distancia del estoma a la base del estilete, la longitud de la columna + nódulos, la distancia del estoma al poro excretor, la longitud de la cola, la distancia de los fasmidios al terminus, la proporción c y los porcentajes del poro excretor y de los fasmidios. Los c.v. de la longitud del esófago, el diámetro de la válvula del metacarpus y las proporciones b y c' fueron inferiores al 10% sólo en las poblaciones N y R (Cuadros 1 y 3). En el caso de la longitud del cono, el diámetro del cuerpo a nivel del poro excretor y la proporción a, los c.v. fueron menores al 10% en las poblaciones N y LI (Cuadros 1 y 2); en las pobla-

ciones LI y SV la longitud de la cola/longitud de la región hialina tuvieron valores menores al 10% (Cuadros 2 y 4). Los c.v. del diámetro de la válvula del metacarpus, la distancia del ano al comienzo de la zona hialina y el diámetro anal fueron inferiores al 10% en las poblaciones N y R, R y SV y LI y R, respectivamente (Cuadros 1-4). Los c.v. de la altura de nódulos fueron mayores al 10% en las poblaciones N, LI y SV, y la longitud de la región hialina en el caso de N, R y SV. En lo concerniente a la longitud de la válvula del metacarpus y la proporción longitud/diámetro de la válvula del metacarpus, el c.v. fue superior a 10% en LI, R y SV (Cuadros 2-4).

Cuadro 2. Algunas características morfométricas y alométricas de juveniles en segundo estado de una población de *Meloidogyne exigua* provenientes de Rivas de Pérez Zeledón.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	392.2	4.33	23.70	383.7 - 400.7	6.0
Esófago	164.9	1.93	10.55	161.1 - 168.7	6.4
Diámetro máximo	15.4	0.31	1.70	14.8 - 16.0	11.0
Diám. a nivel poro excretor	14.6	0.29	1.59	14.0 - 15.2	10.9
Mitad metacarpus a poro excretor	26.8	0.87	4.76	25.1 - 28.5	17.8
Mitad metacarpus-al estoma	52.9	0.59	3.22	51.7 - 54.1	6.1
Diámetro región cefálica	5.2	0.07	0.39	5.1 - 5.3	7.5
Altura región cefálica	2.5	0.07	0.36	2.4 - 2.6	14.4
Estilete	10.2	0.17	0.93	9.9 - 10.5	9.1
Longitud del cono	5.3	0.10	0.55	5.1 - 5.5	10.4
Diámetro de nódulos	1.9	0.04	0.23	1.8 - 2.0	12.1
Altura de nódulos	1.12	0.02	0.11	1.08 - 1.16	9.8
Base del estilete al estoma	14.2*	0.20	0.86	13.8 - 14.6	6.0
Columna + nódulos	5.0	0.10	0.49	4.8 - 5.2	9.8
OGDE***	3.6**	0.10	0.53	3.4 - 3.8	14.7
Longitud válvula metacarpus	3.9	0.08	0.44	3.7 - 4.1	11.3
Diám. válvula metacarpus	3.4	0.06	0.33	3.3 - 3.5	9.7
Poro excretor a estoma	79.7	1.01	5.55	77.7 - 81.7	7.0
Longitud cola	49.7	0.58	3.17	48.6 - 50.8	6.4
Longitud región hialina	15.6	0.41	2.25	14.8 - 16.4	14.4
Diám. a comienzo región hialina	4.4	0.10	0.61	4.2 - 4.6	13.9
Diámetro anal	9.7**	0.17	0.90	9.4 - 10.0	9.3
Ano - comienzo zona hialina	34.0	0.60	3.29	32.8 - 35.2	9.7
Fasmidios - extremo de cola	35.2*	0.40	2.14	34.4 - 36.0	6.1
Proporciones					
a	25.8	0.58	3.16	24.7 - 26.9	12.2
b	2.38	0.01	0.06	2.36 - 2.40	2.5
c	7.9	0.09	0.48	7.7 - 8.1	6.1
c'	5.2**	0.10	0.52	5.0 - 5.4	10.0
Long. cola/long. reg. hialina	3.2	0.08	0.42	3.0 - 3.4	13.1
Diám. reg. cefálica/altura	2.1	0.07	0.37	2.0 - 2.2	17.6
Diám. nódulos/altura	1.6	0.05	0.26	1.5 - 1.7	16.3
Long. válvula metacarpus/diám.	1.1	0.03	0.16	1.0 - 1.2	14.5
Long. reg. hialina/estilete	1.5	0.06	0.32	1.4 - 1.6	21.3
Porcentajes					
Poro excretor	20.4	0.23	1.27	19.9 - 20.9	6.2
Fasmidios	91.0*	0.11	0.57	90.8 - 91.2	0.6

* Promedio de 28 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** Promedio de 29 observaciones.

*** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

Basados en el traslape o no de los límites de confiabilidad de cada característica, se encontró que las cuatro poblaciones coincidieron en la longitud/diámetro de la válvula del metacarpus y el porcentaje de los fasmidios. En las poblaciones LI, R y SV hubo mayor traslape en la longitud del esófago, el diámetro máximo del cuerpo, la longitud del estilete, la longitud del cono, la longitud de la columna + nódulos y en la proporción c (Cuadros 2-4). Se presentó coincidencia entre las poblaciones N, LI y SV en la distancia del estoma al poro excretor, la longitud de la cola, la longitud de la región hialina, la distancia del ano al co-

mienzo de la zona hialina, la distancia de los fasmidios al terminus y la proporción diámetro/altura de la región cefálica (Cuadros 1, 2 y 4). Las poblaciones N y LI coincidieron en el diámetro y altura de los nódulos (Cuadros 1 y 2), mientras que las poblaciones R y SV coincidieron en la distancia del estoma a la mitad del metacarpus (Cuadros 3 y 4). Se encontró la mayor variabilidad en la longitud del cuerpo, el diámetro y la altura de la región cefálica, la distancia del estoma a la base del estilete, el diámetro del cuerpo a nivel del poro excretor, el OGDE, la distancia del poro excretor a la mitad del metacarpus, la longitud y el

Cuadro 3. Algunas características morfométricas y alométricas de juveniles en segundo estado de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de La Isabel de Turrialba.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	351.6	3.83	20.96	344.1 - 359.1	6.0
Esófago	158.1	3.29	18.00	151.7 - 164.5	11.4
Diámetro máximo	14.7	0.25	1.36	14.2 - 15.2	9.3
Diám. a nivel poro excretor	13.9	0.23	1.28	13.4 - 14.4	9.2
Mitad metacarpus a poro excretor	24.4	0.48	2.64	23.5 - 25.3	10.8
Mitad metacarpus-al estoma	49.5	0.52	2.84	48.5 - 50.5	5.7
Diámetro región cefálica	5.2	0.06	0.33	5.1 - 5.3	6.3
Altura región cefálica	2.3	0.06	0.32	2.2 - 2.4	13.9
Estilete	9.9	0.09	0.51	9.7 - 10.1	5.1
Longitud del cono	5.0	0.08	0.42	4.8 - 5.2	8.4
Diámetro de nódulos	1.9	0.05	0.25	1.8 - 2.0	13.2
Altura de nódulos	1.1	0.03	0.19	1.0 - 1.2	17.3
Base del estilete al estoma	13.8	0.12	0.67	13.6 - 14.0	4.9
Columna + nódulos	4.8	0.05	0.28	4.7 - 4.9	5.8
OGDE**	3.2	0.06	0.35	3.1 - 3.3	10.9
Longitud válvula metacarpus	3.8	0.07	0.40	3.7 - 3.9	10.5
Diám. válvula metacarpus	3.5	0.07	0.39	3.4 - 3.6	11.1
Poro excretor a estoma	73.9	0.77	4.24	72.4 - 75.4	5.7
Longitud cola	44.7	0.71	3.91	43.3 - 46.1	8.7
Longitud región hialina	12.7	0.23	1.24	12.2 - 13.2	9.8
Diám. a comienzo región hialina	4.3	0.11	0.61	4.1 - 4.5	14.2
Diámetro anal	9.2	0.16	0.88	8.9 - 9.5	9.6
Ano - comienzo zona hialina	32.0	0.63	3.46	30.8 - 33.2	10.8
Fasmidios - extremo de cola	32.4*	0.55	2.96	31.3 - 33.5	9.1
Proporciones					
a	24.0	0.39	2.11	23.2 - 24.8	8.8
b	2.3	0.06	0.33	2.2 - 2.4	14.3
c	7.9	0.12	0.65	7.7 - 8.1	8.2
c'	4.9	0.11	0.62	4.7 - 5.1	12.7
Long. cola/long. reg. hialina	3.5	0.06	0.33	3.4 - 3.6	9.4
Diám. reg. cefálica/altura	2.3	0.06	0.32	2.2 - 2.4	13.9
Diám. nódulos/altura	1.8	0.08	0.42	1.6 - 2.0	23.3
Long. válvula metacarpus/diám.	1.1	0.03	0.17	1.0 - 1.2	15.5
Long. reg. hialina/estilete	1.30	0.03	0.15	1.2 - 1.4	11.5
Porcentajes					
Poro excretor	21.1	0.21	1.15	20.7 - 21.5	5.5
Fasmidios	90.8*	0.12	0.65	90.6 - 91.0	0.7

* Promedio de 29 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

diámetro de la válvula del metacorpú, el diámetro anal, el diámetro de la región hialina al comienzo y en las proporciones a, b, c', longitud de región hialina/longitud de estilete y el porcentaje del poro excretor.

El análisis de las características evaluadas en las cuatro poblaciones se presenta en el Cuadro 5. Las características que tuvieron c.v. inferiores al 10% fueron la longitud del esófago, la longitud de la columna + nódulos, la longitud del estilete, la distancia de los fasmidios al terminus, la longitud de la cola, el diámetro de la región cefálica, distancia del estoma a la mitad del metacorpú, la distancia del estoma al poro excretor, la longitud del cuerpo, la proporción c, la distancia del estoma a la base del estilete y los porcentajes del poro excretor y de los fasmidios.

Caracteres cualitativos

El cuerpo es vermiforme; los extremos se adelgazan pero en mayor grado el posterior. La región cefálica es continua con el resto del cuerpo (Fig. 1 A-D). La cutícula está formada por anulaciones menos fuertes que en los adultos, las que se hacen indistinguibles en los extremos de la cola, generalmente en la parte que comprende la región hialina (Fig. 2 A-E). El estilete es delgado (Fig. 1 A-D), con un cono de mayor longitud que la columna; los nódulos son pequeños y redondeados. Los campos laterales están formados por cuatro incisuras que se observan levemente. El procorpú es cerca de 2 1/2 a 3 veces la longitud del metacorpú. El bulbo medio es ovalado, con aparato valvular fuerte, algunas veces en el centro del metacorpú, otras desplazado hacia uno de los lados, en

sentido longitudinal (Fig. 1 C-D). El istmo y el lóbulo basal esofágico son de longitud considerable, aproximadamente de 2 a 2 1/2 veces la longitud del procorpú (Fig. 1 A-D). El anillo nervioso rodea el istmo y bajo éste se localiza el poro excretor, con un ducto excretor angosto que no es visible al nivel del intestino. En el lóbulo basal se pueden ver tres núcleos (Fig. 1 A-D).

El recto no es filatado en la mayoría de los especímenes (Fig. 2 A-D); sin embargo, algunos juveniles de las poblaciones N y R mostraron dilatación (Fig. 2 E); en esta última población el porcentaje de juveniles con esta característica fue 43%. Los fasmidios son difíciles de observar; solamente la parte anterior del ducto fasmidial se distingue cuando el espécimen se encuentra en posición ventral o dorsal. La cola es corta, delgada, de extremo angosto y redondeado (Fig. 2 A-E). La región hialina varía de tamaño; en su inicio o ligeramente posterior a ésta se observó una pequeña constricción (Fig. 2 B y E).

DISCUSION

La longitud del cuerpo en las poblaciones N, LI y SV fue similar a lo informado por varios autores (3, 9, 10, 15); la población R tuvo una mayor longitud que lo informado por otros autores (2, 3, 9, 10, 13, 15).

Se encontró que todas las poblaciones presentaron mayores valores promedio en la longitud del esófago que lo anotado por Lordello y Zamith (10).

Los valores del diámetro máximo del cuerpo, la longitud del estilete y la forma de los nódulos concuerda con lo informado previamente para esta especie (9, 10, 15).

Los valores promedio de la distancia del estoma a la base de los nódulos en las poblaciones LI y SV concordaron con los datos por López (9), no así en las poblaciones R y N, las que tuvieron valores mayores y menores, respectivamente, con relación a lo anotado por este autor.

Los valores promedio del OGDE, la longitud de la válvula del metacorpú, la proporción b y la proporción c' concordaron con los de Whitehead (15) y López (9).

La longitud de la cola en la población R fue diferente de lo informado por Jepson (8) y Lordello y Zamith (10), pero coincidió con los valores presentados por López (9) y Whitehead (15). La forma de la cola en las cuatro poblaciones coincidió con lo descrito por Jepson (8), aunque no fue observada la cons-

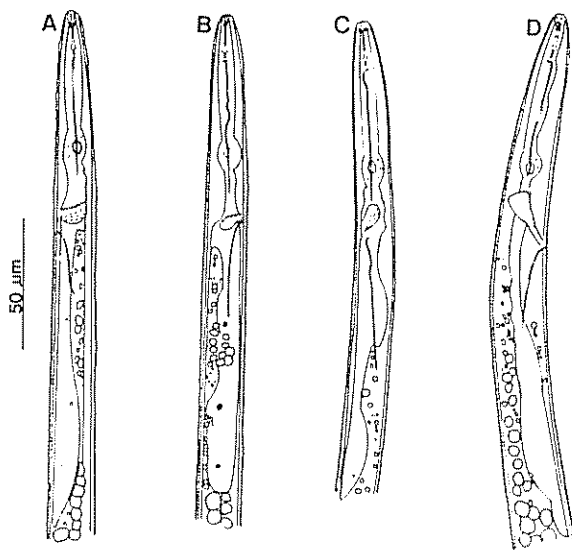


Fig. 1. Porción anterior del cuerpo de segundos estados juveniles de *Meloidogyne exigua* provenientes de A: Rivas de Pérez Zeledón; B: San Vito de Coto Brus; C: La Isabel de Turrialba y D: Naranjo.

tricción cuticular que esta autora encontró a la mitad de la región hialina. La longitud de la región hialina en todas las poblaciones evaluadas fue mayor que lo anotado por Jepson (8)

La dilatación del recto en algunos especímenes contradujo lo informado por varios autores (9, 15); sin embargo, conviene aclarar que otros autores (1, 3, 14) consideran que esta característica varía según la edad del juvenil y el tipo de fijación que se utilice.

Los hallazgos encontrados en esta investigación, en particular los basados en los valores del c.v. y en la

concordancia o no de los límites de confiabilidad, permiten concluir que, de todas las características evaluadas en los J2, hay algunas que son estables dentro de una misma población y entre poblaciones de diferente origen geográfico. Las características que son consideradas entonces como útiles para la identificación de los J2 de *M. exigua* son la longitud total, el exófago, la longitud del estilete y la de la columna + nódulos, el diámetro de la región cefálica, la longitud de la cola, las distancias fasmidios-terminus, estoma-mitad del metacarpus, estoma-poro excretor, estoma-base del estilete, proporción c, los porcentajes del poro excretor y de los fasmidios y la forma de la cola.

Cuadro 4. Algunas características morfométricas y alométricas de juveniles en segundo estado de una población de *Meloidogyne exigua* proveniente de San Vito de Coto Brus.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	370.9	4.66	25.50	361.8 - 380.0	6.9
Esófago	159.4	3.22	17.65	153.1 - 165.7	11.1
Diámetro máximo	15.1	0.34	1.87	14.4 - 15.8	12.4
Diám. a nivel poro excretor	14.4	0.31	1.70	13.8 - 15.0	11.8
Mitad metacarpus/poro excretor	20.0	0.53	2.93	19.0 - 21.0	14.7
Mitad metacarpus-al estoma	53.1	0.78	4.28	51.6 - 54.6	8.1
Diámetro región cefálica	4.9	0.07	0.41	4.8 - 5.0	8.4
Altura región cefálica	2.1	0.06	0.32	2.0 - 2.2	15.2
Estilete	10.0	0.17	0.91	9.7 - 10.3	9.1
Longitud del cono	5.3	0.13	0.72	5.0 - 5.6	13.6
Diámetro de nódulos	1.8	0.04	0.22	1.7 - 1.9	12.2
Altura de nódulos	1.0	0.03	0.19	0.9 - 1.1	19.0
Base del estilete al estoma	13.2	0.17	0.91	12.9 - 13.5	6.9
Columna + nódulos	4.8	0.05	0.30	4.7 - 4.9	6.3
OGDE**	3.7	0.10	0.55	3.5 - 3.9	14.9
Longitud válvula metacarpus	3.6	0.09	0.47	3.4 - 3.8	13.1
Diám. válvula metacarpus	3.4	0.08	0.43	3.2 - 3.6	12.6
Poro excretor a estoma	73.2	1.02	5.58	71.2 - 75.2	7.6
Longitud cola	46.4	0.59	3.22	45.2 - 47.6	6.9
Longitud región hialina	13.8	0.28	1.56	13.3 - 14.3	11.3
Diám. a comienzo región hialina	4.2	0.12	0.63	4.0 - 4.4	15.0
Diámetro anal	9.5	0.20	1.12	9.1 - 9.9	11.8
Ano - comienzo zona hialina	32.6	0.44	2.42	31.7 - 33.5	7.4
Fasmidios - extremo de cola	33.2*	0.57	3.09	32.1 - 34.3	9.3
Proporciones					
a	24.9	0.64	3.50	23.6 - 26.2	14.1
b	2.4	0.06	0.35	2.3 - 2.5	14.6
c	8.0	0.12	0.63	7.8 - 8.2	7.9
c'	4.9	0.11	0.62	4.7 - 5.1	12.7
Long. cola/long. reg. hialina	3.4	0.05	0.27	3.3 - 3.5	7.9
Diám. reg. cefálica/altura	2.4	0.07	0.40	2.3 - 2.5	16.7
Diám. nódulos/altura	1.9	0.10	0.57	1.7 - 2.1	30.0
Long. válvula metacarpus/diám.	1.1	0.03	0.16	1.0 - 1.2	14.5
Long. reg. hialina/estilete	1.4	0.03	0.19	1.3 - 1.5	13.6
Porcentajes					
Poro excretor	19.7	0.18	0.96	19.3 - 20.1	4.9
Fasmidios	91.1*	0.13	0.70	90.8 - 91.4	0.8

* Promedio de 29 observaciones. El resto de promedios es de 30 observaciones.

** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

Cuadro 5. Algunas características morfométricas y alométricas de juveniles en segundo estado de cuatro poblaciones de *Meloidogyne exigua* provenientes de diferentes localidades de Costa Rica.

Características	Promedio	Error estándar del promedio	Desviación estándar	Límites de confiabilidad	C.V. (%)
Medidas (μm)					
Longitud total	366.9	2.45	26.84	362.1 - 371.7	7.3
Base del lóbulo esofágico al estoma	158.1	1.42	15.52	155.3 - 160.9	9.8
Diámetro máximo al cuerpo	14.8	0.15	1.68	14.5 - 15.1	11.4
Diám. cuerpo a nivel poro excretor	14.1	0.14	1.51	13.8 - 14.4	10.7
Mitad metacarpus a poro excretor	23.8	0.37	4.09	23.1 - 24.5	17.2
Mitad metacarpus al estoma	50.8	0.36	3.91	50.1 - 51.5	7.7
Diámetro región cefálica	5.0	0.04	0.39	4.9 - 5.1	7.8
Altura región cefálica	2.2	0.03	0.37	2.1 - 2.3	16.8
Longitud del estilete	9.8	0.08	0.86	9.6 - 10.0	8.8
Longitud cono	5.1	0.05	0.58	5.0 - 5.2	11.4
Diámetro de nódulos	1.84	0.02	0.24	1.8 - 1.88	13.0
Altura de nódulos	1.04	0.02	0.19	1.0 - 1.08	18.3
Base del estilete al estoma	13.4**	0.09	0.94	13.2 - 13.6	7.0
Columna + nódulos	4.7	0.04	0.42	4.6 - 4.8	8.9
OGDE****	3.5****	0.05	0.51	3.4 - 3.6	14.6
Long. válvula metacarpus	3.6	0.04	0.44	3.5 - 3.7	12.2
Diám. válvula metacarpus	3.4	0.03	0.38	3.3 - 3.5	11.2
Poro excretor al estoma	74.6	0.52	5.66	73.6 - 75.6	7.6
Longitud cola	46.6	0.36	3.95	45.9 - 47.3	8.5
Longitud región hialina	13.9	0.18	1.96	13.5 - 14.3	14.1
Diám. región hialina al comienzo	4.2	0.05	0.57	4.1 - 4.3	13.6
Diámetro anal	9.3****	0.09	1.01	9.1 - 9.5	10.9
Dist. de ano a comienzo zona hialina	32.7	0.31	3.37	32.1 - 33.3	10.3
Dist. fasmidios al terminus	33.1*	0.27	2.89	32.6 - 33.6	8.7
Proporciones					
a	25.0	0.26	2.89	24.5 - 25.5	11.6
b	2.34	0.02	0.25	2.3 - 2.38	10.7
c	7.9	0.05	0.58	7.8 - 8.0	7.3
c'	5.0****	0.05	0.54	4.9 - 5.1	10.8
Long. cola/long. región hialina	3.4	0.04	0.39	3.3 - 3.5	11.5
Diám./altura región cefálica	2.3	0.03	0.37	2.2 - 2.4	16.1
Diámetro/altura nódulos	1.8	0.04	0.47	1.7 - 1.9	26.1
Long./diám. válvula metacarpus	1.08	0.01	0.15	1.06 - 1.10	13.9
Long. reg. hialina/long. estilete	1.43	0.02	0.24	1.39 - 1.47	16.8
Porcentajes					
Poro excretor	20.4	0.11	1.18	20.2 - 20.6	5.8
Fasmidios	91.0*	0.06	0.61	90.9 - 91.1	0.7

* Promedio de 116 observaciones

** Promedio de 118 observaciones.

*** Promedio de 119 observaciones. Los restantes promedios corresponden a 120 observaciones. Todas las medidas en μm .

**** OGDE: distancia entre la base de los nódulos del estilete y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

La disparidad encontrada entre poblaciones en los valores promedio de algunas de las características evaluadas, así como la frecuente falta de coincidencia de sus límites de confiabilidad pueden interpretarse como una prueba de la gran variación morfométrica que presenta *M. exigua*. Se presentan también en los juveniles de esta especie cierto grado de polimorfismo, por ejemplo J2 con recto dilatado y sin dilatar.

De las consideraciones anteriores se puede concluir que para identificar en forma precisa y confiable los J2 de esta especie se requiere estudiar ciertas características cualitativas y cuantitativas. El presente estudio ha permitido definir los límites de la variabilidad, así como identificar aquellas características estables y variables en los J2 de *M. exigua*.

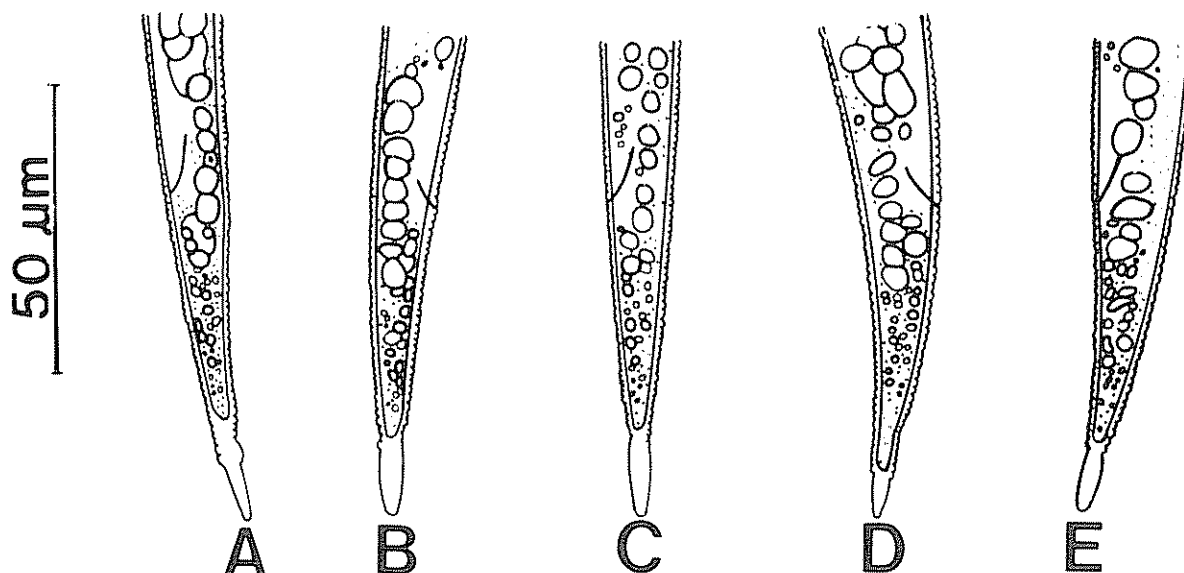


Fig. 2. Porción posterior del cuerpo de segundos estados juveniles de *Meloidogyne exigua* A-D: con recto no dilatado; E: con recto dilatado. A: Rivas de Pérez Zeledón; B: San Vito de Coto Brus; C: La Isabel de Turrialba y D-E: Naranjo

LITERATURA CITADA

- BIRD, A.F. 1979. Ultrastructure of the tail region of the second-stage preparasitic larva of the root-knot nematode. *International Journal for Parasitology (England)* 9:357-370.
- CHITWOOD, B.G. 1949. "Root-knot nematodes" Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE.UU.)* 16:80-104.
- ESSER, R.P.; PERRY, V.G.; TAYLOR, A.L. 1976. A diagnostic compendium of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE.UU.)* 43(2):138-150.
- FAZUOLI, L.C.; MONACO, L.C.; CARVALHO, A. 1977. Resistencia do cafeiro a nematóides; tales en progenies e híbridos, para *Meloidogyne exigua* Bragantia (Bra.) 36(29):297-307.
- FORTUNER, R. 1984. Statistics in taxonomic descriptions. *Nematologica (Holanda)* 30:187-192.
- HIRSCHMANN, H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. In *An Advanced Treatise on Meloidogyne* Biology and Control. Ed. by J.N. Sasser, C.C. Carter. N.C., EE.UU. v. 1, p. 79-93.
- JEPSON, S.B. 1983. Identification of *Meloidogyne* a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy, with a key to 24 species. *Revue de Nematologie (Francia)* 6(2):291-309.
- JEPSON, S.B. 1983. The use of second-stage juvenile tails as aid in the identification of *Meloidogyne* species. *Nematologica (Holanda)* 29:11-28.
- LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica Turrialba (C.R.) 34(4):445-458.
- LORDELLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L. 1958. On the morphology of the coffee root-knot nematode *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE.UU.)* 25(2):133-137.
- SOSA-MOSS, C. 1985. Report on the status of *Meloidogyne* research in Mexico, Central America and the Caribbean countries. In *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Biology and Control. Ed. by J.N. Sasser, C.C. Carter, N.C., EE.UU. v. 1, p. 327-346.
- TARJAN, A.C.; FREDERICK, J.J. 1978. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae*. *Journal of Nematology (EE.UU.)* 10(2):152-160.
- TAYLOR, D.P.; NETSCHER, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica (Holanda)* 20(2):268-269.
- TAYLOR, A.L. 1987. Identification and estimation of root-knot nematode species in mixed populations. Florida EE.UU., Department of Agriculture & Consumer Services Bulletin no. 12 73 p.
- WHITEHEAD, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Transactions of the Zoological Society of London (England)* 31:263-401.

Evaluación del Nivel de Resistencia Horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk et Br. en Germoplasma de *Coffea arabica* L. y Catimor¹

R Santacreo*

ABSTRACT

In order to determine the occurrence of horizontal resistance in progenies of *Coffea arabica* and the Catimor hybrid, two experiments were carried out at La Fe Experiment Station of the Instituto Hondureño del Café, Honduras. Nursery plants were inoculated, using a RCB design. In both trials, it was determined that a high disease intensity index and the start of the sporulation process were significantly correlated with the latent period (-0.70^* , 0.87^{**}) and (-0.82^* , 0.92^{**}); spores produced by leaves (0.84^* , -0.91^{**}) and (0.93^{**} , -0.95^{**}) and spores produced by pustule (0.70^* , -0.82^{**}) and (0.88^* , -0.94^{**}) respectively, by trial. These parameters are the best indicators of horizontal resistance. The methodology here presented was efficient to determine the occurrence of non-specific resistance in some cultivars like Dilla S. Alghe (Ethiopia), KP-532 (Tanzania), and some plants of Catimor T-8666 (33), which will permit the selection of parents in a hybridization program.

INTRODUCCION

La roya anaranjada (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) es la enfermedad más importante del cultivo del café y está diseminada en la mayoría de los países productores del grano.

El uso de fungicidas a base de cobre se ha generalizado en la mayoría de los países productores de café y constituye en la actualidad una medida de control aceptable, la cual, aplicada en forma adecuada, permite mantener los índices de infección de la enfermedad en niveles económicamente aceptables.

No obstante, si se acepta que la lucha química contra la roya es técnicamente posible, sin embargo, la topografía irregular y de difícil acceso en donde está ubicada la mayoría de las fincas de café, la escasez de fuentes de agua en las mismas, el alza cada vez mayor de los precios de los productos químicos, equipo de aspersión y la mano de obra, hacen que esta práctica sea generalmente difícil y costosa.

¹ Recibido para publicación el 31 de octubre 1989.

* Ingeniero Agrónomo, Programa de Resistencia a la Roya, IHCAFE, 1989 Apartado Postal 329, San Pedro Sula, Honduras.

COMPENDIO

Con la finalidad de identificar manifestaciones de resistencia horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk et Br., en plantas de vivero de progenies de *Coffea arabica* y de Catimor, se llevaron a cabo dos experimentos (1 y 2) en el Centro Experimental La Fe, del Instituto Hondureño del Café. Se usó un diseño de bloques al azar, con dos repeticiones, estando representado cada tratamiento por una planta a la cual se le inoculan dos hojas terminales, actuando cada hoja como una repetición. Cada hoja fue inoculada en el envés, colocando 10 gotas de 10 microlitros de una suspensión de esporas (70×10^6 y 42×10^6 esporas por litro, respectivamente, por ensayo) de roya entre las nervaduras con el auxilio de una micropipeta. En los experimentos 1 y 2 se constató que el índice de intensidad de la enfermedad y el inicio de la esporulación están significativa y altamente correlacionados con: el período de latencia (-0.70^* , 0.87^{**}) y (-0.82^* , 0.92^{**}), esporas producidas por hoja (0.84^* , -0.91^{**}) y (0.93^{**} , -0.95^{**}) y esporas producidas por pustula (0.70^* , -0.83^{**}) y (0.88^* , -0.94^{**}), respectivamente, por ensayo. Estos se consideran como los parámetros que mejor identifican la resistencia horizontal. La metodología utilizada permitió evidenciar la existencia de una resistencia no específica en ciertos cultivares: Dilla S. Alghe (Etiopía), KP-532 (Tanzania) y en algunas plantas Catimor T-8666 (3-3); este hallazgo permitirá la selección de progenitores sobresalientes en un programa de hibridación y de selección.

En *Coffea arabica*, la búsqueda de resistencia contra la roya es limitada, dada la uniformidad genética del germoplasma disponible. En el caso de *Coffea canephora*, la variabilidad genética de su población ha permitido encontrar diferentes genotipos que varían en cuanto a su grado de resistencia a la roya (1).

Con la aparición del Híbrido de Timor, el cual tiene resistencia al patógeno determinada por los factores SH6, SH7, SH8, SH9 y otros aún no identificados posiblemente asociados con genes de naturaleza poligénica provenientes de *C. canephora* las posibilidades de obtener material de buena calidad y características agronómicas con resistencia a la roya, a través de cruzamientos entre este híbrido y las variedades comerciales de *C. arabica*, fueron grandemente aumentadas (2).

Las perspectivas de la existencia de fuentes de resistencia horizontal (RH) en las poblaciones de Catimor (Caturra x Híbrido de Timor), hacen que este material sea valioso en los programas de mejoramiento.

to que buscan resistencia a *H. vastatrix*. Por tal razón, es de gran interés identificar segregantes por susceptibilidad a la raza II del patógeno, con manifestaciones de resistencia horizontal (1).

Las fuentes de resistencia utilizadas como material básico en los programas de mejoramiento de arábigos, han sido seleccionadas solamente hacia la resistencia vertical (RH). Con la finalidad de obtener una resistencia más estable, en los últimos años, los trabajos de mejoramiento se han orientado hacia la utilización de cruzamientos interespecíficos, el empleo de multilineas o cultivares compuestos y la identificación de fuentes de resistencia horizontal (6).

Para los cultivos perennes, las posibilidades de que la RV sea durable son muy escasas, por lo que la RV sólo deberá ser utilizada cuando ésta se presente asociada a la RH (Eskes, 1983, citado por Betten-court (3)).

Cuando se trata de una planta perenne, cultivada en extensas áreas que ofrecen condiciones permanentes para la ocurrencia de epifitias (10), la utilización de resistencia no específica podría considerarse como una forma de control genético más segura, porque reduce la posibilidad de que el hongo exprese su variabilidad con la aparición de nuevas razas fisiológicas del hongo (8).

La RH puede ocurrir sola o mezclada con la RV; en este último caso, la RH sólo puede ser cuantificada cuando se usan razas del patógeno a las que el hospedero sea susceptible. La RH se manifiesta en las plantas que la poseen por un menor número de lesiones o pústulas formadas, pústulas más pequeñas, mayor período de latencia y esporulación menos abundante (13).

Todos los tipos de resistencia caracterizados en el material estudiado, con aceptables características agronómicas a través del análisis de las interacciones hospedero-patógeno, tendrían en principio interés. No obstante, la preferencia deberá ser dada a las plantas que presentan resistencia incompleta de herencia poligénica, no específica, para las razas del patógeno (RH) (5).

Después de la difusión de la roya a Angola y a Brasil, las investigaciones se han dirigido a encontrar un método de evaluación de la resistencia cuantitativa en el número y tamaño de pústulas y en la formación de esporas, posiblemente de RH (4). En Brasil, se encontró que existe diferencia en cuanto al número de pústulas y área foliar con roya entre plantas del mismo grupo fisiológico (7).

El objetivo del presente estudio fue determinar una metodología que permita identificar manifestaciones de RH en plantas de progenies de *Coffea arabica* y de híbrido de *C. arabica* x H de Timor.

MATERIALES Y METODOS

Inóculo de Roya

Como inóculo se utilizó una mezcla, de esporas, probablemente de la raza II prevaleciente en Honduras (12), colectada en plantas susceptibles de la variedad Caturra en el Centro Experimental La Fe. A las hojas que presentaban pústulas esporuladas se les retiraron las uredosporas las cuales fueron pasadas por un tamiz de 100 mesh para librarlas de impurezas.

Las uredosporas se colectaron el mismo día de la inoculación y presentaban un poder germinativo no menor de 20%.

Progenies por evaluar

Se evaluaron plantas de vivero descendientes de progenies de *C. arabica* portadoras de factores simples de resistencia, las cuales forman parte de la colección varietal del Centro Experimental Las Lagunas, Marcala; y de la progenie Catimor T-8666 (3-3), del Centro Experimental La Fe, del Instituto Hondureño del Café, que han mostrado segregación para susceptibilidad en el campo; como testigo, se utilizaron plantas de la variedad Catuai (Cuadro 1). Las mismas se evaluaron en dos experimentos separados, en donde se varió la concentración de la suspensión de esporas utilizada en la inoculación.

Las plántulas fueron mantenidas en bolsas de polietileno (8 x 9 pulgadas) y se les dieron los cuidados fitosanitarios necesarios, pero sin aplicación de fungicidas.

Técnica de inoculación

Se utilizó una de las dos técnicas empleadas por Pinto Varzea, en 1985 (13) para evaluación de la RH, la cual consiste en utilizar hojas ligadas a la planta, con la variante de que la inoculación se hizo con una micropipeta en lugar de un atomizador de presión.

Las hojas se inoculan en el envés, colocando 10 gotas de 10 microlitros de una suspensión de esporas de roya entre las nervaduras, con el auxilio de una micropipeta.

Para uniformar la cantidad de inóculo por gota, la concentración de inóculo fue medida en número de esporas por unidad de volumen y no en término de peso.

Se evaluaron concentraciones de inóculo en experimentos separados: 70×10^6 esporas por litro (aproximadamente, 700 esporas/gota de $10 \mu\text{l}$ en el experimento 1) y 42×10^6 esporas por litro (aproximadamente, 420 esporas/gota de $10 \mu\text{l}$ en el experimento 2). Para facilitar la dispersión de las esporas, la suspensión se mantuvo en agitación constante en el momento de la inoculación.

Dada la disponibilidad de plantas de vivero de 4-5 meses de edad, que permitieran utilizar un mayor número de hojas aptas para inocular, en esta primera experiencia se inocularon dos hojas nuevas de textura suave al tacto del primer par terminal por planta. Se consideró a cada hoja como una repetición; las hojas se identificaron con una etiqueta con el número de hoja y la fecha de inoculación para efecto de las lecturas de los diferentes parámetros por evaluar.

Después de la inoculación, las hojas fueron pulverizadas con agua destilada y las plantas colocadas dentro de cámaras de incubación (cámaras húmedas), con una temperatura entre $21-22^\circ\text{C}$, en ausencia de luz, donde permanecieron por 48 horas. Luego, fueron retiradas de la cámara y se esperó hasta que el agua de las gotas de inóculo se evaporara; en seguida, fueron trasladadas a una caseta de paredes de tela metálica y techo de zinc donde permanecieron bajo la influencia de la temperatura ambiental, en un ambiente húmedo, protegidas de la acción directa de los rayos solares y de la lluvia.

Parámetros utilizados para la cuantificación de la resistencia horizontal. Período de incubación: el número de días entre la inoculación y la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad (pequeñas clorosis).

Frecuencia de infección (%)

$$= \frac{\text{No. de infecciones} \times 100}{\text{No. gotas de inóculo}}$$

Inicio de la esporulación: el número de días comprendido entre la inoculación y el apareamiento de las primeras esporas.

Período de latencia: el número de días desde la inoculación, hasta que la esporulación ocurra en el 50% de las lesiones observadas. En los casos en que no se verifique la esporulación de todas las lesiones, el período de latencia será calculado en relación al número de lesiones esporulantes y no en relación al número total de lesiones visibles.

$$\text{Clorosis esporulantes (\%)} = \frac{\text{No. de pústulas} \times 100}{\text{No. de clorosis}}$$

Dimensión de la lesión: evaluada al final de cada ensayo, según una escala arbitraria de 1 a 3, propuesta por Pinto Varzea (13), conforme a la dimensión de la lesión si ésta se presenta menor; igual o mayor que la gota de inóculo, de aproximadamente 4 mm de diámetro.

Esporas producidas por hoja (E/H): se determinó raspando y retirando con un escalpelo las esporas de todas las pústulas de cada hoja y luego suspendidas en una solución acuosa que contenía 43.1% de glicerol y Tween 5 a 20% (V/V), según el método utilizado por Pinto Varzea (13); esta solución tiene un peso específico aproximadamente igual al peso de las esporas de roya.

La suspensión se agitó durante algunos minutos y el número medio de esporas por pústula fue determinado a partir de recuentos realizados al microscopio, en varias muestras de esa suspensión en gotas de $3\mu\text{l}$. La cantidad media de esporas existente en esas gotas fue relacionada al volumen inicial de la suspensión.

Esporas producidas por pústula (E/P): conocido el total de esporas producidas en cada hoja y el número de pústulas por hoja se estimó el número de esporas por pústula mediante la siguiente relación:

$$E/P = \frac{\text{No. esporas por hoja}}{\text{No. lesiones esporulantes por hoja}}$$

Índice de intensidad de la enfermedad (IIE):

Este índice permite, según Leguizamón (9), una representación dinámica de la enfermedad a lo largo del tiempo y es calculado a través de la fórmula:

$$\sum i \frac{\text{ini}}{7 \times n} \quad \text{en la cual:}$$

n = Número total de inoculaciones por hoja.
 n_i = Número de lesiones correspondientes al grado i .
 i = Valor de 0 a 7 correspondiente a la siguiente escala cuantitativa de los tipos de lesión:

- 0 = ausencia de lesiones visibles
- 1 = apareamiento de pequeñas clorosis.
- 2 = aumento de la superficie de las pequeñas clorosis con decoloración más pronunciada
- 3 = conjunto de pequeñas clorosis con tendencia a la coalescencia e intensificación de la decoloración
- 4 = aparición de las primeras esporas.
- 5 = esporulación inferior al 25% de la superficie de la mancha clorótica.

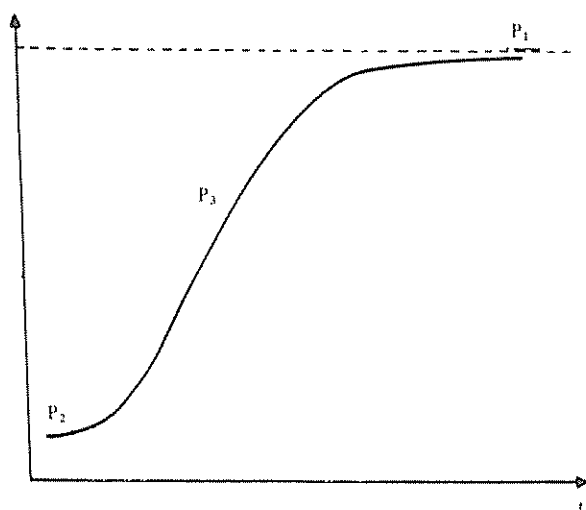
- 6 = esporulación entre el 25 y 50% de la superficie de la mancha clorótica.
 7 = esporulación superior al 50% de la superficie de la mancha clorótica

Este índice presenta tres componentes: P1, P2, P3, representados en la Fig 1

Según Leguizamón (9), la asíntota superior (P1) fue estimada con una sensibilidad doble que la de los otros dos componentes (P2 y P3). Asimismo, los coeficientes de correlación comparando varios índices de intensidad de la enfermedad, han mostrado diferencias significativas solamente al nivel de los valores de P1 (9, 13); por lo anterior, se trabajó únicamente con el componente P1.

Todos los parámetros mencionados fueron determinados individualmente para cada hoja, mediante observaciones regulares en cada lesión

Diseño Experimental: se utilizó de bloques al azar con dos repeticiones dada la disponibilidad de hojas aptas para inocular por planta, con la finalidad de uniformizar la edad de las hojas por inocular. Cada tratamiento estuvo representado por una planta, a la cual se inocularon dos hojas terminales considerando cada hoja como una repetición; los experimentos tuvieron una duración de 62 días.



- P1: Asíntota superior.
 P2: Índice de precocidad.
 P3: Índice de rapidez en la evolución.

Fig 1. Índice de intensidad de la enfermedad (IIE)

RESULTADOS Y DISCUSION

Experimento 1

En el Cuadro 2 se presentan los promedios transformados para el análisis estadístico y su correspondiente clasificación, según la prueba de Duncan al 5%, de los diferentes parámetros cuantificadores de la resistencia horizontal. En la Fig 2 se presenta el índice de intensidad de la enfermedad.

Periodo de incubación: la prueba de F para este parámetro no se efectuó ya que sólo puede ser determinada en relación al número de horas y no al número de días, tal como se registró. No obstante, comparativamente, se pudo establecer que el período de incubación más corto correspondió al testigo Catuaí (15 días) seguido de las plantas BA-10-CRRC y LCP-381 (19 días); las plantas Dilla S. Alghe y los Catimores CT-358, CT-272 y CT-423 registraron los períodos de incubación más largos, con 21 días

Frecuencia de infección: el análisis de varianza señaló diferencias significativas entre las plantas evaluadas. El testigo Catuaí registró el mayor número de infecciones, no difiriendo estadísticamente de las plantas LCP-381 y BA-10-CRRC, pero sí, de las plantas Dilla S. Alghe y de los Catimores CT-358, CT-272 y CT-423 que observaron valores significativamente menores, según la prueba de Duncan.

Inicio de la esporulación: en análisis de varianza dio diferencias altamente significativas entre plantas evaluadas; no obstante, para este parámetro, al igual que para las otras variables relacionadas con la presencia de esporas en las lesiones: período de latencia, clorosis esporulada, esporas/hoja y esporas/pústula, las plantas de Catimor incluidas en el estudio CT-358, CT-272 y CT-423, no se registraron valores dada la ausencia de esporulación. Se observaron únicamente reacciones de hipersensibilidad (lesiones sin esporular) y fue evidente que estos materiales son muy diferentes a las otras plantas que, en menor o mayor grado, llegaron a esporular. Se les considera materiales portadores de resistencia vertical, sin descartar la posibilidad de estar asociada con resistencia horizontal. Entre los tratamientos que sí registraron el inicio de la esporulación, las plantas LCP-381 y Dilla S. Alghe mostraron los valores más altos; esta última necesitó 40 y 5 días para iniciar la esporulación difiriendo significativamente del BA-10-CRRC y del testigo Catuaí, cuyo inicio de la esporulación tuvo lugar a los 34 y 31 días, respectivamente, después de la inoculación

Periodo de latencia: las plantas de Catimor no permitieron al patógeno expresar el período de latencia. No obstante, el análisis de varianza mostró diferencias

Cuadro 1. Ensayos comparativos realizados para el estudio de la resistencia horizontal en plantas de *C. arabica* a *H vastatrix*, utilizando la técnica de hoja ligada a la planta.

Ensayo	Fecha	Plantas a cultivar	Temperaturas medias °C		
			Max.	Med.	Min.
1	21-12-88	Catimor I-8666(3-3)-358 Catimor I-8666(3-3)-272 Catimor I-8666(3-)-423 LCP-381-1 Dilla S. Alghe-1 BA-10-CRRC-1 Catuai	25.64	20.86	16.09
2	21-12-88	Catimor I-8666(3-3)-417 Catimor I-8666(3-3)-364 Catimor I-8666(3-3)-270 Catimor I-8666(3-3)-210 KP-532-1 Catuai	25.64	20.86	16.09

altamente significativas entre tratamientos; la prueba de Duncan no registró diferencias entre las plantas que sí expresaron su periodo de latencia. Sin embargo, comparativamente se observó que el periodo de latencia fue 11 y 13 días mayor, respectivamente, para las plantas LCP-381 y Dilla S. Alghe en comparación con el testigo Catuai. La planta BA-10-CRRC registró un periodo de latencia ligeramente mayor al testigo.

Clorosis esporuladas: la ausencia de esporulación en las plantas de Catimor no permitió registrarles valores para este parámetro. El resto de las plantas sí mostró diferentes porcentajes de lesiones esporulando (pústulas), con diferencias altamente significativas según el análisis de varianza. El Dilla S. Alghe mostró el menor valor difiriendo estadísticamente de las plantas LCP-381, BA-10-CRRC y el testigo Catuai.

Dimensión de la lesión: el análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas para el tamaño de lesión entre tratamientos. Las plantas de Catimor CT-358, CT-272, CT-423 y Dilla S. Alghe observaron las lesiones más pequeñas y difirieron estadísticamente del LCP-381 y del Catuai, según la prueba de Duncan.

Esporas producidas por hoja: el análisis de varianza registró diferencias altamente significativas entre tratamientos. Las plantas de Catimor no registraron esporas por hoja. Entre las plantas que llegaron a esporular, Dilla S. Alghe y LCP-381 registraron los menores valores de esporas producidas por hoja, lo cual es un indicativo de mayores niveles de resistencia hori-

zontal, en comparación con BA-10-CRRC y el testigo Catuai, que se pueden considerar como bastantes susceptibles.

Esporas producidas por pústula: las plantas de Catimor tampoco registraron valores de esporas por pústula. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas. Entre las que presentaron esporulación, se observó que Dilla S. Alghe y LCP-381 tuvieron el menor número de esporas producidas por pústula y mostraron poca susceptibilidad, en comparación con BA-10-CRRC y Catuai, que son bastante susceptibles.

Índice de intensidad de la enfermedad (IIE): el análisis de varianza dio diferencias altamente significa-

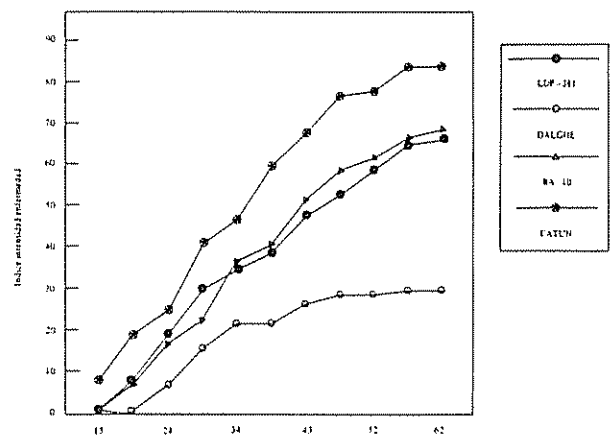


Fig. 2. Índice de intensidad de la enfermedad.

tivas entre las plantas analizadas. Las plantas Catimor CT-358, CT-272 y CT-423 (que no llegaron a esporular) y la planta Dilla S. Alge registraron los menores valores de IIE (0.29, 0.25, 0.29 y 0.30) y difirieron estadísticamente de las plantas LCP-381, BA-10-CRRC y Catuai, con 0.66, 0.68 y 0.84, respectivamente, según Duncan al 5% de probabilidad.

Experimento 2

En el Cuadro 3 se presentan los promedios transformados para análisis estadístico y su correspondiente clasificación, según la prueba de Duncan al 5% de los diferentes parámetros cuantificadores de la resistencia horizontal. En la Fig. 3 se presenta el índice de intensidad de la enfermedad.

Período de incubación: al igual que en el Experimento 1, la prueba de F para este parámetro sólo puede ser determinada en relación con el número de horas y no al número de días, lo cual coincide con lo informado por Pinto Varzea (13).

Sin embargo, al comparar las medias, se pudo establecer que el período de incubación más corto correspondió al testigo Catuai (15 días) seguido por la planta CT-364 (19 días); las plantas CT-417, CT-270, CT-210 y KP-532 registraron los períodos de incubación más largos, con 21 días.

Frecuencia de infección: el análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, se observó que el testigo Catuai y la

planta Catimor CT-364 registraron el mayor número de infecciones, en comparación con el resto de las plantas evaluadas.

Inicio de la esporulación: el análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas entre tratamientos. Asimismo, para las otras variables relacionadas con la presencia de esporas en las lesiones, tres de las plantas de Catimor (CT-364, CT-270 y CT-210), no registraron valores dada la ausencia de esporulación. Se observaron reacciones de hipersensibilidad (lesiones sin esporas), lo cual indica que estas tres plantas son portadoras de resistencia vertical, sin eliminar la posibilidad de asociación con resistencia horizontal.

Las plantas KP-532 y Catimor CT-417 mostraron los valores más altos; necesitaron, respectivamente, 38.5 y 42 días para iniciar la esporulación difiriendo ambas significativamente del Catuai, el cual inició su esporulación a los 29 días después de la inoculación.

Período de latencia: en análisis de varianza dio diferencias altamente significativas entre tratamientos. Los Catimores CT-364, CT-270 y CT-210 no permitieron al patógeno expresar el período de latencia, con excepción de Catimor CT-417 el cual observó el período de latencia más largo con 48 días, seguido de KP-532 con 42 días, difirieron ambos de Catuai, con 34 días, según la prueba de Duncan al 5%.

Clorosis esporuladas: la ausencia de lesiones esporuladas (pústulas) en las plantas Catimor CT-364,

Cuadro 2. Análisis comparativo por la prueba de F y la prueba de medias de Duncan al 5% de varios parámetros cuantificadores de la resistencia horizontal en el Experimento 1. Período comprendido del 4-1-89 al 20-2-89. IHCAFE, 1989.

Plantas	Período de incubación (días)	Frecuencia de infección (%) ^a	Inicio de la esporulación (días)	Período de latencia (días)	Clorosis esporuladas (%) ^b	Dimensión de la lesión (mm) ^c	Esporas Prod. por hoja (No.)	Esporas Prod. por pústula (No.)	Índice de intensidad de la enferm. ^d
CT-358	21	57.09 c	0.0d	0.0b	0.0b	1.36cd	0.0 c	0.0 b	0.20 b
CT-272	21	53.77 c	0.0d	0.0b	0.0b	1.00d	0.0 c	0.0 b	0.25 b
CT-423	21	64.17 bc	0.0d	0.0b	0.0b	1.00d	0.0 c	0.0 b	0.29 b
LCP-381	19	80.78 ab	38.5ab	48.5a	70.38 a	2.33ab	64.553 b	8.512 b	0.66 a
Dilla S. Alge	21	60.10 bc	40.5a	50.0a	15.00 b	1.34cd	10.443 c	5.221 b	0.30 b
BA-10-CRRC	19	71.56 abc	34.0bc	41.0a	58.29 a	2.10bc	189.000 a	29.468 a	0.68 a
Catuai	15	90.00 a	31.0c	37.0a	67.49 a	2.90a	208.000 a	24.351 a	0.84 a
Prueba de F. ^e		*	**	**	**	**	**	**	**
CV		11.95	9.92	27.97	48.24	17.80	29.20	45.03	6.01

a Los promedios seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Duncan al 5%.

b Transformación ARC SEN $\sqrt{\%}$

c Escala arbitraria del 1-3: 1 < 4 mm, 2-4 mm, 3 > 4 mm

d Valor asíntota superior (P₁)

e La prueba de F para este parámetro solo puede ser determinado en relación al número de horas y no al número de días

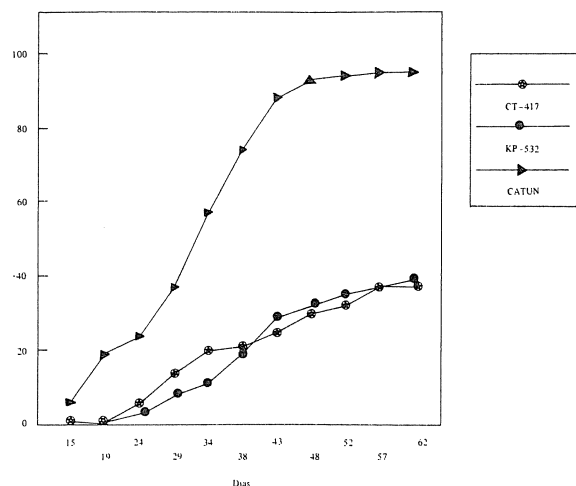


Fig. 3. Índice de intensidad de la enfermedad.

CT-270 y CT-210, no permitió el registro de valores para este parámetro. El resto de las plantas mostró porcentajes diferentes de pústulas con diferencias altamente significativas, según el análisis de varianza. Catimor CT-417 mostró el menor valor y difirió estadísticamente de KP-532 y de Catuaí (testigo), según la prueba de Duncan al 5%.

Dimensión de la lesión: el análisis de varianza dio diferencias altamente significativas para el tamaño de lesión entre tratamientos. Los Catimores CT-364, CT-270, y CT-210 presentaron los tamaños de lesión más pequeños y difirieron estadísticamente de Catimor CT-417, de KP-532 y de Catuaí, según la prueba de Duncan.

Esporas producidas por hoja: el análisis de varianza registró diferencias altamente significativas entre tratamientos. Las plantas de Catimor CT-364, CT-270 y CT-210, al presentar únicamente reacciones de hipersensibilidad (flecks), no registraron esporas por hoja. Entre las plantas que mostraron esporulación, Catimor CT-417 y KP-532 mostraron los menores valores de esporas producidas por hoja y presentaron poca susceptibilidad en comparación a Catuaí (testigo); existen diferencias estadísticas entre ellas, según la prueba de Duncan al 5%.

Esporas producidas por pústula: los Catimores CT-364, CT-270 y CT-210 tampoco registraron valores de esporas por pústula, por lo anteriormente explicado. Diferencias altamente significativas entre las plantas fueron dadas por el análisis de varianza. Entre las plantas que mostraron esporulación, nuevamente Catimor CT-417 y KP-532 registraron el menor número de esporas por pústula y se consideran resistentes, en comparación a Catuaí, que es altamente susceptible.

Índice de intensidad de la enfermedad: el análisis de varianza dio diferencias altamente significativas para el IIE entre las plantas analizadas. Las plantas Catimor CT-364, CT-270 y CT-210 (que no esporularon), conjuntamente con la planta Catimor CT-417 y KP-532, registraron los valores más bajos de IIE (0.35, 0.18, 0.09, 0.36 y 0.39, respectivamente) y difirieron estadísticamente de Catuaí, según la prueba de Duncan (Fig. 3).

Análisis de correlación: los coeficientes de correlación determinados para los diversos criterios de

Cuadro 3. Análisis comparativo por la prueba de F y la prueba de medias de Duncan al 5% de varios parámetros cuantificadores de la resistencia horizontal en el Experimento 2. Período comprendido del 4-1-89 al 20-2-89. IHCAFE, 1989.

Plantas	Período de incubación (días)	Frecuencia de infección (%) ^a	Inicio de la esporulación (días)	Período de latencia (días)	Clorosis esporuladas (%) ^b	Dimensión de la lesión (mm) ^c	Esporas Prod. por hoja (No.)	Esporas Prod. por pústula (No.)	Índice de intensidad de la enferm. ^d
CT-417	21	48.32	42.0 a	48.0 a	57.36 b	2.14 ab	26.220 c	7.887 c	0.36 b
CT-364	19	73.39	0.0 c	0.0 d	0.0 c	1.55 bc	0.0 c	0.0 d	0.35 b
CT-270	21	45.00	0.0 c	0.0 d	0.0 c	1.00 c	0.0 c	0.0 d	0.18 b
CT-210	21	36.22	0.0 c	0.0 d	0.0 c	1.00 c	0.0 c	0.0 d	0.09 b
KP-532	21	41.98	38.5 a	42.0 b	77.95 a	2.50 a	72.666 b	18.667 b	0.39 b
Catuaí	15	90.00	29.0 b	34.0 c	80.78 a	2.85 a	635.666 a	67.007 a	0.94 a
Prueba de F. ^e		NS	**	**	**	**	**	**	**
CV		27.32	9.09	2.79	20.92	17.05	10.17	14.82	33.85

a Los promedios seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Duncan al 5%.

b Transformación $ARC.SEN \sqrt{\%}$.

c Escala arbitraria del 1-3: 1 < 4 mm, 2 = 4 mm, 3 > 4 mm.

d Valor de la asíntota superior (P_s).

e La prueba de F. para este parámetro solo puede ser determinada en relación al número de días.

apreciación de la resistencia horizontal se presentan en los Cuadros 4 y 5, respectivamente, para los Experimentos 1 y 2. En los parámetros relacionados con la presencia de esporas en las lesiones, únicamente se incluyeron las medias de las plantas que esporularon para realizar las correlaciones entre sí y con los otros parámetros.

En el Cuadro 4 se puede observar que en el Experimento 1, únicamente el "índice de intensidad de la enfermedad" se correlacionó con todos los parámetros seguido del "inicio de la esporulación" que no mostró correlación con el parámetro "frecuencia de infección"

Asimismo, se constató que ambos parámetros están significativa y altamente correlacionados con los parámetros "periodo de latencia", (-0.70^* y 0.87^{**}), esporas producidas por hoja (0.84^{**} y -0.91^{**}) y "esporas producidas por pústula" (0.70^* y -0.83^{**}).

En el Experimento 2 se observa que también el "índice de intensidad de la enfermedad" fue el único que se correlacionó con todos los parámetros, excepto con el parámetro "clorosis esporulada" seguido por "inicio de la esporulación", "esporas producidas por hoja" y "esporas producidas por pústula" los cuales únicamente no mostraron correlación con los parámetros "clorosis esporulada" y "dimensión de la lesión". Nuevamente se constató la alta y significativa correlación entre el "índice de intensidad de la enfermedad" y el "inicio de la esporulación" con los parámetros "periodo de latencia" (-0.82^* y 0.92^*), "es-

poras producidas por hoja" (0.93^{**} y -0.95^{**}) y "esporas producidas por pústula" (0.88^* y -0.94^{**}).

DISCUSION

Con base en los resultados obtenidos, se puede afirmar que la metodología utilizada permitió identificar varios niveles de resistencia horizontal en plantas de *C. arabica* y de Catimor Asimismo, se pudo evidenciar que la metodología permite identificar materiales que muestran largos periodos de latencia. En cuanto a las concentraciones de inóculo utilizadas en los ensayos, éstas permitieron lograr suficiente infección para evaluar los distintos parámetros; no se pudo establecer diferencias visuales entre concentraciones, lo cual debe ser objeto de estudios posteriores dirigidos a uniformizar la concentración de inóculo por utilizar en estos trabajos, así como otras técnicas complementarias.

En cuanto a los niveles de resistencia horizontal observados en el Experimento 1, las plantas LCP-381 y especialmente Dilla S. Alghe (Etiopía), mostraron los indicativos de mayores niveles de resistencia horizontal, evidenciada particularmente por los parámetros: inicio de esporulación, esporas producidas por hoja y esporas producidas por pústula; en comparación a BA-10-CRRC y al testigo Catuai que se consideran bastantes susceptibles. Es de interés señalar que la planta Dilla S. Alghe mostró pocas pústulas, con escasa esporulación combinada con reacciones de hipersensibilidad, lo cual indica que la resistencia horizontal puede estar asociada con reacciones de resistencia vertical

Cuadro 4. Coeficientes de correlación entre varios parámetros utilizados en la determinación de la resistencia horizontal de las plantas CI-358, CI-272, CI-423, LCP-381, Dilla S. Alghe, BA-10-CRRC y Catuai en el Experimento 1. IHCAFE, 1989^a.

	Periodo de incubación (días)	Frecuencia infección (%)	Inicio de la esporulación (días)	Periodo de latencia (días)	Clorosis esporuladas (%)	Dimensión de la lesión (mm)	Esporas Prod. por hoja (No.)	Esporas Prod. por pústula (No.)
Frecuencia de infección	-0.84**							
Inicio de la esporulación	0.81*	-0.53 NS						
Periodo de latencia	0.56 NS	-0.42 NS	0.87**					
Clorosis esporuladas	-0.60 NS	0.59 NS	-0.70*	-0.62 NS				
Dimensión de la lesión	-0.89**	0.85**	-0.84**	-0.71*	0.89**			
Esporas Prod. por roya	-0.77*	0.55 NS	-0.91**	-0.69 NS	0.61 NS	0.74*		
Esporas Prod. por pústula	-0.56 NS	0.39 NS	-0.83**	-0.73*	0.49 NS	0.57 NS	0.93**	
Índice de intensidad de la enfermedad	-0.89**	0.86**	-0.86**	-0.70*	0.90**	0.96**	0.84**	0.70*

* Significativo al 5% de probabilidad

** Significativo al 1% de probabilidad

NS No significativo.

a En los parámetros relacionados con la presencia de esporas en las lesiones, únicamente se incluyeron las medias de las plantas que esporularon, para realizar las correlaciones entre sí y con los otros parámetros

Cuadro 5. Coeficientes de correlación entre varios parámetros utilizados en la determinación de la resistencia horizontal de las plantas CT-417, CT-364, CT-270, CT-210, KP-532 y Catuaí en el Experimento 2. IHCAFE, 1989^a.

	Período de incubación (días)	Frecuencia infección (%)	Inicio de la esporulación (días)	Período de latencia (días)	Clorosis esporuladas (%)	Dimensión de la lesión (mm)	Esporas Prod. por hoja (No.)	Esporas Prod. por pústula (No.)
Frecuencia de infección	-0.84**							
Inicio de la esporulación	0.93**	-0.90*						
Período de latencia	0.90*	-0.74 NS	0.92**					
Clorosis esporuladas	-0.45 NS	0.27 NS	-0.46 NS	-0.72 NS				
Dimensión de la lesión	-0.55 NS	0.45 NS	-0.49 NS	-0.76 NS	0.88**			
Esporas producidas por hojas	-0.98**	0.89*	-0.95**	-0.92**	0.49 NS	0.61 NS		
Esporas producidas por pústulas	-0.98**	0.83*	-0.94**	-0.96**	0.55 NS	0.66 NS	0.99**	
Índice de intensidad de la Enfermedad (IIE)	-0.87**	0.84**	-0.95**	-0.82*	0.38 NS	0.77*	0.93**	0.88**

* Significativo al 5% de probabilidad.

** Significativo al 1% de probabilidad

NS No significativo

a En los parámetros relacionados con la presencia de esporas en las lesiones únicamente se incluyeron las medias de las plantas que esporularon, para realizar las correlaciones entre sí y con los otros parámetros.

En el Experimento 2, fueron las plantas Catimor CT-417 y KP-532 las que mostraron los mayores indicativos de niveles de resistencia horizontal, evidenciada especialmente por los parámetros: período de latencia, inicio de esporulación, esporas producidas por hoja, esporas producidas por pústula e índice de intensidad de la enfermedad.

Como Catimor es uno de los materiales más avanzados, con varios años de estudio y con posibilidades de poder seleccionar dentro del material promisorio, la identificación de una planta de Catimor (segregante) la cual muestra indicativos de resistencia horizontal, es de gran interés. Este hecho podría indicar una eventual pérdida de la resistencia vertical en Catimor, con cierta seguridad una vez que se utilicen plantas con elevado grado de resistencia horizontal, tal como la manifiesta Pinto Varzea en su estudio en 1985 (13).

El resto de las plantas Catimor T-8666 (3-3) evaluadas no llegó a esporular y esas plantas presentaron reacciones de hipersensibilidad (flecks), por lo que se deduce que poseen resistencia vertical, sin descartar la posibilidad de que pueda estar asociada con resistencia horizontal.

El estudio de correlación mostró que los parámetros: índice de intensidad de la enfermedad e inicio de la esporulación, se correlacionaron alta y significativamente con la mayoría de los parámetros, especifi-

camente con el período de latencia, esporas producidas por hoja y esporas producidas por pústula, por lo que se les considera como los parámetros que mejor identifican la resistencia horizontal.

El estudio del material genético existente en Honduras para encontrar resistencia horizontal recién se ha iniciado; sin embargo, ha permitido evidenciar la existencia de una resistencia no específica muy marcada en ciertos cultivares provenientes de Etiopía (Dilla S. Alghe), Tanzania (KP-532) y en algunas plantas Catimor (T-8666(3-3)); estos materiales constituyen una valiosa fuente de resistencia que podría utilizarse, a través de hibridación con las variedades comerciales.

CONCLUSIONES

1. La metodología utilizada en este estudio permitió identificar varios niveles de resistencia horizontal en plantas de *C. arabica* y de Catimor.
2. El índice de intensidad de la enfermedad y el inicio de la esporulación se correlacionaron alta y significativamente con la mayoría de los parámetros, especialmente con el período de latencia, esporas producidas por hoja y esporas producidas por pústula; se considera que estos parámetros son los que mejor identifican la resistencia horizontal en plantas de *Coffea* sp.

3. Se pudo evidenciar la existencia de una resistencia no específica muy marcada, en ciertos cultivares provenientes de Etiopía (Dilla S. Alghe), Tanzania (KP-532) y en algunas plantas Catimor (T-8666)

(3-3); estos materiales representan una valiosa fuente de resistencia que podrían utilizarse por hibridación con las variedades comerciales.

LITERATURA CITADA

- 1 ALMEIDA, C.L. 1980. Resistencia vertical e horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk et Br em gerações F4 e F5 de progenies de cafeeiro Catimor. Tese de Mestrado em Fitopatologia. Universidad Federal de Viçosa. 38 p.
- 2 BETTENCOURI, A.J. 1981. Melhoramento genético do cafeeiro. Transferencia de factores de resistencia a *Hemileia vastatrix* Berk et Br., para as principais cultivares de *Coffea arabica* L. Lisboa. 93 p.
3. BETTENCOURI, A.M. 1983. La resistencia de los agentes patogénicos en el mejoramiento genético de las plantas. Trad. del portugués por J.H. Echeverri. Turrialba, C.R., IICA. 24 p.
- 4 BETTENCOURI, A.J. 1976. Avaliação de resistencia a *Hemileia vastatrix* no melhoramento genético de *Coffea arabica*. In Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (4., Rio de Janeiro, Bra.) Resumos Rio de Janeiro, Bra. p. 274-276.
5. BETTENCOURI, A.J. 1983. Características agronómicas de selecciones derivadas de cruzamientos entre híbrido de trimor e las variedades Caturra, Villa Sarchi e Catuai. Simposio sobre ferrugens do cafeeiro, Oeiras, 17-20 octubre. 20 p.
6. CADENA, G.G.; BURITICA, P.C. 1980. Expresión de resistencia horizontal a la roya (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) en *Coffea canephora* variedad Conilon. Centro Nacional de Investigaciones en Café 31(1): 27.
7. COSTA, W.M.; RIBEIRO, I.J.A. 1975. Resistencia a *Hemileia vastatrix* observada en el café Icatú. In Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (3., Rio de Janeiro, Bra.). Resumos Rio de Janeiro, Bra. 113 p.
8. FONSECA, S.E.A. 1979. Resistencia não específica em cultivares de *Coffea arabica* L. e progenies de Catimor a razas de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. Teses de Mestrado em Fitopatologia. Universidad Federal de Viçosa. 38 p.
9. LEGUIZAMON, J.C.; LOIODE, R.; BIEYSEE, D.; MULLER, R.A. 1983. Contribución al estudio de la resistencia parcial del café a *Hemileia vastatrix* Berk y Br. IICA-PROMECAFE, MRE/CODEV/IRCC. Serie Publicaciones Misceláneas no. 458. 24 p.
10. MONACO, L.C.; CARVALHO, A. 1975. Resistencia a *Hemileia vastatrix* no melhoramento do cafeeiro. Ciencia e Cultura 27(10):1 070-1 081.
11. RODRIGUEZ, C.J.; BETTENCOURI, A.J.; RIJO, L. 1975. Razas del patógeno y resistencia a la roya del café. Trad. del inglés. Turrialba, C.R., IICA. 32 p.
12. SANTACREO, R. 1987. Determinación de la raza II de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. procedente de Honduras. Informe Técnico mecanografiado de parte del entrenamiento en el CIFC. 10 p.
13. VARZEA, V.M.P. 1985. Avaliação do nível de resistencia horizontal em *Hemileia vastatrix* en plantas de *Coffea arabica*. Relatório de actividade do aluno estagiario do curso de Engenheiro Agronomo. Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. 79 p.

Evaluación del Equipo de Aspersión Motorizado de Espalda, a Bajo Volumen, en el Combate de la Broca del Fruto del Cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferr.) en Guatemala¹

E. Carrillo*, H. Ochoa**, B. Decazy***

ABSTRACT

The study was carried out in a coffee crop of the Catimor I-5269 variety, in August 1988 on the Conchita Farm in the San Francisco Zapotitlán District, Guatemala, with the purpose of determining the effect of a reduced volume of insecticide/water mixture on the mortality of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Ferr.). It was applied with a motorized knapsack sprayer (Solo Port 423 brand), to which was adapted a device allowing low volumes. Four different volumes of pesticide/water mixture were evaluated, along with a control treatment. The insecticide used was endosulfan (35 Thiodan EC) at a rate of 1.7 l/ha. Data were recorded before the application and at 7, 14, 28 and 42 days after it, by sampling fruits bored; the number of live and dead larvae and adults of the coffee borer insect were counted. It appears possible to reduce the quantity of water in the mixture with the pesticide without reducing the efficiency of the control. It was found that with 119.5 l/ha the control level was similar to the treatment that applied 401.5 l/ha.

INTRODUCCION

El combate químico de la broca del fruto del cafeto, *Hypothenemus hampei* Ferr., se realiza actualmente en Guatemala con el insecticida endosulfán mediante aplicaciones a alto volumen, utilizando de 200 a 420 litros de mezcla de insecticida, más agua, por manzana (286 – 600 litros por hectárea) con aspersora manual o motorizada de espalda. Este sistema representa un incremento en los costos de operación debido a la mano de obra utilizada. Además, en algunas zonas cafetaleras, el agua es escasa y a veces debe ser transportada de lugares muy distantes lo cual representa una carga financiera adicional para el caficultor.

Con base en el interés por los aspectos anotados, se planteó, como objetivo principal para el presente

¹ Recibido para publicación el 31 de octubre 1989.

* Entomólogo, Departamento de Investigaciones en Café-ANACAFE, Guatemala

** Técnico Investigador, Departamento de Investigaciones en Café-ANACAFI E.

*** Entomólogo del Instituto Francés de Investigaciones en Café y Cacao-IRCC/PROMECAFE/ANACAFI E.

COMPENDIO

El presente estudio se desarrolló en un cafetal de la variedad Catimor I-5269, en agosto de 1988, en el municipio de San Francisco Zapotitlán, departamento de Suchitupéquez, República de Guatemala, con el fin de determinar el efecto de la reducción del volumen de mezcla (insecticida + agua) sobre la mortalidad de las poblaciones de la broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei*, Ferr.). Se utilizó una aspersora motorizada de espalda, marca Solo Port 423, a la cual se le acopló un equipo de dosificación de bajo volumen. Se evaluaron cuatro diferentes volúmenes de mezcla y un testigo sin aplicación. El insecticida utilizado fue endosulfán (Thiodan 35 EC) con una dosis única de 1.2 litros por manzana (1.7 litros por hectárea). Previo a la aplicación del endosulfán y a los 7, 14, 28 y 42 días después de esta misma, se hicieron muestreos de frutos perforados y luego se hizo el recuento de las poblaciones de brocas vivas y muertas (larvas y adultos). Se encontró que es factible reducir la cantidad de agua para la mezcla con el insecticida y al mismo tiempo conservar la misma eficiencia del producto, ya que 83.5 litros por manzana (119.5 litros por hectárea), aplicados con un distribuidor de dosificación de diámetro 0.8 milímetros, tienen la misma efectividad sobre la broca del fruto del cafeto que el volumen normal (alto volumen) de 280.6 litros por manzana (401.5 litros por hectárea), utilizando la misma dosis de ingrediente activo por unidad de superficie.

estudio, determinar el efecto de la reducción del volumen de mezcla (insecticida + agua) sobre la mortalidad de las poblaciones de *H. hampei*.

Revisión de la literatura

Hernández y Penagos (3) evaluaron el sistema de aplicación de bajo volumen en el combate químico de la broca del fruto del cafeto, utilizando una aspersora motorizada de espalda marca Hudson y el insecticida endosulfán (Thiodan 35 EC). Los resultados obtenidos en este estudio, con un solo volumen de mezcla de 22.2 litros por manzana (31.7 litros por hectárea) fueron de 95 por ciento; 100 por ciento y 100 por ciento de mortalidad de brocas en estado adulto, a los 3, 8, y 15 días después de la aplicación del endosulfán, respectivamente.

Ferreira *et al.*, (1, 2) también demostraron la eficiencia del sistema de aplicación a medio volumen

(200 litros por hectárea) y bajo volumen (20 litros por hectárea) en el combate de *H. hampei*, a través de estudios realizados en Brasil, utilizando los insecticidas endosulfán y lindano, y como variable de evaluación el porcentaje de infestación contabilizando los frutos perforados.

Ochoa y Decazy (4), en un estudio preliminar de la eficiencia del sistema a bajo volumen en el combate químico de *H. hampei*, utilizaron una aspersora motorizada de espalda marca Solo Port 423, a la cual le acoplaron un equipo de dosificación de bajo volumen que presenta un distribuidor de dosificación (placa de metal con cuatro orificios de diámetro diferente). Los tratamientos evaluados corresponden a los cuatro orificios que posee el distribuidor de dosificación (0.5, 0.8, 1.0 y 1.2 milímetros de diámetro), lo cual equivale a: 12, 26, 49 y 57 litros por manzana de mezcla del insecticida endosulfán, respectivamente, y otro tratamiento de 210 litros por manzana que corresponde al volumen de aspersión normal de la aspersora (sin el equipo de dosificación de bajo volumen). Los tratamientos fueron evaluados por el número y porcentaje de brocas vivas (adultos y larvas) encontradas en los frutos infestados, a los 7, 14, y 28 días después de la aplicación del endosulfán. Este estudio demostró que los cinco tratamientos con aplicación presentan niveles de control diferentes al testigo. En cuanto al nivel de acción del insecticida, los tratamientos 210, 57, y 49 litros por manzana son iguales entre sí, pero mayores que 26 y 12 litros por manzana. Por lo tanto, estos investigadores concluyeron que la aspersión de mezcla de 49 litros por manzana tiene la misma efectividad que la de 210 litros por manzana. Los autores explican así este fenómeno: la cantidad reducida de agua y la gran concentración del producto hacen que la mezcla actúe dentro del fruto por efecto de inhalación.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en agosto de 1988, en un lote de cafetal de la variedad Catimor I-5269, con una edad de cinco años y una distancia promedio de 1.9 x 1.2 m, en la Finca la Conchita, ubicada en el municipio de San Francisco Zapotitlán, departamento de Suchitepéquez, República de Guatemala, a una altitud de 775 m sobre el nivel del mar y con una precipitación media anual de 4 000 milímetros.

El equipo de aspersión consistió en una aspersora motorizada de espalda, marca Solo Port 423, a la cual se le acopló un equipo de dosificación de bajo volumen (Fig. 1) que presenta un cuerpo dosificador con distribuidor de dosificación (Fig. 2). El distribuidor consiste en una placa de metal con cuatro orificios de diámetros diferentes para reducir el caudal de salida

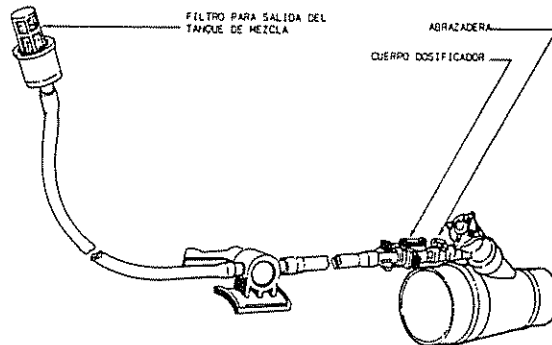


Fig. 1. Equipo de dosificación de bajo volumen.

de la mezcla. En el presente estudio se utilizaron únicamente tres orificios (0.8, 1.0 y 1.2 milímetros de diámetro). El tratamiento A consistió en el volumen de mezcla asperjado con la misma aspersora pero sin el equipo de dosificación de bajo volumen. El equipo de dosificación de bajo volumen se encuentra disponible en el comercio y es específico para esa marca de aspersora.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques al azar, con cinco tratamientos y seis repeticiones (Cuadro 1). La parcela experimental fue de 157.9 metros cuadrados (siete surcos de 12.0 metros de longitud), con un promedio de 70 plantas y la parcela neta fue de 33.8 metros cuadrados (tres surcos centrales de 6.0 de longitud), con un promedio de 15 cafetos.

Después de haber calibrado el equipo, se hizo una sola aplicación con Endosulfán (Thiodan 35 EC), con una dosis única de 1.2 litros por manzana (1.7 litros

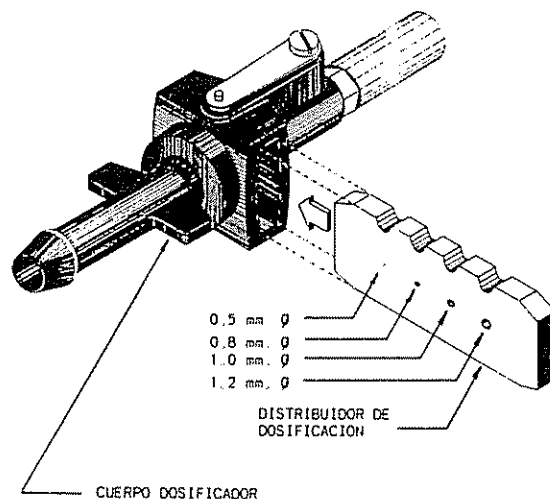


Fig. 2. Cuerpo dosificador con distribuidor de dosificación.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.

Tratamientos Distribuidor de dosificación (diámetro en mm)	Caudal cc/min.	Volúmenes de mezcla	
		(insecticida + agua)	
		1 manzana	1 hectárea
A: 2 normal	1 000	280 6	401.5
B: 1 2	270	136 5	195 3
C: 1 0	234	124 0	177 5
D: 0 8	126	83 5	119 5
E: Testigo sin aplicación			

por hectárea). Se dejó un tratamiento testigo sin aplicación.

Previo a la aplicación del endosulfán y a los 7, 14, 28 y 42 días después de ésta, se tomaron 40 frutos perforados de cada parcela neta; luego, se llevaron al laboratorio procediéndose a la disección de los mismos y al recuento de las poblaciones de brocas vivas y muertas (larvas y adultos).

Las variables a evaluar fueron: adultos vivos y muertos, larvas vivas y porcentaje de adultos vivos. A excepción de la variable porcentaje de adultos vivos, los datos originales se transformaron a $\log(x + 1)$ para que se distribuyeran en forma aproximadamente normal. Se hizo el análisis de varianza para cada una

de las variables y cuando hubo diferencia significativa entre los tratamientos, se aplicó la prueba de Newman - Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se puede observar en el Cuadro 2 que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, en cada una de las variables estudiadas, antes de la aplicación del endosulfán. Esto quiere decir que la infestación por broca estaba generalizada en el área total del experimento. Este fenómeno aporta confiabilidad al experimento porque todos los tratamientos se iniciaron con una población de larvas y adultos estadísticamente igual. No se hizo el análisis de varianza para la variable larvas muertas debido a que su población fue de cero

Cuadro 2. Análisis de varianza para las variables estudiadas, previo a la aplicación del endosulfán.

Tratamientos	Adultos vivos	Adultos muertos	Larvas vivas	% Adultos vivos
A: 280 6 l/mz	1 41	0 25	0 36	96 27
B: 136 5 l/mz	1 43	0 28	0 92	96 50
C: 124 0 l/mz	1 42	0 39	1 01	93 49
D: 83 5 l/mz	1 43	0 31	0 88	95 56
E: Sin aplicación	1 40	0 23	0 75	96 62
Fe	0 20 NS	0 56 NS	1 16 NS	0 68 NS
CV	5 3%	69 8 %	73 8 %	4 0 %

Fe: F calculada

NS: No significancia

CV: Coeficiente de variación

A los siete días después de la aplicación del endosulfán, se observó que todos los tratamientos con aplicación fueron estadísticamente iguales entre sí, en lo que se refiere a adultos vivos y muertos y porcentajes de adultos vivos (Cuadro 3 y Fig. 3). A excepción de adultos muertos, lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por Ochoa y Decazy (4). En cuanto a larvas vivas, todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales, y posiblemente se debió a que hubieran eclosionado huevecillos, justamente antes del muestreo. No se hizo el análisis de varianza para la variable larvas muertas, porque los datos de las mismas fueron iguales a cero.

A los 14 días después de la aplicación, los cuatro tratamientos que recibieron endosulfán son estadísticamente iguales, presentando niveles de control de la plaga diferentes del testigo sin aplicación tal como lo demuestra el número y porcentaje de adultos vivos, adultos muertos y larvas vivas (Cuadro 4). En las Figs. 3 y 4 se puede observar la enorme diferencia que existe entre el testigo y el grupo de tratamientos con aplicación, lo cual evidencia claramente la eficiencia del endosulfán a los 14 días después de la aplicación. Al igual que en el estudio de Ochoa y Decazy (4), el peor coeficiente de variación correspondió a la variable larvas vivas. El análisis de varianza para larvas muertas tampoco se hizo, porque los datos de las mismas fueron iguales a cero.

Los resultados obtenidos a los 28 días después de la aplicación, fueron iguales a los que se obtuvieron a los siete días, tal como se observa en el Cuadro 5. Esto indica que el endosulfán todavía poseía acción contra las poblaciones de broca (Figs. 3 y 4). El análisis de

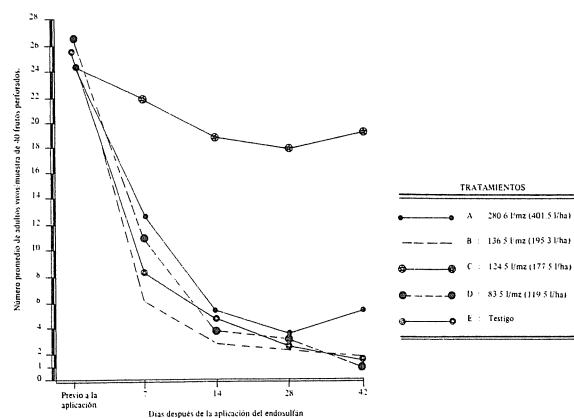


Fig. 3. Efecto de los diferentes volúmenes de mezcla (Insecticida + Agua) sobre las poblaciones de adultos vivos de *H. hampei*.

varianza para larvas muertas también no fue necesario hacerlo, porque los datos de las mismas fueron iguales a cero.

A los 42 días después de la aplicación, se observó que, en cuanto a las variables número y porcentaje de adultos vivos, los mejores tratamientos fueron: 83.5, 124.0 y 136.5 litros por manzana (iguales estadísticamente); luego, siguió el de 280.6 litros por manzana y por último el testigo sin aplicación, como era obvio esperar (Cuadro 6). Respecto a las variables adultos muertos y larvas vivas se observa que los cuatro tratamientos que recibieron endosulfán fueron estadísticamente iguales, presentando niveles de control diferentes al testigo sin aplicación (Cuadro 6). Al observar las Figs. 3 y 4 se deduce que el endosulfán presentó residualidad aún hasta los 42 días después de su apli-

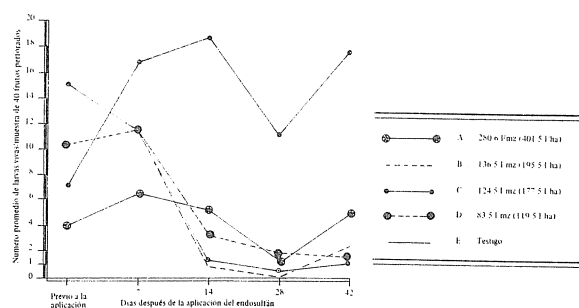
Cuadro 3. Análisis de varianza para las variables estudiadas, siete días después de la aplicación del endosulfán.

Tratamientos	Adultos vivos	Adultos muertos	Larvas vivas	% Adultos vivos
A: 280.6 l/mz	1.9 a	1.83 a	0.74	54.13 a
B: 136.5 l/mz	0.83 a	1.19 a	1.06	30.64 a
C: 124.0 l/mz	0.93 a	1.21 a	1.05	34.28 a
D: 83.5 l/mz	1.06 a	1.06 a	1.00	49.20 a
E: Sin aplicación	1.34 b	0.62 b	1.15	84.30 b
Fc	6.55**	7.82**	1.33 NS	7.82**
CV	17.9%	20.4%	33.1%	37.0%

** Altamente significativo a un nivel de 1 por ciento de probabilidad.

Cuadro 4. Análisis de varianza para las variables estudiadas, 14 días después de la aplicación del endosulfán.

Tratamiento	Adultos vivos	Adultos muertos	Larvas vivas	% Adultos vivos
A: 280.6 l/mz	0.75 a	1.19 a	0.53 a	25.90 a
B: 136.5 l/mz	0.55 a	1.21 a	0.14 a	15.33 a
C: 83.5 l/mz	0.72 a	1.27 a	0.30 a	21.03 a
D: 83.5 l/mz	0.66 a	1.21 a	0.42 a	20.03 a
E: Sin aplicación	1.29 b	0.62 b	1.27 b	83.94 b
Fc	12.15**	20.23**	6.50**	43.36**
CV	25.7%	13.4%	78.9%	32.0%

Fig. 4. Efecto de los diferentes volúmenes de mezcla (Insecticida + Agua) sobre las poblaciones de larvas vivas de *H. hampei*.

cación. Pareciera que el producto también poseía una acción por inhalación sobre las larvas, la cual fue más fuerte a medida que aumentó la concentración de la mezcla insecticida; esto concuerda con lo observado por Ochoa y Decazy (4).

De un análisis general de todos los muestreos realizados, se puede inferir que los cuatro diferentes volúmenes de mezcla (insecticida más agua) presentaron igual eficiencia contra la broca, aún hasta los 42 días después de la aplicación del endosulfán; es decir, 280.6 litros por manzana tuvieron la misma efectividad que 83.5 litros por manzana. Además, la alta concentración del producto en bajos volúmenes de mezcla incrementó la acción del endosulfán, por posible efecto de inhalación dentro del fruto. Los resultados

Cuadro 5. Análisis de varianza para las variables estudiadas, 28 días después de la aplicación de endosulfán.

Tratamiento	Adultos vivos	Adultos muertos	Larvas vivas	% Adultos vivos
A: 280.6 l/mz	0.65 a	1.22 a	0.23	18.61 a
B: 136.5 l/mz	0.43 a	1.26 a	0.0	11.97 a
C: 124.0 l/mz	0.48 a	1.25 a	0.15	14.87 a
D: 83.5 l/mz	0.60 a	1.33 a	0.18	12.95 a
E: Sin aplicación	1.27 b	0.48 b	0.59	86.81 b
Fc	11.66**	27.01**	1.93 NS	72.24**
CV	35.6%	15.1%	33.68%	32.2%

Cuadro 6. Análisis de varianza para las variables estudiadas, 42 días de la aplicación del endosulfán.

Tratamiento	Adultos vivos	Adultos muertos	Larvas vivas	% Adultos vivos
A: 280.6 l/mz	0.80 b	1.09 a	0.52 a	32.73 b
B: 136.5 l/mz	0.35 a	1.15 a	0.28 a	12.47 a
C: 124.0 l/mz	0.38 a	1.27 a	0.16 a	8.17 a
D: 83.5 l/mz	0.28 a	1.25 a	0.17 a	5.86 a
E: Sin aplicación	1.31 c	0.63 b	1.25 b	84.73 c
Le	32.35**	30.37**	5.90**	67.39**
CV	30.0%	10.9%	95.47%	34.2%

del presente estudio confirman los obtenidos por Ochoa y Decazy (4) quienes utilizaron el mismo equipo de dosificación de bajo volumen. En este estudio se considera que las dos variables de mayor confiabilidad a evaluar fueron las poblaciones de larvas y de adultos vivos, no así la reducción de las mismas, la cual es una consecuencia de la mortalidad ejercida por el insecticida. En cambio, cuando se evalúan las poblaciones de larvas y de adultos muertos, no se sabe exactamente si el producto fue el que realmente produjo la mortalidad en el insecto o algún otro factor natural.

CONCLUSIONES

Es factible reducir la cantidad de agua para preparar la mezcla con el insecticida sin perder la eficiencia del producto, utilizando la misma dosis de ingredientes activo por unidad de área pues 83.5 litros por manzana (119.5 litros por hectárea) aplicados con un distribuidor de dosificación de diámetro 0.8 milíme-

tros tuvieron la misma efectividad sobre la broca que 280.6 litros por manzana (401.5 litros por hectárea). En resumen:

La reducción del volumen de agua permite disminuir el costo de aplicación del insecticida.

La alta concentración del insecticida, en bajos volúmenes de agua, posiblemente tiene efecto por inhalación dentro del fruto del cafeto.

El endosulfán mostró efecto residual sobre la mortalidad de la broca, hasta los 42 días después de su aplicación.

Como conclusión final del presente trabajo se puede afirmar que para el combate químico de la broca, se puede aplicar el endosulfán a bajo volumen en el control utilizando un equipo de bajo volumen con un distribuidor de dosificación 0.08 milímetros de diámetro con aspersoras motorizadas de espalda, marca Solo Port 423.

LITERATURA CITADA

1. FERREIRA, A. J.; D'ANTONIO, A. M.; PAULINI, A. L. 1976. Estudo de concentrações de óleo emulsão em calda inseticidas, aplicados a médio e baixo volume no controle da broca do café. In Congreso Brasileiro de Pesquisas Caféiras, (4. 1976, Caxambu). Resumos Rio de Janeiro, IBC, p. 119-122.
2. FERREIRA, A. J.; D'ANTONIO, A. M.; PAULINI, A. L. 1978. Estudo de formulações oleosas em baixo volume no controle a broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr. 1867) (Coleoptera: Scolytidae). In Congreso Brasileiro de Pesquisas Caféiras, (6, 1978, Ribeirão Preto). Resumos Rio de Janeiro, IBC, p. 291-292.
3. HERNANDEZ, P. M.; PINAGOS, H. 1974. Evaluación del sistema de aplicación de bajo volumen en el control de la broca del fruto de café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Revista Catetelera ANACAFE (Gua) 134:15-21.
4. OCHOA M., H.; DECAZY, B. 1987. Efecto biológico de aplicación de plaguicida a bajo volumen sobre broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* Ferr. (Estudio preliminar). Revista Catetelera ANACAFE (Gua) 278:21-28.

Dinámica Poblacional del Minador de la Hoja del Cafeto *Leucoptera coffeella* y sus Enemigos Naturales en la Zona de Nuevo San Carlos, Retalhuleu, Guatemala¹

O.G. Campos*, B. Decazy**, E. Carrillo***

ABSTRACT

This study was carried out on a one hectare coffee plot, (Bourbon variety), over a fifteen-month period (March 87 – June 88). Random sampling was carried out every seven days, and it was determined that the largest populations of the leaf miner were observed during the March-April dry season, showing a reduction in May, mainly due to the effect of heavy rains and the action of natural enemies, which in that period reached maximum levels. The population of the leaf miner remained at low levels during the rainy season until November-December, starting new infestations in January. A 27.3% parasitism was observed with a major proportion of the genera *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae) and *Zagrammosoma* sp. (Hymenoptera: Eulophidae) with 20% and 16% respectively.

COMPENDIO

El estudio se desarrolló en una hectárea de cafetal de la variedad Bourbon, durante un período de quince meses (marzo/87 – junio/88). Con base en muestreos aleatorios cada siete días, se determinó que las mayores poblaciones del minador de la hoja ocurren en el período seco de marzo – abril, reduciéndose en mayo, por la conjugación de efectos mecánicos de las fuertes lluvias, y la acción de los enemigos naturales que en esa época han alcanzado sus niveles máximos. Durante la estación lluviosa, las poblaciones de la plaga se mantienen bajas, inclusive hasta los meses secos de noviembre-diciembre, para iniciar nuevamente su incremento en enero. Se obtuvo un nivel de parasitismo de 27.3%, con una mayor abundancia de los géneros *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae), y *Zagrammosoma* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), con un 20% y 16% respectivamente.

INTRODUCCION

El minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* (Guerin-Meneville 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), se encuentra presente en la mayoría de países productores de café en el mundo

Box citado por Campbell y Eveleens informan por primera vez la presencia de este microlepidóptero en nuestro país en 1923, estos mismos autores señalan que las pérdidas debidas al minador de la hoja del café, durante la cosecha 1963/1964, llegaron a alcanzar

los 350 000 quintales, lo que la convierte en plaga de importancia económica para el cultivo del llamado "Grano de Oro"

Los mayores daños ocasionados por el minador ocurren en la época seca, pero algunos caficultores consideran que los daños continúan en el período lluvioso, situación no determinada plenamente, razón por la que se impulsó el presente trabajo, cuyo objetivo fundamental es determinar las fluctuaciones poblacionales del minador de la hoja del café, y el rol que los agentes bióticos y abióticos ejercen sobre la plaga, para un mejor conocimiento del microlepidóptero y sobre esa base se puedan implementar los programas de manejo integrado de plagas.

Revisión de literatura

En Guatemala, Campbell y Eveleens (1), realizaron un estudio sobre *Leucoptera coffeella*, relacionado con la acción de los parasitoides, y concluyeron lo siguiente:

- a. La falta de continuidad en las infestaciones del minador de la hoja en Guatemala, causada por su ausencia o escasez en la estación lluviosa, hace que la población de parasitoides se reduzca periódicamente a un nivel muy bajo. En esas condiciones,

¹ Recibido para publicación el 31 de octubre de 1989. Se agradece al Dr. G. Delvare, Jefe del Laboratorio de Faunistique et de Taxonomie del IRCC/CIRAD, de Montpellier, Francia, por su valioso apoyo en la identificación de los parasitoides, enemigos naturales del minador; a los señores Julio Flores Barrios y Daniel Santos Salazar, Auxiliares de Entomología, por su gran aporte en la realización de este estudio; al señor Estuardo Wong, de la Sección de Artes Gráficas, ANACAFE, por la elaboración de los gráficos de este documento.

* Técnico Investigador del Área de Entomología, Laboratorio Buena Vista, ANACAFE.

** Entomólogo, Asesor del IRCC, Francia/PROMECAFE/ANACAFE

*** Entomólogo, Departamento de Investigaciones en Café, ANACAFE, Guatemala.

los parasitoides no pueden ejercer un control permanente de la plaga

- b. El aumento y la disminución de las poblaciones de parasitoides se efectúan de manera retardada en comparación con los mismos procesos de las poblaciones del minador. Por consiguiente, la falta de parasitoides al principio de la estación seca favorece un rápido aumento de los brotes; por otra parte, las poblaciones bien desarrolladas de parasitoides al principio de la estación lluviosa aceleran la disminución de la población del minador.

Flores y Rojas de Hernández (2), estudiaron la fluctuación poblacional del minador y sus enemigos naturales, en dos regiones cafetaleras de Colombia, concluyendo lo siguiente:

- a. Durante el año de estudio se detectaron poblaciones de *L. coffeella* y sus enemigos naturales, en las dos regiones estudiadas.
- b. El parasitismo encontrado, 50% (promedio anual) en Pradera, y 30% (promedio anual) en Caicedonia, reflejan un buen índice de su eficiencia para controlar al minador en condiciones naturales y una alta especialización y capacidad de búsqueda, teniendo en cuenta las densidades bajas de su hospedero
- c. De acuerdo a lo anterior, un plan integrado para controlar al minador debe contar con el concurso de sus parasitoides, como uno de los factores decisivos para obtener mejores resultados
- d. La precipitación resulta ser un factor climatológico que afecta directamente las poblaciones del minador y sus parasitoides

MATERIALES Y METODOS

El estudio fue realizado en la Finca "Los Laureles Xolhuitz", de municipio de Nuevo San Carlos, en el departamento de Retalhuleu, en la zona suroccidental de Guatemala, a una altitud de 600 metros sobre el nivel del mar.

Las condiciones ambientales predominantes durante la duración de este trabajo fueron una temperatura promedio de 27.3°C H.R. promedio de 84% precipitación pluvial de 3 445 mm, correspondientes al período marzo - diciembre de 1987 y 1 155 milímetros para el período enero - junio de 1988.

La medición de las variables se realizó en el Laboratorio de Entomología de ANACAFE, ubicado en la Finca Buena Vista, del municipio de San Sebastián,

departamento de Retalhuleu, con condiciones controladas promedio de 27°C y 65% H.R.

Se seleccionó 1 ha de cafetal var. Bourbon, de 15 años de edad, con una densidad de 2 667 plantas y una sombra estimada del 40%.

Para el análisis de este estudio no se utilizó diseño estadístico, habiéndose desarrollado el mismo, sobre la base de muestreos con intervalos de siete días, iniciando los mismos a partir del 11 de marzo de 1987 y finalizando el 29 de junio de 1988, teniendo una duración de 15 meses, y se realizaron 68 lecturas semanales

Los muestreos fueron de dos tipos, siendo el primero de 200 hojas al azar (muestreo aleatorio), en toda el área de estudio (1 ha), tomándose hojas de tres estratos de la planta para establecer las poblaciones de minador de la hoja, y el otro tipo de muestreo fue selectivo, porque se seleccionaron 100 hojas con minas en la misma área, para el estudio de las poblaciones de parasitoides del minador.

Las variables medidas fueron en su orden las siguientes:

Muestreo al azar (200 hojas de café)

- a. Incidencia de plaga (porcentaje de hojas minadas).
- b. Severidad (número total de minas, número de minas por hoja y área foliar dañada).
- c. Población total de larvas (vivas y muertas).
- d. Área foliar.

Se midió el área foliar de la muestra dañada, utilizando la fórmula empleada por la Sección de Biometría del CENICAFE, citada por Santos (3), y se describe a continuación:

$$Y = 2.02501 X - 0.57278$$

Y = logaritmo del área de la hoja

X = logaritmo del largo de la hoja

- e. Precipitación semanal

Muestreo selectivo (100 hojas minadas):

- a. Recuento de las poblaciones de parasitoides de *L. coffeella*: Se determinó mediante el empleo de bolsas de plástico transparentes, colocándose las hojas de la muestra individualmente en las bolsas, a las que se les formó una cámara de aire para favorecer las condiciones de emergencia de los adultos del minador o la de sus enemigos naturales.

La revisión de las muestras se llevó a cabo a los 21 días después de haber sido embolsadas las hojas, anotándose las poblaciones de adultos de minador y de sus parasitoides

b. Identificación de los parasitoides:

Para esta fase del estudio, se contó con la colaboración del Laboratorio de Faunística y Taxonomía del CIRAD de Montpellier, Francia, a donde se enviaron ejemplares adultos de parasitoides para su identificación, luego por comparación se identificaron las especies del presente estudio

c. Determinación de las poblaciones reales del minador y sus enemigos naturales en el área de estudio (1 ha), a partir de cada una de las muestras obtenidas en los muestreos al azar y selectivo.

Conociendo esas poblaciones para cada 100 hojas minadas, y una vez establecido el 1% de hojas minadas, se obtuvo esa variable según las fórmulas siguientes:

a. PRAM = No A. M. (% HM)

b. PRAP = No A.P. (% HM)

Donde:

PRAM = Población real de adultos de minador

PRAP = Población real adultos parasitoides

No AM = Número de adultos de minador

No AP = Número de adultos de parasitoides

Ejemplo:

Porcentaje de hojas minadas	25
Adultos de minador	75
Adultos de parasitoides	32
Población real de adultos del minador	$75 \times 0.25 = 18.8$
Población real de adultos de parasitoides	$32 \times 0.25 = 8.0$

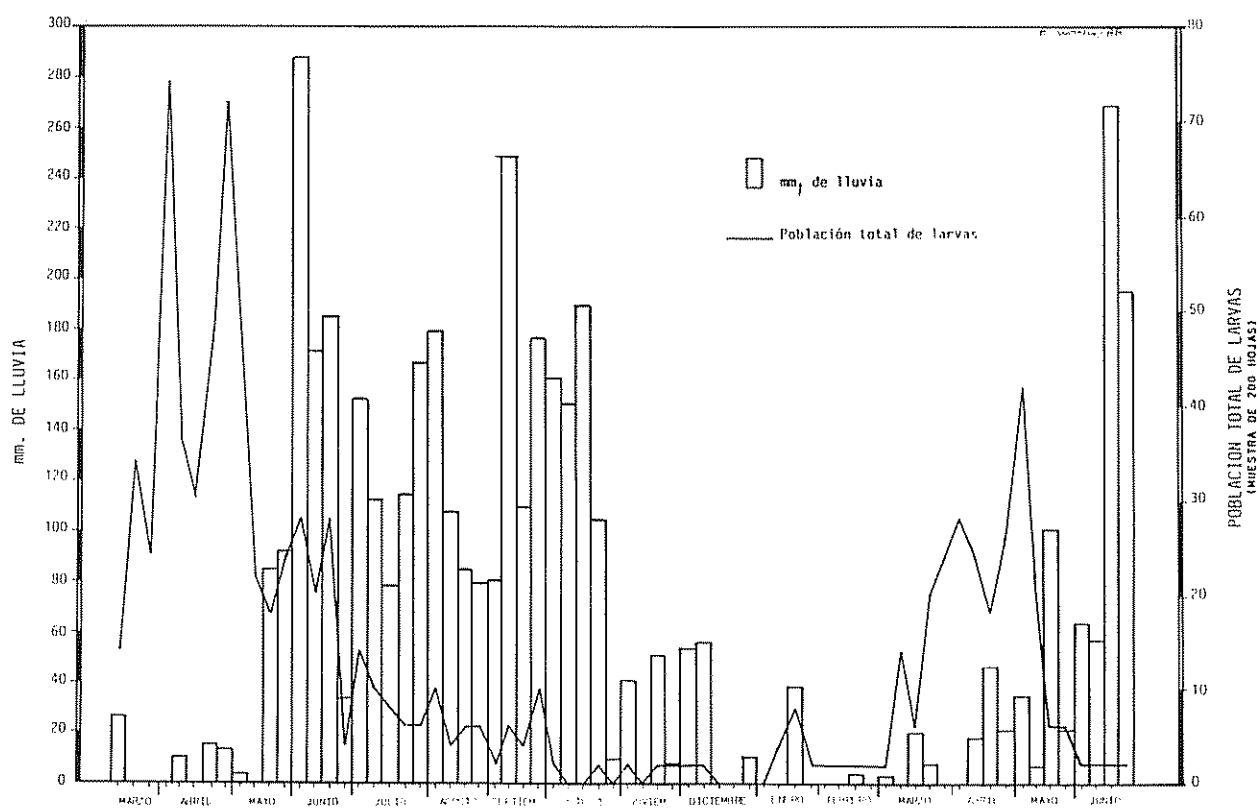


Fig. 1. Dinámica poblacional del minador de la hoja (Población total de larvas). Finca Los Laureles Xolhuitz, Nuevo San Carlos, Retalhuleu - 600 msnm.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Fig 1, se observa que las mayores infestaciones del minador de la hoja, en la zona donde se desarrolló el estudio, se presentaron en los meses de marzo-abril, empezando a decrecer en mayo. Durante los meses de mayo-diciembre se mantienen bajas las poblaciones, iniciando nuevamente su incremento a partir de enero. Se puede apreciar también, que en los ciclos de máximas poblaciones (marzo-abril), de acuerdo a las condiciones ambientales predominantes en el estudio, se dio un intervalo de cuatro semanas entre dos generaciones.

Las poblaciones de larvas vivas que se observan en la Fig 2, se ajustan a lo explicado anteriormente, ya que se encontraron altas densidades de población en marzo/abril, y se redujeron en mayo, luego estuvieron ausentes durante cortos periodos (de una a tres semanas), en setiembre, octubre y diciembre.

La curva de poblaciones de adultos de *L. coffeella* (Figs 2 y 3), siguió la misma tendencia que la de las poblaciones de larvas vivas (Fig. 2), las que desapare-

cieron en ciertos periodos. Lo anterior explica el surgimiento de bajas densidades de población de larvas, observadas en la Fig 2, cuando existieron también bajas densidades de población de adultos del minador.

En la Fig. 4, se puede observar el daño foliar, el cual se presentó en función de porcentaje de hojas minadas, cuyos niveles máximos ocurrieron en la época de mayor actividad de la plaga (marzo-abril). Se observa que los porcentajes de hojas minadas se redujeron gradualmente, llegando a sus menores expresiones entre noviembre a diciembre, para incrementarse nuevamente en enero. Los porcentajes de hojas minadas se redujeron gradualmente, llegando a sus menores expresiones entre noviembre y diciembre, para incrementarse nuevamente en enero. Los porcentajes de infestación, relativamente altos, que se siguen observando después del periodo crítico (marzo-abril), no guardaron ninguna relación con los niveles poblacionales de la plaga, ya que estos fueron bajos (Fig. 1). Lo anterior es consecuencia del daño sufrido en el periodo de mayor ataque de la plaga.

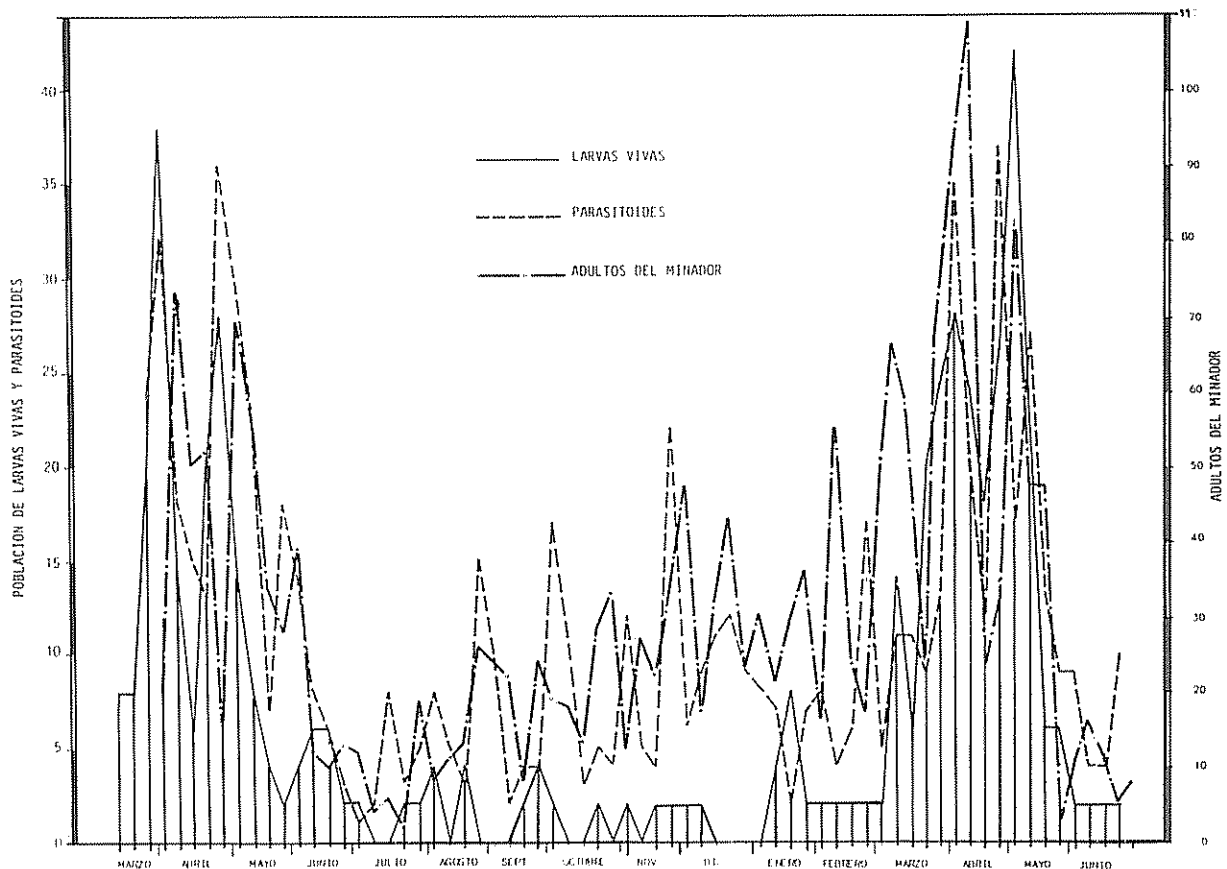


Fig. 2 Dinámica poblacional del minador de la hoja (Larvas vivas y adultos) y sus enemigos naturales. Finca Los Laureles Xolhuitz, Nuevo San Carlos, Retalhuleu - 600 msnm

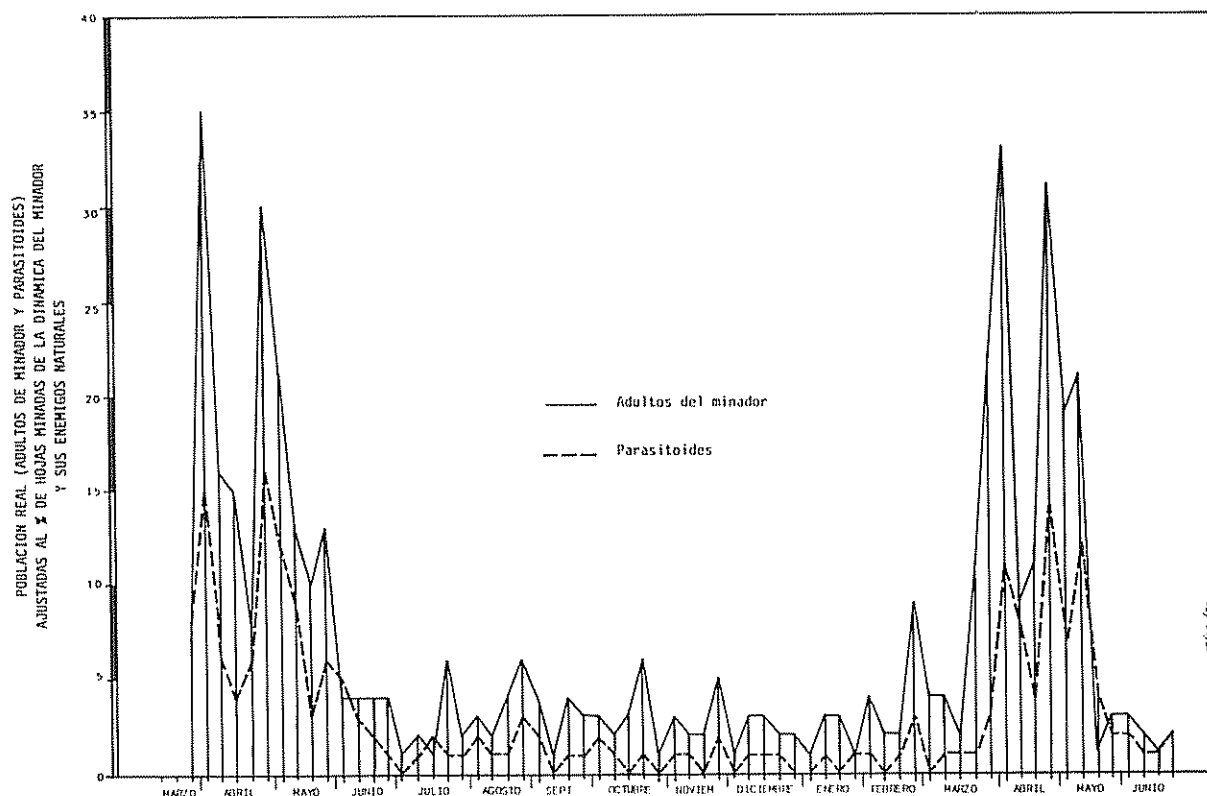


Fig. 3 Dinámica de las poblaciones reales de adultos del minador de la hoja y de sus enemigos naturales (Parasitoides) Finca Los Laureles Xolhuitz, Nuevo San Carlos, Retalhuleu - 600 msnm

Sobre el papel que juegan los factores ambientales, se pudo establecer que la precipitación pluvial desempeñó el papel más importante en la regulación de la plaga (Fig. 1), mientras que la temperatura y humedad relativa acusaron un comportamiento bastante constante, con valores promedios de 27.3°C y 84.0%, respectivamente.

Los niveles poblacionales del minador decrecieron mediados de mayo a consecuencia de los efectos mecánicos provocados por las fuertes lluvias, propias de ese período (Fig. 1).

Después de un período seco (diciembre-enero), de aproximadamente tres semanas, con lluvias de más o menos 10 mm, se modificaron las condiciones ambientales que estimularon a las palomillas a poner huevecillos; comenzando a observarse poblaciones de larvas (después del período de ausencia) a partir de la segunda semana de enero, las que se incrementaron gradualmente (Fig. 1) hasta alcanzar niveles máximos en marzo-abril.

Sobre el papel que los parasitoides desempeñan, se deduce que éstos se incrementan conforme avanza la época seca, alcanzando sus mayores niveles al final del período, lo que contribuye a reducir poblaciones del minador a partir de mayo (Fig. 2).

Para apreciar mejor la acción de los parasitoides, se establecieron los cocientes de la relación parasitoides/población de larvas vivas, en los períodos secos y lluviosos:

Período: marzo-junio/87 : 1.3 parasitoides/larva
 Período: julio/87-febrero/88 : 4.6 parasitoides/larva
 Período: marzo-junio/88 : 1.0 parasitoides/larva

De los cocientes se infiere que cuando se incrementaron las poblaciones de minador, se observó una relación menor de parasitismo, mientras que al presentarse una disminución de las poblaciones de *L. coffeella*, se elevó la relación parasitoides/plaga

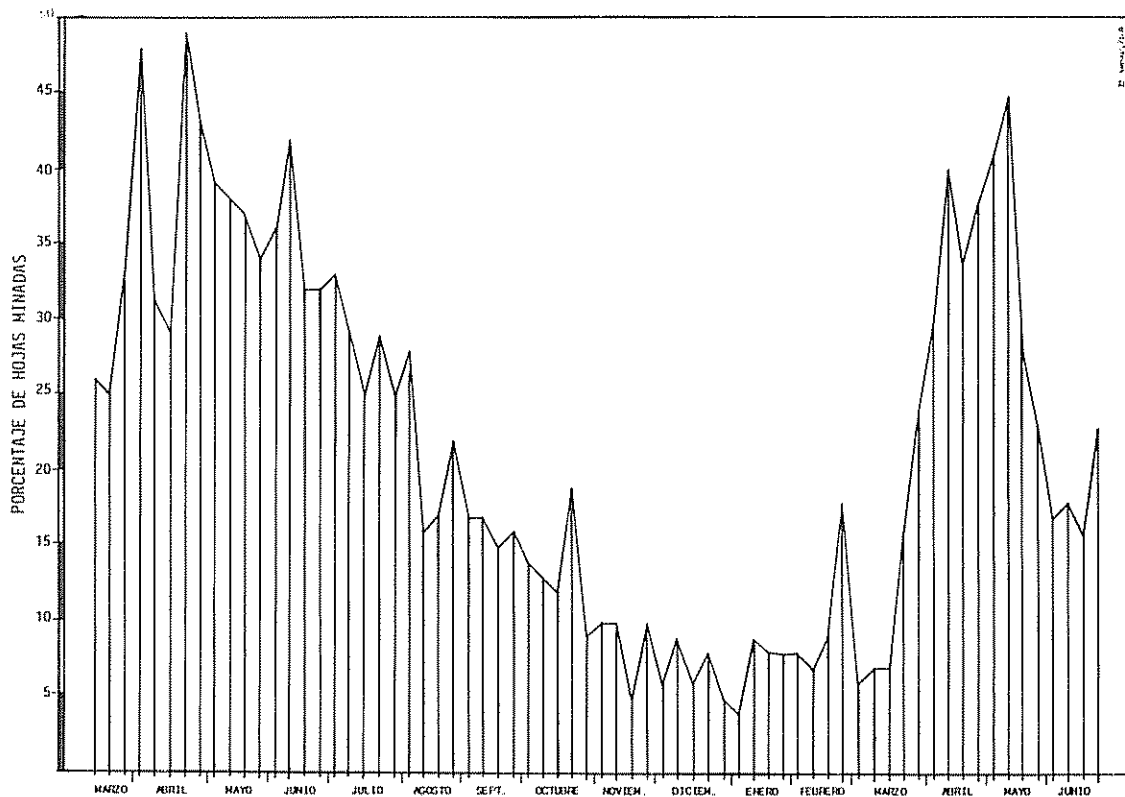


Fig 4 Dinámica poblacional del minador de la hoja (% de hojas minadas) Finca Los Laureles Xolhuitz, Nuevo San Carlos, Retalhuleu - 600 msnm.

Las curvas que representan tanto a las poblaciones reales de adultos del minador y sus enemigos naturales (Figs. 2 y 3), siguieron la misma tendencia, siendo las poblaciones de adultos del minador más altas que las de parasitoides, comportamiento que se considera normal en las plagas, ya que lo contrario significaría su erradicación. El parasitismo promedio encontrado fue de un 27.3%.

Se detectaron 10 diferentes especies de parasitoides, de las cuales cuatro fueron identificadas por el Doctor G. Delvare, en el Laboratorio de Identificación y Clasificación de Insectos, del CIRAD, en Montpellier, Francia, siendo en su orden:

Bracon sp (Hymenoptera: Braconidae)
Zagrammosoma sp. (Hymenoptera: Eulophidae)

Pnigalio sp (Hymenoptera: Eulophidae)
Chrysonotomya sp (Hymenoptera: Eulophidae)

Merecen mencionarse por los altos porcentajes reportados, a los géneros: *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae), con un 20% y *Zagrammosoma* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), con un 16%.

Para ajustarse a la correcta aplicación del manejo integrado de plagas, se debe tomar muy en cuenta el concurso de los agentes reguladores de la plaga, y muy especialmente el de los parasitoides. Para lograr el propósito apuntado, hay que auxiliarse de los muestreos periódicos (como mínimo a cada 7 días). Con base en lo anterior, se puede decir, que el control químico tendrá justificación cuando la plaga llegue a alcanzar niveles de 15 larvas vivas/muestra de 100

hojas al azar por 0.7 ha (manzana). Medidas como la anterior permiten preservar el equilibrio biológico y mantener reguladas las poblaciones de plagas dentro de un manejo integrado de las mismas

CONCLUSIONES

a En las condiciones donde se desarrolló el estudio, las máximas densidades de población de la plaga se presentaron en los meses de marzo-abril, favore-

cidas por un período seco y bajas poblaciones de parasitoides.

b Las poblaciones de *L. coffeella* fueron reguladas, por la conjugación de los siguientes factores:

1. Efectos mecánicos, provocados por las fuertes lluvias
2. Acción de los parasitoides, que al final de la época seca se encontraron en sus niveles más altos

LITERATURA CITADA

1. CAMPBELL, J.M.; EVELLENS, K.G. 1966. Informe final de las investigaciones sobre biología y control del minador de la hoja del café *Leucoptera coffeella* (Guer.). Guatemala. Informe presentado a la Asociación Nacional del Cate. 101 p.
2. FLORES, D.E.; ROJAS DE HERNANDEZ, M. 1982. Fluctuación de la población del minador de las hojas del caféto *Leucoptera coffeella* (Guer-Menev 1942)

(Lepidoptera: Lyonetiidae) y sus enemigos naturales en el Valle del Cauca. In Memorias del V Simposio Latinoamericano sobre Caficultura, (5., San Salvador, Salv.). Memorias. San Salvador, El Salv. 238 p.

3. SANTOS V., C.J. 1986. Avances del estudio fenológico del cultivar catuai (*Coffea arabica* L.), La Fe, Santa Bárbara. In Memoria Curso Regional sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto con énfasis en Broca del Fruto (*Hypothenemus hampei*, ferr.). (2., San Pedro Sula, Hond.). Memoria San Pedro Sula, Hond., IICA. 281 p.

Sistemas Agroforestales de Café (*Coffea arabica*) con Laurel (*Cordia alliodora*) y Café con Poró (*Erythrina poeppigiana*) en Turrialba, Costa Rica. VI. Balances Hídricos e Ingreso con Lluvias y Lixiviación de Elementos Nutritivos¹

A. C. Imbach*, H. W. Fassbender**, J. Beer***, R. Borel****, A. Bonnemann○

ABSTRACT

The hydrological balances for the agroforestry systems of *Coffea arabica* with *Cordia alliodora* or *Erythrina poeppigiana* were calculated using measurements taken over four years (1983-1987) of the following climatic (precipitation, evaporation) and edaphological (texture, soil moisture tension, hydraulic conductivity, variation in soil moisture content) parameters. Water fluxes (interception, simulation of transpiration and percolation) were estimated from one year of measurements (1986-1987). Weekly samples of percolated water were taken from March 1986-March 1987 using lysimetric capsules at 100 cm soil depth. N, P, K, Ca and Mg concentrations were determined to calculate the annual lixiviation losses. Nutrient concentration values were extrapolated for the four year observation period, in order to calculate lixiviation losses for the whole study period. With regard to hydric balances, from a total annual precipitation of 1 923 mm, the *C. arabica*/*E. poeppigiana* coffee system intercepted 68 mm, sweated 811 mm and percolated 1044 mm, while the *C. arabica*/*C. alliodora* system intercepted 260 mm, sweated only 702 mm and percolated 961 mm. The rates of lixiviation of the nutritional elements reached the following annual levels (kg/ha/a) in the *C. arabica*/*E. poeppigiana* system: N: 5.79; P: 0.66; K: 1.81; Ca: 27.97; and Mg: 17.81, while in the *C. arabica*/*C. alliodora* system they were N: 5.61; P: 0.48; K: 2.01; Ca: 7.89; and Mg: 7.17. The obtained values were compared with others from the literature, showing that nutrient leaching in these agroforestry systems is in the range of systems like native or plantation forests from both tropical and temperate areas, and clearly better than annual crop systems.

COMPENDIO

Se presentan balances hídricos de los sistemas agroforestales de *Coffea arabica* con *Cordia alliodora* o *Erythrina poeppigiana* preparados con base en cuatro años (1983-1987) de mediciones de variables climáticas (lluvia, evaporación) y edafológicas (textura, tensión de agua, conductividad hidráulica, contenido de agua del suelo). Las variables hidrológicas (intercepción, simulación de la transpiración y percolación de agua) fueron estimadas a partir de un año de mediciones (1986-1987). Los balances hídricos presentaron como resultado que para un mismo total de precipitaciones de 1 923 mm anuales, el sistema café *C. arabica*/*E. poeppigiana* interceptó 68 mm, transpiró 811 mm y en él se produjo una percolación de 1044 mm, mientras que en el sistema *C. arabica*/*C. alliodora* la intercepción alcanzó 260 mm, la transpiración sólo 702 mm y la percolación 961 mm. Se obtuvieron muestras semanales de agua de lixivación durante un año (marzo 1986-marzo 1987) empleando cápsulas lisimétricas a 100 cm de profundidad y se analizaron las concentraciones de N, P, K, Ca y Mg. Con esta información y la correspondiente a percolación diaria, se calculó luego la lixivación anual total. Se extrapolaron los valores de concentración de nutrimentos al período de observación de cuatro años y empleando los valores de percolación anual promedio, se estimaron las pérdidas por lixivación en todo el período. Las tasas de lixivación de los elementos nutritivos alcanzaron los siguientes valores anuales (kg/ha/a) en el sistema *C. arabica*/*E. poeppigiana*: N: 5.79; P: 0.66; K: 1.81; Ca: 27.97; y Mg: 17.81, mientras que en el sistema *C. arabica*/*C. alliodora* estos valores fueron N: 5.61; P: 0.48; K: 2.01; Ca: 7.89 y Mg: 7.17. Se discute la importancia de estos valores y se comparan con los de otros ecosistemas forestales y no forestales, naturales e implantados.

¹ Recibido para publicación el 5 de abril 1989

Los autores agradecen al señor Jorge Alvarez su gran dedicación al trabajo de campo, a lo largo del período de estudios; a la señora Lilliam Ugalde de Brenes, su paciente labor de dactilografiado y de correcciones del manuscrito y al señor Emilio Ortiz, la elaboración de los dibujos. Este agradecimiento se hace extensivo al Dr. Gustavo Enriquez, al Dr. Jochen Heuvelandop y al Edaf. Roberto Díaz-Romeu, por su valiosa colaboración en diferentes aspectos técnicos. El apoyo técnico y financiero para la realización de este trabajo fue brindado por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y por la Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ)

* Estudiante de Posgrado, CATIE. Actualmente: Proyecto CATIE/UICN, Turrialba, Costa Rica

** Profesor, Facultad Técnica Forestal, Göttingen, República Federal de Alemania

*** Investigador, Proyecto Agroforestal CATIE/GTZ, Turrialba, Costa Rica

**** Consultor en agroforestería, San José, Costa Rica

○ Coordinador Proyecto Agroforestal CATIE/GTZ, Turrialba, Costa Rica

INTRODUCCION

Los sistemas agroforestales se caracterizan por el establecimiento de varias especies en un mismo sitio y con un arreglo tal, en tiempo y espacio, que origine diversas interacciones entre las especies. De ello resulta una serie de características específicas de sus ciclos hidrológicos, cuya descripción requiere de la consideración de todos los procesos de almacenaje y transferencia de agua dentro del sistema (Fig 1) (8, 34)

El flujo de agua comienza con el ingreso de la misma al sistema, a través de las lluvias (Pr). Esta puede atravesar directamente el dosel y llegar al suelo (Pd) o bien, puede depositarse en el follaje de las plantas para permanecer en él y luego evaporarse —intercepción (In)— o bien, gotear o deslizarse por las hojas, ramas y/o troncos hasta el suelo (Go). El agua que llega al

suelo se infiltra en el mismo y desde allí puede seguir uno o más de los siguientes caminos: a) permanecer en el suelo, variando su contenido de humedad (HS); b) ser absorbida por las raíces de las plantas (Ab) y luego transpirada (Tr); c) moverse en forma lateral como escorrentía superficial (Es); d) moverse verticalmente en dirección descendente saliendo del sistema como agua de percolación (Pe), al sobrepasar la capacidad de campo del suelo. Con esta última opción se lixivian elementos nutritivos (LM). La ecuación del balance hídrico del suelo se puede formular de la siguiente manera (12, 34):

$$Pr = In + Tr + Es + Pe \pm HS$$

Las condiciones específicas de evaporación y transpiración de los sistemas agroforestales son diferentes, de acuerdo a sus características microclimáticas (temperatura, humedad, viento) las que son influidas por la arquitectura de la vegetación, el sistema radicular, la biomasa de hojas, la actividad fotosintética, etc. determinando una transpiración específica para cada sistema.

Existen pocos estudios parciales o totales sobre el ciclo del agua en sistemas agroforestales. Un primer antecedente al respecto son las investigaciones de Franco e Inforzato (11) en Brasil, quienes determinaron 593 mm/a de evapotranspiración para el monocultivo de *C. arabica* y 1 120 mm/a en la asociación de éste con *Inga edulis*. Poco después, en un estudio a largo plazo hecho en cafetales de Kenia, bajo irrigación, Pereira (24) determinó los siguientes valores para el balance hídrico: lluvia: 973 mm/a, evaporación: 1 532 mm/a, transpiración: 826 mm/a, lixivia-

ción: 131 mm/a. En un estudio integral de agroecosistemas cafetaleros en México, Jiménez (19) determinó varios componentes del balance hídrico, calculando valores de evapotranspiración que alcanzaron 1 327 mm/a en el caso de cultivo al sol, 1 052 mm/a en el cultivo mixto con *Inga jinicuil* (jinicuil), *Inga leptoloba* (chalahuite), naranjo (*Citrus sinensis*) y plátano (*Musa sapientum*), y 703 mm/a bajo sombra de árboles de chalahuite (*Inga leptoloba*). A su vez, Doorenbos y Pruitt (6, 7) consideran que la evapotranspiración en cultivos de café oscila entre 800 y 1 200 mm/a, y la de los árboles de sombra (caducifolios) entre 700 y 1 050 mm/a.

En una investigación reciente, hecha en el sitio donde se realizó el trabajo aquí descrito, Jiménez Otárola (20) determinó valores de distintos componentes del balance hídrico, para un periodo de siete y seis meses, para los sistemas *C. arabica* con *E. poeppigiana* y *C. arabica* con *C. alliodora*, respectivamente. Estos valores fueron:

	<i>C. arabica</i> / <i>E. poeppigiana</i>	<i>C. arabica</i> / <i>C. alliodora</i>
Precipitación total (mm)	1 418.6	1 299.1
Evapotranspiración (mm)	750.0	586.9
Intercepción (mm)	234.4	98.3
Percolación (mm)	308.0	480.0

Dado que los valores mencionados estuvieron basados en los coeficientes de evapotranspiración de Doorenbos y Pruitt (6, 7), los que fueron considerados excesivos, se prefirió efectuar una determinación más precisa la que fue realizada dentro del programa de

Cuadro I. Características de las lluvias en el periodo marzo 1986 – febrero 1987, Experimento Central, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Mes	Total de lluvias		Lluvias entre 10-30 mm/día		Lluvias entre 30-50 mm/día		Lluvias > 50 mm/día		Evaporación tanque A (m)
	Días con lluvia	Precipitación total (mm)	Días	Total (mm)	Días	Total (mm)	Días	Total (mm)	
Marzo 1986	18	217	2	43	0	0	1	116	109
Abril	21	101	2	40	0	0	0	0	99
Mayo	20	124	4	74	0	0	0	0	113
Junio	27	209	4	77	0	0	1	53	80
Julio	28	177	2	47	0	0	1	53	77
Agosto	24	224	3	60	2	65	1	50	77
Setiembre	27	255	6	128	2	80	0	0	93
Octubre	23	226	9	182	0	0	0	0	104
Noviembre	18	138	2	30	2	74	0	0	94
Diciembre	17	55	2	32	0	0	0	0	98
Enero 1987	16	173	1	14	0	0	2	126	95
Febrero	12	44	1	20	0	0	0	0	99
Totales	251	1 949	38	750	6	220	6	400	1 142

estudio de los sistemas agroforestales de *Coffea arabica* asociado con árboles de *Erythrina poeppigiana* (poró) y *Cordia alliodora* (laurel) conducido desde 1977 (1, 9, 15). Así, se originó un estudio completo del ciclo hidrológico y de la lixiviación de nutrientes en estos sistemas, cuyos resultados se presentan en este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Sitio experimental

El estudio se realizó en el Experimento Central del CATIE en Turrialba, Costa Rica, establecido en 1977 y cuyas características han sido descritas en publicaciones anteriores (1, 9, 15).

Variables climáticas

Desde 1949, el CATIE cuenta con una estación meteorológica en funcionamiento, la cual está ubicada

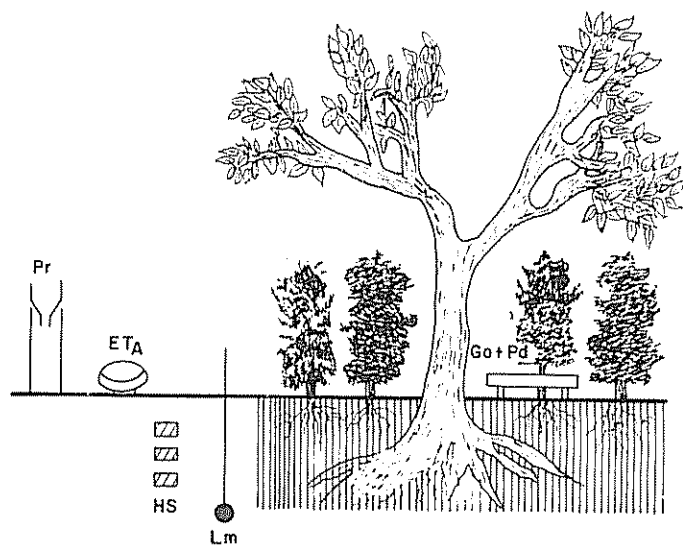
a 2.5 km al norte del Experimento Central, con la misma elevación sobre el nivel del mar (620 m). Para este estudio se consideraron los valores de precipitaciones y evaporación de tanque A, registrados durante cuatro años, entre octubre de 1983 y setiembre de 1987

Variables edáficas

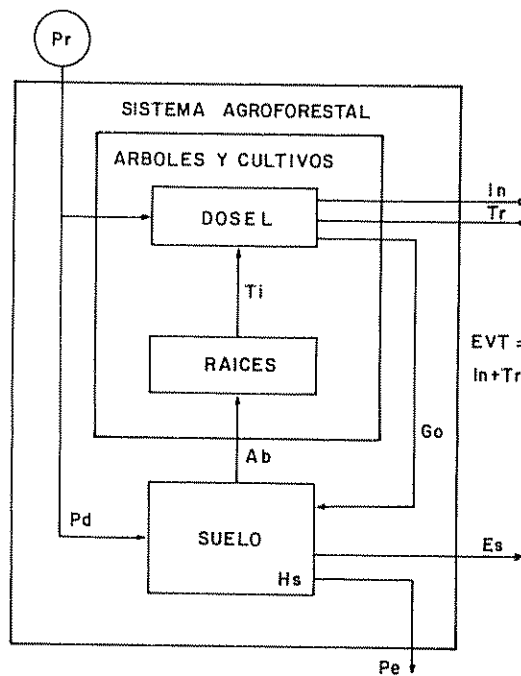
Las principales características de los suelos del Experimento Central han sido publicadas anteriormente (1) Para el estudio del ciclo hidrológico, fueron necesarias otras determinaciones específicas tales como la curva de Pf y la conductividad hidráulica, cuyos valores han sido publicados previamente (18)

Variables hidrológicas específicas de los sistemas

La interceptación se determinó como diferencia entre la lluvia a cielo abierto y el agua que llega al suelo bajo la cubierta vegetal del sistema estudiado Para



- Ab Absorción radicular
- Es Escorrentia
- ET_A Evaporación (tanque clase A)
- EVT Evapotranspiración
- Go Goteo desde las hojas y flujo por el tronco (colector)
- Hs Humedad del suelo (método gravimétrico)
- in Intercepción



- Lm Lixiviación (muestreo con cápsulas lisimétricas)
- Pd Precipitación directa al suelo (colector)
- Pe Percolación
- Pr Precipitación (pluviómetro)
- Ti Transporte interno de las plantas
- Tr Transpiración (incluye evaporación desde el suelo)

Fig 1 Ciclo del agua en sistemas agroforestales y medición de sus variables

ello, se utilizaron canaletas construidas con tubos de PVC rígidos, de tres metros de longitud y de 25 cm de diámetro, cortados longitudinalmente por una se-cante de 15 cm de ancho, resultando así una superfi-cie total de recolección de 0.5 m². Se colocaron cua-tro aparatos por sistema en estudio, sobre soportes de madera de 45 cm de altura y con una pendiente cons-tante de 2 por ciento. Durante seis meses (setiembre 1986 a febrero 1987), se realizaron observaciones en 33 eventos de lluvias. Los volúmenes de agua recogi-dos en los colectores se transformaron en valores de precipitación bajo el dosel, para cada uno de los sis-temas estudiados. La interceptación promedio se deter-minó para cada lluvia y sistema. Con base en estas ob-servaciones, se construyeron gráficos de interceptación en función de la precipitación a cielo abierto. Aten-diendo a las consideraciones de los modelos de inter-cepción de Rutter *et al.* (28, 29), las observaciones de interceptación se ajustaron a una función cuadrática de la precipitación a cielo abierto. En la primera parte de la curva, la interceptación aumenta paulatinamente a medida que se incrementa la precipitación, hasta lle-gar a un punto máximo, a partir del cual se mantiene constante.

Los datos de interceptación fueron sometidos a un análisis de covariancia con el fin de estudiar el efecto de los sistemas agroforestales sobre la interceptación.

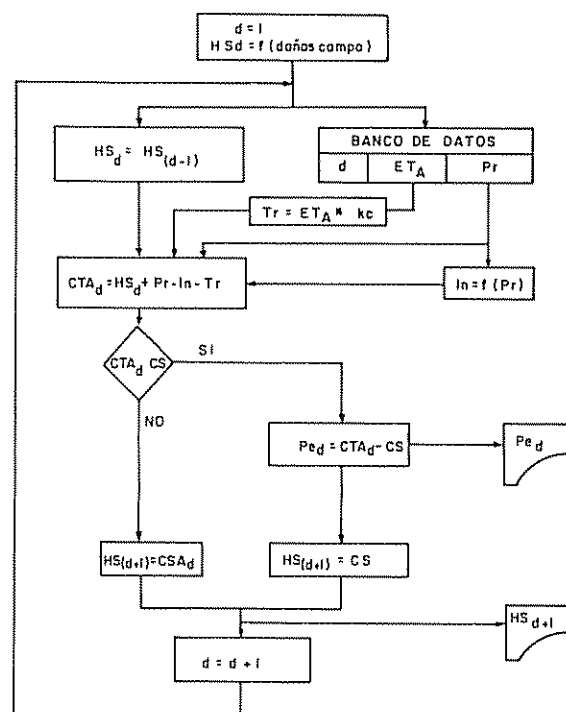
El flujo por los troncos no fue determinado por considerarse que su magnitud es pequeña (16) y su determinación muy costosa. La escorrentía superficial no existió bajo las condiciones del estudio ya que el experimento se estableció en una planicie.

La humedad del suelo fue medida con frecuencia bisemanal (octubre 1983 a marzo 1987), por métodos gravimétricos (10, 12). Las muestras a distintas pro-fundidades (0-15 cm, 15-30 cm, 30-60 cm y 60-90 cm) se obtuvieron usando un barreno de suelos; se toma-ron cinco repeticiones por estrato y fecha de mues-treo para cada uno de los sistemas en estudio. La pro-fundidad de trabajo se estableció con base en un in-ventario de biomasa del sistema que incluyó la deter-minación de la densidad de raíces, hasta una profun-didad de 45 cm mediante muestreo por barrenamien-tos (1). Este trabajo estableció que la biomasa de ra-íces disminuye notablemente con la profundidad, siendo casi nula su presencia en la capa de 30 a 45 cm. Entonces, se consideró razonable adoptar una profun-didad de perfil explorable por las raíces de 90 cm. Sin embargo, es necesario expresar que podrían existir raíces que superen el nivel adoptado, ya que no existe una investigación detallada de los sistemas radicales existentes en el sitio.

La percolación se calculó mediante un programa de simulación con computadora, empleado previa-

mente en sistemas similares (18). El funcionamiento del modelo formulado es el siguiente (Fig. 2):

- a) Con base en la información de humedad volumé-trica, densidad aparente y espesor de las capas de suelo consideradas, se determina el espesor del manto de agua total contenido en el suelo (en mm) en el primer día analizado ($d = 1$).
- b) Se determina la cantidad de agua transpirada y evaporada desde el suelo multiplicando la evapora-



CS	Capacidad de retención del agua del suelo
d	Día
ETA	Evaporación del tanque tipo A
MS _(d-1)	Contenido de agua del suelo al fin del día anterior
MS _(d)	Contenido de agua del suelo al comenzar el día
MS _(d+1)	Contenido de agua del suelo al final del día
CTAd	Contenido total de agua de suelo (variable auxiliar)
In	Interceptación
kc	Constante del cultivo
Ped	Percolación
Pr	Precipitación
Tr	Transpiración (Incluye evaporación del suelo)

Fig. 2. Diagrama de flujo del modelo de cálculo del balance hídrico adaptado de Imbach *et al.* (18)

ción (tanque tipo A) por una constante de cultivo específica del sistema agroforestal en estudio. Se supuso que la transpiración real fue igual a la potencial debido a que el suelo se encuentra permanentemente en capacidad de campo, por debajo de 30 cm de profundidad.

- c) Con base en el dato de precipitación del día analizado y con la función de intercambio de lluvia desarrollada para el sistema en estudio, se calcula la cantidad de lluvia interceptada (en mm).
- d) A la cantidad de agua contenida en el suelo se le adiciona la precipitación del día, y al total, se le deduce la interceptación y la transpiración del día.
- e) Cuando la cantidad de agua remanente (en mm) supera la capacidad total de retención de agua del suelo o capacidad de campo (en mm), el excedente se cuenta como agua percolada (en mm), y se considera que el suelo se encuentra, al final del día, a capacidad de campo.

Cuando la cantidad de agua total es inferior a la capacidad total de retención de agua del suelo, se considera que no hubo percolación y se adopta ese contenido de agua como estado hídrico del suelo al final del día.

- f) Se pasa a los cálculos del siguiente día, siguiendo la misma secuencia de operaciones descrita, y considerando como estado hídrico inicial del suelo en ese día al estado final del día anterior.

Este modelo es determinístico y no incluye efectos aleatorios, por lo que la bondad de sus resultados depende fundamentalmente de una buena estimación de los valores del coeficiente de cultivo (kc), para los cuales no se cuenta con información bibliográfica específica.

Esta circunstancia hizo necesaria una estimación de dichos valores, la cual se efectuó empleando el modelo descrito para generar estimaciones del contenido de agua del suelo, al final del día. Estas estimaciones fueron correlacionadas con el contenido real de agua del suelo calculado con los datos bisemanales de humedad del suelo ya descritos.

Corriendo el modelo varias veces, con diferentes valores de kc (0.6; 0.7; 0.8; 0.9; 1.0; 1.2), y de capacidad de campo (contenido de agua del suelo a 20 y 33 kPa de tensión) se obtuvieron distintos conjuntos de estimaciones. La estimación mejor correlacionada con los datos de campo permitió seleccionar los valores específicos de kc y de tensión de agua correspondiente a capacidad de campo para el sistema agroforestal en estudio.

Cuadro 2. Resultados del análisis de varianza de los datos de interceptación.

Fuente	GL	Cuadrado medio
Sistema agroforestal	1	66.68**
Precipitaciones (covariable)	26	3.58**
Error experimental	232	1.61

** ($P < 0.01$).

En este modelo, los valores obtenidos de interceptación y de transpiración (incluyendo la evaporación desde el suelo), se sumaron para calcular la evapotranspiración total (EVT).

El egreso de agua del perfil del suelo por percolación fue estimado mediante el modelo descrito, empleando los valores seleccionados de kc y tensión de agua correspondiente a capacidad de campo.

El modelo descrito fue empleado para calcular los valores de los distintos componentes del balance hídrico para el período de cuatro años, empleando la información meteorológica de octubre de 1983 a setiembre de 1987 y con los datos de interceptación obtenidos entre setiembre de 1986 a febrero de 1987. Esto implica que la información de interceptación fue extrapolada al período de cuatro años, sin considerar posibles diferencias atribuibles al crecimiento de la copa de los árboles.

Recolección y análisis de muestras de agua percolada

La solución que contiene los nutrientes lixiviados fue muestreada mediante el uso de cápsulas lisimétricas de 20 mm de diámetro externo y 60 mm de longitud colocadas en el suelo a 100 cm de profundidad, usando ocho repeticiones por sistema agroforestal estudiado. Tanto para la obtención del vacío como para la extracción de la muestra se empleó una bomba de vacío de mano, con un manómetro incorporado para obtener un vacío constante (80 kPa), en todas las cápsulas, a través del período de muestreo.

La toma de muestras comenzó el 15 de marzo de 1986 y se prolongó hasta el 15 de marzo de 1987, cubriendo un período de un año. La frecuencia de muestreo fue semanal.

Las muestras obtenidas se condujeron al laboratorio donde se procedió a unir las muestras semanales en muestras quincenales, efectuándose las determinaciones analíticas en estas últimas. A fin de evitar alteraciones durante la espera, hasta el momento de ser unidas, las muestras fueron almacenadas a -20°C .

Los análisis químicos practicados a las muestras y sus respectivos métodos fueron (5):

- a) Nitrógeno total, por el método de micro-Kjeldahl
- b) Fósforo, colorimétricamente, por coloración de azul de molibdeno con cloruro estañoso, como reductor.
- c) Potasio, calcio y magnesio, por espectrofotometría de absorción atómica.

Dada la elevada variabilidad de los datos recogidos, los mismos fueron transformados (con excepción de los datos de nitrógeno) antes de efectuar el análisis estadístico, empleando la ecuación $y' = \sqrt{y} + 0.5$. Asimismo y dada la existencia de valores perdidos, los datos fueron analizados por medio de un procedimiento de mínimos cuadrados y máxima verosimilitud (14)

En el modelo estadístico empleado para el análisis de los datos de concentración de minerales, se incluyeron varias covariables que procuraban reflejar la posible incidencia del ingreso de nitrógeno con la hojarasca de las plantas, la cantidad de lluvias, la influencia de las podas y de la fertilización y la distancia de los puntos de muestreo a los árboles. Cabe señalar que, dadas las características del manejo agronómico del Experimento Central del CATIE, el efecto de las podas y de la fertilización química estuvo confundido, siendo imposible aislar un efecto del otro.

Lixiviación de elementos nutritivos

El método empleado para hacer esta determinación fue el de muestreo de la concentración de nutrientes en la solución del suelo a 100 cm de profundidad y estimación del volumen de agua percolada mediante el modelo descrito. Este método ha sido considerado como el más adecuado de los existentes para este tipo de trabajo (34) y se ha empleado en trabajos recientes (22). Existen algunos cuestionamientos a esta metodología debido a que solamente se muestrea el agua de los macroporos (31). Sin embargo, Knight *et al.* (22) sostienen que, en condiciones de saturación las concentraciones de las soluciones de los macro y microporos, son similares. Este criterio fue seguido en este trabajo, dadas las características de contenido de agua de los suelos.

Con base en la información de percolación diaria, obtenida mediante el modelo de balance hídrico y en la concentración de los nutrientes en la solución del suelo, a 100 cm de profundidad, obtenida en las diferentes épocas, se calculó la media y la varianza de la masa de nutrientes lixivados para cada día en que

se produjo percolación. Sumando las pérdidas diarias a lo largo del año se obtuvo: el promedio, la varianza y la desviación estándar de la lixiviación anual de cada nutrimento en ambos sistemas.

Para el cálculo de la lixiviación, en el segundo periodo de observaciones (octubre 1983 a marzo 1987), se usó el valor promedio anual de percolación de agua y la concentración promedio de los elementos nutritivos en las muestras de agua lixiviadas, obtenida durante el único año de muestreo de esta variable.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características climáticas

Según la estación agrometeorológica del CATIE, la temperatura media (obtenida sobre cifras de 17 años)

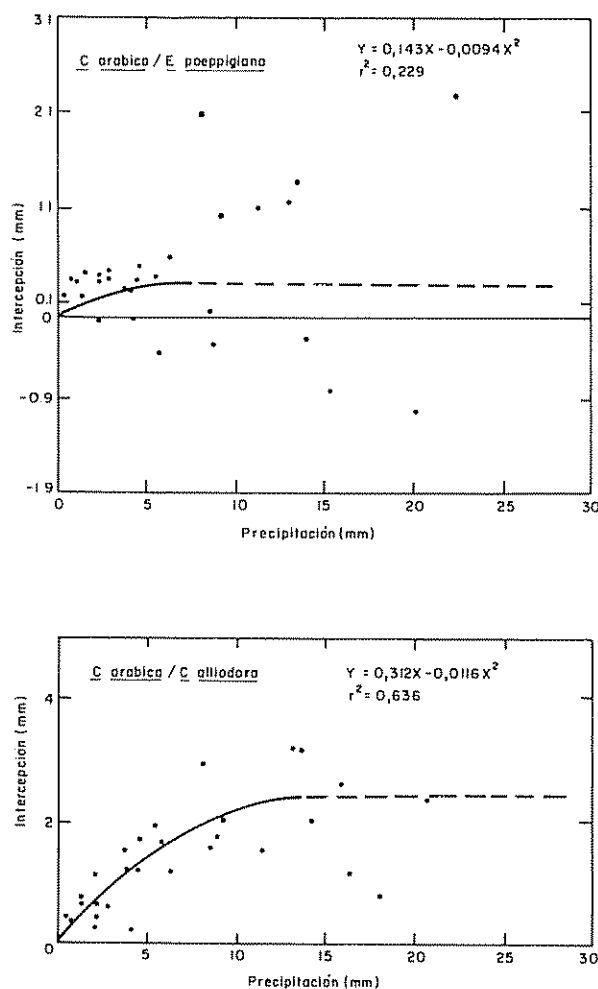


Fig. 3 Intercepción en función de la precipitación

del lugar es de 21.5°C, con una máxima media anual de 26.4°C y una mínima media anual de 18.0°C (20). Asimismo, la precipitación anual promedio (36 años) es de 2 642 mm, con un promedio de 21 días por mes con lluvia superior a 0.1 mm/día. La humedad relativa es elevada, con un promedio anual de 87.5% (17 años). La evaporación promedio anual, medida en tanque tipo A, es de 1 152 mm (20).

El Cuadro 1 muestra, a manera de ejemplo, la información climática mensual de precipitaciones y evaporación del tanque tipo A, obtenida durante un año (marzo 1986 a febrero 1987), en el Experimento Central. Durante este periodo, las lluvias se apartaron de las condiciones promedio del lugar particularmente en los meses de marzo y diciembre de 1986, en los cuales las precipitaciones fueron respectivamente mayores y menores que lo usual. Los eventos pluviosos presentan una distribución particular: sólo un 19.5 por ciento de las lluvias sobrepasaron 10 mm diarios, mientras que los eventos con lluvias mayores a 50 mm diarios, fueron importantes ya que aportaron el 20.5% del total de las lluvias (cinco eventos que totalizaron 400 mm).

El promedio anual de las lluvias en el periodo completo de estudio (octubre 1983 a setiembre 1987),

fue 2 001 mm/a, siendo también inferior al promedio histórico del lugar.

VARIABLES HIDROLOGICAS ESPECIFICAS

Intercepción

Del análisis de la Fig. 3 y de los coeficientes de determinación de las funciones obtenidas, surge claramente la elevada variabilidad de la intercepción en el sistema *C. arabica/E. poeppigiana* en comparación con la del otro sistema (*C. arabica/C. alliodora*). La misma puede atribuirse al manejo del dosel de *E. poeppigiana* que es podado intensamente cada seis meses, eliminándose la totalidad de sus ramas y hojas.

La intercepción máxima estimada fue de 0.6 mm en el sistema con *E. poeppigiana* y de 2.2 mm en la asociación con *C. alliodora*. El análisis de covarianza mostró que la diferencia en intercepción entre ambos sistemas es significativa (Cuadro 2).

Una consecuencia directa de esta diferencia es que el total de lluvia interceptada en el sistema *C. arabica/C. alliodora* es cuatro veces superior al registrado en *C. arabica/E. poeppigiana* (Cuadro 4). El total de precipitación interceptada en cada sistema fue similar en los periodos de uno y cuatro años (Cuadro 3).

Cuadro 3. Balance hídrico anual de los sistemas agroforestales *C. arabica* con *E. poeppigiana* o con *C. alliodora*

	<i>C. arabica/E. poeppigiana</i>		<i>C. arabica/C. alliodora</i>	
	(mm)	(%)	(mm)	(%)
1 Periodo: 15 marzo 1986 a 15 marzo 1987				
Lluvia	1 923	100.0	1 923	100.0
Intercepción	68	3.5	260	13.5
Transpiración	811	38.7	702	36.5
Evapotranspiración	879	42.2	962	50.0
Percolación	1 044	54.3	961	50.0
2 Periodo: Octubre 1983 a setiembre 1987				
Lluvia: total	8 005		8 005	
anual	2 004	100.0	2 001	100.0
Intercepción: total	280		1 081	
anual	70	3.5	270	13.5
Transpiración: total	3 378		2 922	
anual	845	42.2	730	36.5
Evapotranspiración: total				
anual	3 658		4 002	
	915	45.7	1 001	50.0
Percolación: total	4 347		4 002	
anual	1 086	54.3	1 000	50.0

La intercepción máxima ocurre en la asociación con *C. alliodora* a partir de 15 mm de precipitación, mientras que en el sistema con *E. poeppigiana* sólo son necesarios 8 mm de lluvia para alcanzar la máxima intercepción

El reducido valor de la intercepción máxima en la asociación *C. arabica/E. poeppigiana* (0.6 mm) puede atribuirse tanto al manejo del dosel antes descrito como a las características de las hojas de ambas especies (rugosidad, cerosidad, rigidez, tamaño, arquitectura), lo que hace que retengan poca cantidad de agua en su superficie. Asimismo, los valores negativos de intercepción que se aprecian en la Fig. 3 para este sistema reflejan que, bajo ciertas condiciones, algunos colectores recogieron el agua canalizada hacia ciertos puntos desde áreas del dosel mayores que la superficie del colector. Estos valores individuales y su efecto sobre los promedios de los eventos fueron mantenidos, por considerarse que reflejan aspectos importantes del fenómeno de intercepción en este sistema.

El comportamiento diferente de la intercepción en el sistema *C. arabica/C. alliodora* puede atribuirse a que el dosel de *C. alliodora* no está sujeto a un manejo intenso y su arquitectura y hojas tienen distintas características.

Los resultados obtenidos difieren de los de Jiménez Otárola (16), quien presentó mayores niveles de intercepción en *C. arabica/E. poeppigiana* (16% de la precipitación total) que en *C. arabica/C. alliodora* (8%). Esta diferencia debe atribuirse al sistema especial de muestreo usado por el autor citado y al empleo de es-

timaciones de precipitación bajo dosel en función lineal de la precipitación a cielo abierto. Estas últimas resultan riesgosas puesto que implican aceptar que la intercepción aumenta indefinidamente según se incrementa la precipitación.

Variaciones del contenido de agua en el suelo

En la Fig. 4 se presentan las variaciones del contenido de agua en el suelo durante un año de estudios (5 setiembre 1983 a 3 setiembre 1984). Analizando la Fig. 4, puede verificarse que en la capa superficial (0-15 y 15-30 cm de profundidad), la absorción de agua por las raíces hace que la humedad del suelo disminuye hasta valores correspondientes a tensiones del orden de 200 kPa. Sin embargo, la ocurrencia de lluvias (por ejemplo, entre el 21 de febrero y el 5 de marzo) conlleva un aumento del contenido de agua en esta capa.

Las curvas de humedad en el subsuelo, a profundidades de 30 a 60 cm y especialmente de 60 a 90 cm, muestran que el suelo a estas profundidades está a capacidad de campo (tensión entre 20 y 30 kPa). De esta forma, el agua que percola de las capas superiores se convierte íntegramente en agua freática.

Simulación de la transpiración

La Fig. 5 muestra los resultados de contenido total de agua del suelo (mm) obtenidos con el modelo de simulación, empleando los valores más adecuados de

Cuadro 4. Concentraciones de los elementos nutritivos (mg l⁻¹) en el agua de lixiviación de dos sistemas agroforestales estudiados: 1) *C. arabica/E. poeppigiana* 2) *C. arabica/C. alliodora*

	n	Mínimo	Máximo	Media*	Media*	S**
N	1) 199	0.41	0.75	0.55a	—	0.011
	2) 208	0.41	0.93	0.60a	—	0.011
P	1) 214	0.00	0.22	0.06	0.75a	0.0026
	2) 236	0.00	0.21	0.06	0.74a	0.0025
K	1) 212	0.07	0.36	0.17	0.82b	0.0032
	2) 230	0.08	0.33	0.21	0.85a	0.0031
Ca	1) 215	1.64	3.44	2.15	1.62a	0.021
	2) 236	0.44	1.22	0.69	1.09b	0.021
Mg	1) 216	1.32	2.27	1.52	1.42a	0.019
	2) 238	0.49	1.06	0.76	1.12b	0.013

* Valor retransformado, excepto N

** Valor transformado ($\sqrt{y + 0.5}$), excepto N

Nota: Los promedios con la misma letra no tienen diferencias significativas ($\alpha = 0.05$)

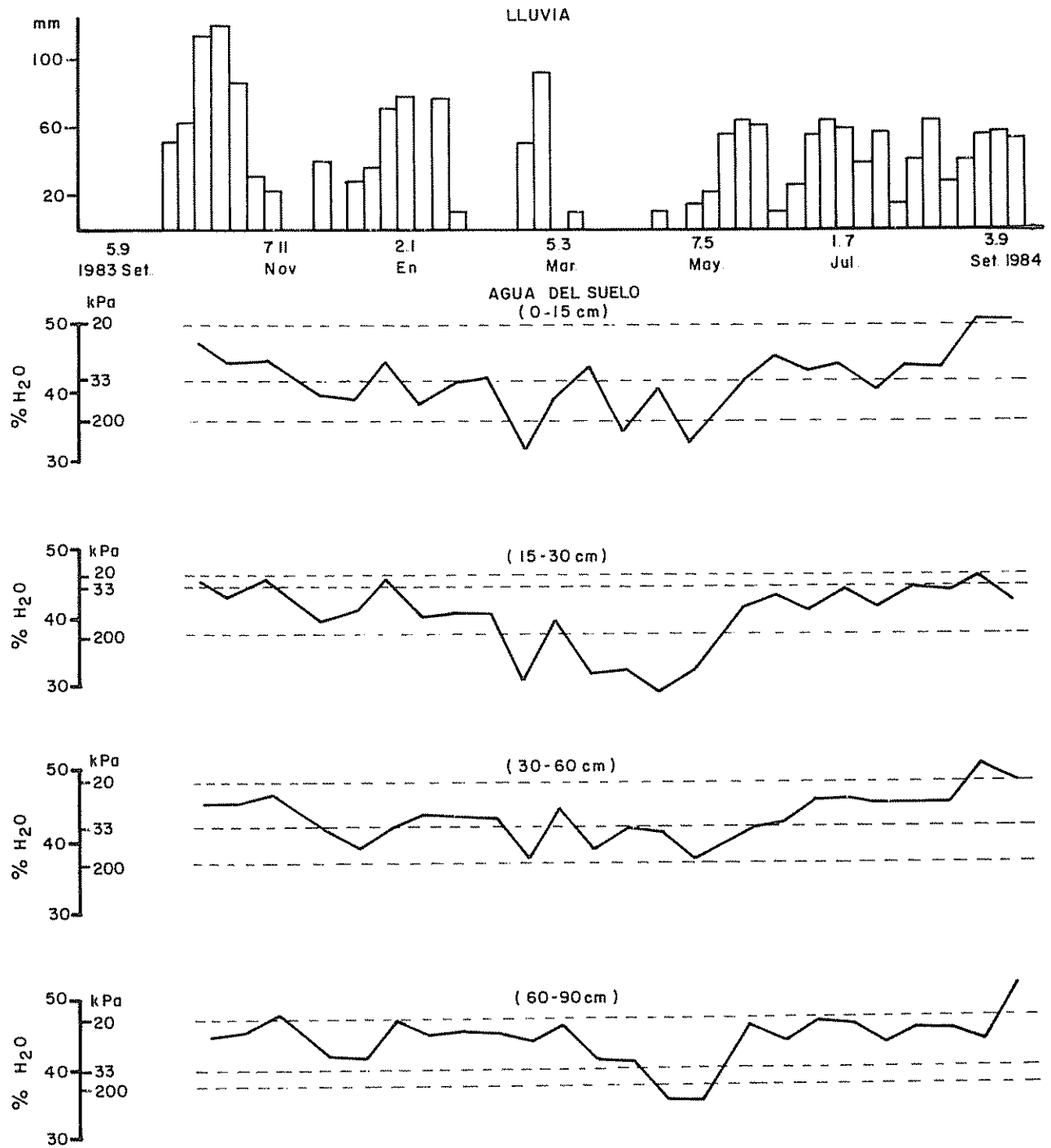


Fig 4 Variación anual de la lluvia y del contenido de agua en el suelo de un sistema agroforestal de café con laurel en Turrialba, Costa Rica

kc y de tensión de agua correspondiente a capacidad de campo para ambos sistemas. Dichos valores fueron:

C. arabica/E. poeppigiana kc: 0.8 Tensión: 0.33 bares

C. arabica/C. alliodora kc: 0.7 Tensión: 0.33 bares

Los coeficientes de correlación entre los contenidos de agua medidos y estimados son buenos (*C. arabica/E. poeppigiana* 0.740 y *C. arabica/C. alliodora* 0.718)

En el período marzo 1986 a marzo 1987, las cantidades absolutas de transpiración fueron diferentes, alcanzando 811 mm/a (42.2% de las lluvias) en el sistema *C. arabica/E. poeppigiana* y 702 mm/a (36.5% de la lluvia) en *C. arabica/C. alliodora* (Cuadro 3). El manejo del dosel superior mediante podas parece tener un papel importante en el balance hídrico de los sistemas agroforestales estudiados. La poda semestral de *E. poeppigiana* origina un aumento de la temperatura y del viento en el estrato del café, lo cual activa la absorción de agua, tal como ha sido señalado por distintos autores (2, 32)

Los valores promedio de transpiración para el período completo de estudios fueron de 845 y 730 mm/a para los sistemas de *C. arabica* con *E. poeppigiana* y con *C. alliodora*, respectivamente (Cuadro 3). La evaporación diaria promedio es, entonces, de aproximadamente 2.3 y 2.0 mm diarios para estos sistemas

Con respecto a los valores citados en la bibliografía, hay coincidencia entre los obtenidos en este trabajo y los presentados por Pereira (24) para Kenia Hay, en cambio, una fuerte diferencia con los resultados de Franco e Inforzato (11) de 1.120 mm/a en *C. arabica* con *Inga* sp. Esta diferencia debe atribuirse al método de trabajo ya que estos autores extrapo-

laron los valores de transpiración de hojas de plantas pequeñas en macetas, al área foliar total de las plantaciones de *C. arabica* asociado con *Inga* sp.

Asimismo, existen diferencias con los resultados obtenidos por Jiménez Otárola (20) para los mismos sistemas y lugares, debido a que este investigador empleó valores de kc de 1.3 y 1.2 para las asociaciones con *E. poeppigiana* y con *C. alliodora*, respectivamente, siguiendo indicaciones de la bibliografía (6, 7). Estos valores resultan ser mucho más elevados que los hallados en el presente trabajo, aunque coinciden en señalar una mayor transpiración para la asociación con *E. poeppigiana*.

Evapotranspiración total de los sistemas

Los valores absolutos de evapotranspiración de los dos sistemas estudiados presentan poca diferencia: 915 mm/a en *C. arabica/E. poeppigiana* y 1.000 mm/a en *C. arabica/C. alliodora* (Cuadro 3)

En este comportamiento influyen dos procesos contrapuestos; la intercepción resulta mayor en el sistema con *C. alliodora*, tal como se ha descrito, proceso que se compensa por la mayor transpiración del sistema con *E. poeppigiana*, obteniéndose así valores similares de evapotranspiración total. También resulta importante destacar que las diferencias, en ambos procesos, están ligadas a las mismas causas: el distinto manejo de la copa de los árboles asociados al cultivo y las distintas características de la copa y hojas de ambas especies arbóreas

Perculación

La percolación fue estimada por el modelo en 1.044 mm anuales en el sistema *C. arabica/E. poeppigiana* y 961 mm/a en *C. arabica/C. alliodora*, lo que evidencia que la mayor transpiración del sistema con *E. poeppigiana* fue superada por la mayor intercep-

Cuadro 5. Lixiviación de elementos nutritivos (kg/ha⁻¹ a⁻¹) de los sistemas agroforestales *C. arabica* con *E. poeppigiana* o *C. alliodora*

	Sistemas agroforestales					
	<i>C. arabica/E. poeppigiana</i>			<i>C. arabica/C. alliodora</i>		
	1. Período (marzo 1986-marzo 1987)		2. Período (1983-1987)*	1. Período (marzo 1986-marzo 1987)		2. Período (1983-1987)*
Promedio	s	Promedio	Promedio	s	Promedio	
N	5.79	0.22	6.02	5.61	0.27	6.03
P	0.66	0.15	0.70	0.48	0.10	0.55
K	1.81	0.11	1.84	2.01	0.15	2.15
Ca	27.97	2.68	23.39	7.89	0.71	6.92
Mg	17.81	1.32	16.54	7.17	0.48	7.64

* Valores obtenidos por extrapolación

ción de la asociación con *C. alliodora*, la cual presentó menor percolación en el balance final

Es interesante señalar que en ambos casos, el agua percolada representó aproximadamente la mitad de la precipitación total, lo cual coincide con las estimaciones efectuadas por Russell (26), en sucesiones secundarias próximas al sitio de trabajo

En este punto se debe señalar la posible ocurrencia de sobreestimación de los valores citados de percolación debido a que el balance sólo consideró los primeros 90 cm del suelo en función de los estudios previos de densidad de raíces ya citados. Si existiese esta sobreestimación la misma afectaría también a los valores de lixiviación de nutrimentos

Asimismo, el análisis de la distribución anual del agua percolada muestra que, pese a la inexistencia de una estación seca marcada, en el sitio del experimento, la percolación se concentra entre junio y noviembre (70% del volumen percolado), lo cual coincide con la época de lluvias intensas (15)

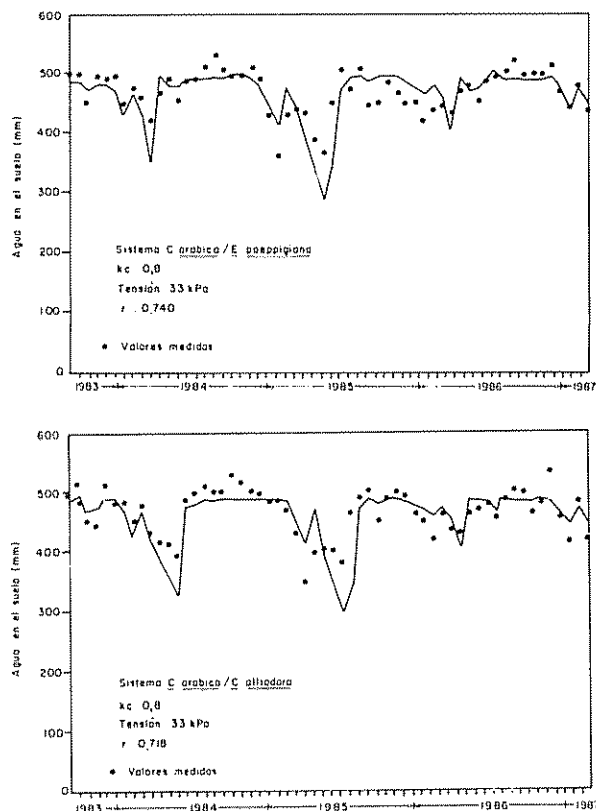


Fig 5 Ajuste del modelo de balance hídrico de los sistemas agroforestales estudiados

Obviamente, los resultados obtenidos no son comparables con los de Pereira (24), debido a que este investigador trabajó bajo condiciones de riego, así como tampoco lo son con los presentados por Jiménez Otárola (20), debido a las diferencias señaladas en los puntos anteriores en cuanto a interceptación y transpiración

LIXIVIACION DE ELEMENTOS NUTRITIVOS

Concentraciones en el agua de lixiviación

Las concentraciones de N y P de los sistemas estudiados no presentan diferencias significativas ($\alpha = 0.05$). Las concentraciones de Ca y Mg son más elevadas (Cuadro 4) en el sistema *C. arabica/E. poeppigiana*, mientras que la de potasio resultó mayor en *C. arabica/C. alliodora*

En la Fig 6 se presentan las variaciones de las concentraciones de N en el agua de lixiviación registradas en ambos sistemas, a lo largo del periodo de estudio. Los niveles las mismas fueron similares en ambos sistemas. El análisis de las covariables consideradas mostró que las variaciones observadas no están relacionadas con el ingreso de N con la hojarasca, la intensidad de las lluvias o la distancia a los árboles. Sin embargo, se registró, una influencia significativa de la covariable poda/fertilización química sobre la concentración de nitrógeno en la solución de lixiviación

Asimismo, la Fig 6 muestra las variaciones estacionales de la concentración de Ca en el agua de lixiviación de ambos sistemas. En este caso, se observó que dicha concentración fue mucho mayor y más variable en el sistema con *E. poeppigiana* que en el sistema con *C. alliodora*. La influencia de las covariables consideradas es similar al caso del nitrógeno, aunque la influencia de poda/fertilización es menos marcada ($0.90 < p < 0.95$). En los restantes nutrimentos analizados no hubo influencia de ninguna covariable.

El hecho de que el ciclaje de importantes cantidades de nitrógeno con la hojarasca del árbol leguminoso (*E. poeppigiana*) no tuvo influencia alguna sobre la lixiviación de minerales es un hallazgo digno de mención

Lixiviación de elementos nutritivos

Las pérdidas de N, P y K en ambos sistemas son relativamente pequeñas, aproximadamente de 6.0 kg/ha/a, 0.6 kg/ha/a y 2.0 kg/ha/a respectivamente (Cuadro 5). Estas pérdidas son de poca importancia en su aspecto agronómico, en particular cuando son comparadas con la fertilización de 80 kg N, 105 kg P_2O_5 y 66 kg K_2O por hectárea y por año

Cuadro 6. Lixiviación de nutrientes en distintos ecosistemas y condiciones ecológicas.

Sistema	Edad (años)	Especies predominantes o lugar	Temperatura media (°C)	PPTAC. anual (mm)	Profundidad de muestreo (cm)
Bosque templado-frío	42	<i>Pseudotsuga</i> sp	9.8	1 360	100
Bosque templado-frío	45	<i>Picea abies</i>	2.2	650	100
Bosque templado-frío	87	<i>Picea abies</i>	5.9	1 063	50
Bosque templado	50	<i>Liriodendron</i> sp.	13.3	1 400	60
Bosque templado-frío	122	<i>Fagus sylvatica</i>	6.1	1 063	50
Bosque templado-frío	80	<i>Quercus-Betula</i>	7.8	1 115	100
Bosque templado-frío	30	<i>Alnus rubra</i>	9.8	1 360	100
Bosque templado-frío	110	<i>Pinus contorta</i>	s.d.	600	100
Bosque tropical	s.d.	Río Negro (Ven.)	26.0	3 500	40
Bosque tropical	s.d.	La Selva (C. Rica)	23.0	3 800	50
Bosque tropical	s.d.	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
B. trop. explotado	s.d.	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
B. trop. quemado	s.d.	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
<i>Pinus</i> sp.	0.5	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
<i>Pinus</i> sp.	10.5	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
<i>Pinus</i> sp.	15**	Jari (Brasil)	s.d.	s.d.	s.d.
<i>Musa</i> sp. (banano)	s.d.	Costa de Marfil	s.d.	2 040	s.d.
<i>Hevea</i> sp. (hule)	s.d.	Costa de Marfil	s.d.	1 570	s.d.
<i>Oryza sativa</i> (arroz)	s.d.	Filipinas	s.d.	2 000	s.d.
<i>Oryza sativa</i> (arroz)	s.d.	Filipinas	s.d.	2 000	s.d.
Suelo desnudo	s.d.	Colombia	s.d.	2 622	100
Suelo cubierto	s.d.	<i>Indigophera</i> sp.	s.d.	2 622	100
Suelo cubierto	s.d.	<i>Mulch Inga</i> sp.	s.d.	2 787	100
Cacao***	s.d.	Bahía, Brasil	s.d.	606	80
Sist. agroforestal	17	Itabuna, Brasil	s.d.	s.d.	s.d.
Sist. agroforestal	9	Café-poró	21.0	1 923	100
Sist. agroforestal	9	Café-laurel	21.0	1 923	100
Sist. agroforestal	9	Cacao-poró	21.0	1 923	100
Sist. agroforestal	9	Cacao-laurel	21.0	1 923	100

Continuación Cuadro 6. Lixiviación de nutrientes en distintos ecosistemas y condiciones ecológicas.

Sistema	Nutrientos					Fuentes información
	N	P	K kg/ha/año	Ca	Mg	
Bosque templado-frío	0.6	0.02	1.0	4.5	s.d.	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	0.9	0.06	2.2	2.3	0.5	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	14.9	0.02	2.1	13.5	3.7	Cole y Rapp (4)
Bosque templado	3.5	0.02	8.9	44.5	s.d.	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	6.0	0.10	2.9	12.7	3.7	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	12.6	0.20	8.3	59.8	6.0	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	1.7	s.d.	s.d.	2.2	s.d.	Cole y Rapp (4)
Bosque templado-frío	0.1	0.01	0.9	10.9	4.5	Knight (22)
Bosque tropical	s.d.	14.36-	2.3-	1.1-	0.3-	Jordan (21)
Bosque tropical	4.0	0.00	8.0	8.0	1.3	Mc Coll (1974)*
Bosque tropical	s.d.	0.04	12.7	16.7	8.1	Russell, C. (27)
B. trop. explotado	s.d.	0.08	37.1	39.1	16.1	Russell, C. (27)
B. trop. quemado	s.d.	0.21	199.5	103.7	146.6	Russell, C. (27)
<i>Pinus</i> sp.	s.d.	0.16	89.9	89.9	47.7	Russell, C. (27)
<i>Pinus</i> sp.	s.d.	0.05	9.6	12.1	6.1	Russell, C. (27)
<i>Pinus</i> sp.	s.d.	0.08	9.9	17.5	6.3	Russell, C. (27)

<i>Musa</i> sp (banano)	235.0	s. d.	24.0	256.0	113.0	Chareau (3)
<i>Heyca</i> sp (hule)	79.0	s. d.	63.0	31.0	40.0	Chareau (3)
<i>Oryza sativa</i> (arroz)	2.0	s. d.	16.0	78.0	91.0	Reyes (25)
<i>Oryza sativa</i> (arroz)	11.0	s. d.	60.0	391.0	313.0	Reyes (25)
Suelo desnudo	426.0	0.26	269.3	907.1	273.5	S. de Castro (33)
Suelo cubierto	70.8	0.11	124.5	696.8	238.8	S. de Castro (33)
Suelo cubierto	377.0	0.07	251.9	887.3	355.9	S. de Castro (33)
Cacao***	6.0	0.20	5.0	23.9	5.2	Oliveira (23)
Sist agroforestal	68.0	0.50	2.0	38.0	63.0	Santana (30)****
Sist agroforestal	5.8	0.66	1.8	28.0	17.8	Este trabajo
Sist agroforestal	5.0	0.41	1.8	7.0	6.3	Este trabajo
Sist agroforestal	4.7	0.38	1.3	13.5	16.9	Este trabajo
Sist agroforestal	4.4	0.36	1.0	5.5	4.8	Este trabajo

* datos citados en Fassbender (1984).

** después de 8.5 años de *Gmelina arborea*

*** datos de siete meses solamente.

**** datos citados en Sanchez (1985)

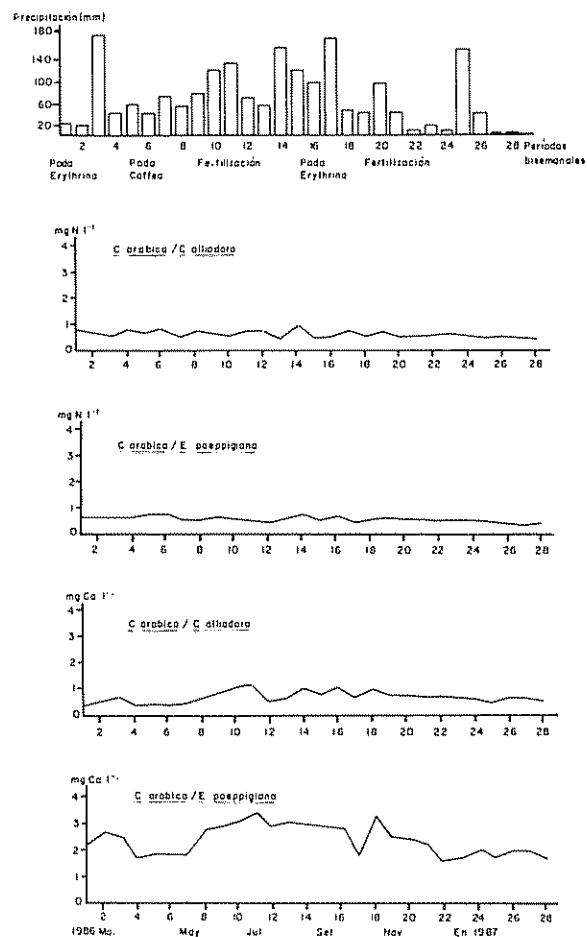


Fig. 6 Variación de las concentraciones de N y Ca en el agua percolada de los sistemas *C. arabica* con *C. alliodora* o *E. poeppigiana*

(1, 7) y las reservas totales de estos elementos en los suelos que fueron de 8 500 kg/ha⁻¹ de N, 2 800 kg/ha⁻¹ de P y 650 kg/ha⁻¹ de K en los primeros 45 cm del suelo (1, 7)

Las pérdidas de Ca y Mg son de mayor magnitud e importancia, especialmente en el sistema con *E. poeppigiana*, ya que ellas cuadruplican los valores registrados en el otro sistema. Sin embargo, comparando las tasas de lixiviación de Ca de ambos sistemas con sus reservas en los primeros 45 cm de suelo (2 835 kg/ha⁻¹ en el sistema con *E. poeppigiana* y 2 783 kg Ca·ha⁻¹ en el sistema con *C. alliodora* (1, 9), se desprende que ellas tampoco son muy graves

De todas las pérdidas observadas, las de magnesio en el sistema con *E. poeppigiana* son las únicas que pueden considerarse como atendibles por su magnitud (16.5 kg/ha/a), ya que implicarían, si todo transcurriese linealmente, que en 35 años podría agotarse el magnesio de los primeros 45 cm del suelo cuyo valor es de 573 kg/ha⁻¹ (1, 9). Sin embargo y a igual que en el caso del calcio, la reposición de las pérdidas de este nutriente por fertilización en las cantidades citadas no constituye problemas alguno, ni técnico ni económico

En una publicación previa (18), se informó que el ingreso de nutrientes con el agua de lluvia en estos sistemas era de 26.5 kg/ha/a de nitrógeno; 2.8 kg/ha/a de fósforo; 9.6 kg/ha/a; 2.0 kg/ha/a de calcio y 3.5 kg/ha/a de magnesio.

Comparando estos valores de ingreso con las lluvias, con los valores de egreso con el agua de lixiviación (Cuadro 5), se concluye que existe acumulación

de N, P y K y pérdidas de Ca y Mg en los sistemas estudiados

Dado que no se encontraron trabajos similares publicados, se hizo una comparación general con los niveles de lixiviación de otros ecosistemas. Obviamente, esta comparación no tiene validez absoluta, dada las disparidades metodológicas y ambientales pero permite apreciar genéricamente cómo se ubican los sistemas agroforestales con relación a otros sistemas. La

comparación mostró que la lixiviación en los sistemas agroforestales es comparable a la de los ecosistemas forestales nativos o implantados de cualquier latitud y sitio (Cuadro 6).

Esta característica es muy interesante ya que pone de relieve un aspecto positivo muy importante, desde la perspectiva de los sistemas de producción sostenibles y de bajos insumos, como alternativa productiva para los agricultores del trópico.

LITERATURA CITADA

- ALPIZAR, L.; FASSBENDER, H.W.; HEUVELDOP, J.; FOLSTER, H.; ENRIQUEZ, G. 1985. Sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica*) con laurel (*Cordia alliodora*) y con poró (*Erythrina poeppigiana*) en Turrialba, Costa Rica. I. Biomasa y reservas nutritivas. Turrialba (C.R.) 35(3):233-242.
- BARRADAS, V.L.; FANJUL, L. 1984. La importancia de la cobertura arbórea en la temperatura del agroecosistema cafetalero. Biotica (Méx.) 9(4):415-421.
- CHAREAU, C. 1972. Problemes poses par l'utilisation agricole des sols tropicaux par des cultures annuelles. Agronomie Tropicale (Francia) 27:905-929.
- COLE, D.W.; RAPP, M. 1981. Elemental cycling in forest ecosystems. In Dynamic properties of forest ecosystems. Ed. by Reichle, D.E. Cambridge, Cambridge University Press p. 341-409.
- DIAZ ROMEU, R.; HUNTER, R. 1978. Metodología de muestras de suelos, análisis químico e investigación de invernadero. Turrialba, C.R., CATIE 62 p.
- DOORENBOS, J.; PRUITT, W.O. 1984. Guidelines for predicting crop water requirements. Ed. rev. Roma, FAO 144 p. (FAO Irrigation and Drainage Paper no. 24).
- DOORENBOS, J.; PRUITT, W.O. 1976. Las necesidades de agua de los cultivos. Roma, FAO. 194 p. (Estudio FAO: Riego y drenaje no. 24).
- FASSBENDER, H.W. 1987. Modelos edafológicos de sistemas agroforestales. Turrialba, C.R., CATIE 475 p.
- FASSBENDER, H.W.; ALPIZAR, L.; HEUVELDOP, J.; ENRIQUEZ, G.; FOLSTER, H. 1985. Sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica*) con laurel (*Cordia alliodora*) y café con poró (*Erythrina poeppigiana*) en Turrialba, Costa Rica. III. Modelos de la materia orgánica y los elementos nutritivos. Turrialba (C.R.) 35(4):403-413.
- FORSYTHE, W. 1975. Física de suelos. San José, C.R., IICA. 211 p.
- FRANCO, C.M.; INFORZATO, R. 1951. Quantidade de agua transpirada pelo cafeeiro sombreado e pelo Ingazeiro. Bragantia (Brasil) 4(6):121-125.
- GAVANDE, S. 1972. Física de suelos; principios y aplicaciones. México, Limusa. 351 p.
- GRIMM, U.; FASSBENDER, H.W. 1981. Ciclos biogeoquímicos en un ecosistema forestal de los Andes Occidentales de Venezuela. III. Ciclos hidrológicos y translocación de elementos y químicos con el agua. Turrialba 31:89-99.
- HARVEY, W.R. 1987. Mixed model least-squares and maximum likelihood computer program. Columbus, Ohio State University.
- HEUVELDOP, J.; FASSBENDER, H.W.; ALPIZAR, L.; ENRIQUEZ, G.; FOLSTER, H. 1985. Sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica*) con laurel (*Cordia alliodora*) y café con poró (*Erythrina poeppigiana*) en Turrialba, Costa Rica. II. Producción agrícola, maderable y de residuos vegetales. Turrialba (C.R.) 35(4):347-355.
- HILLEL, D. 1980. Fundamentals of soil physics. New York, Academic Press. 413 p.
- IMBACH, A.C. 1987. Lixiviación de nutrimentos principales en cuatro sistemas agroforestales con cultivos perennes de Turrialba, Costa Rica. Tesis Mg. Sc. Turrialba, C.R., Programa UCR-CATIE. 167 p.
- IMBACH, A.C.; FASSBENDER, H.W.; BOREL, R.; BEER, J.; BONNEMANN, A. 1988. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) and cacao with poró (*Erythrina poeppigiana*). IV. Water balances, nutrient inputs and lixiviation. Agroforestry Systems (Holanda) (en prensa).
- JIMENEZ, E. 1980. Efecto de diferentes estructuras sobre el balance hídrico del cafetal. In Memorias I. Simposio-Estudios ecológicos en el agroecosistema cafetalero. Xalapa, Veracruz, México.
- JIMENEZ OTAROLA, F. 1986. Balance hídrico con énfasis en percolación de dos sistemas agroforestales: café-poró y café-laurel, en Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C.R., Programa UCR-CATIE 104 p.
- JORDAN, C.F. 1982. The nutrient balance of an Amazonian rain forest. Ecology (EE.UU.) 63(3):647-554.

22. KNIGHT, D.H.; FAHEY, T.J.; RUNNING, S.W. 1985. Water and nutrient outflow from contrasting lodgepole pine forests in Wyoming. *Ecological Monographs* (EE.UU.) 55(1):29-48.
23. OLIVEIRA LEITE, J. 1984. Perdas de água e nutrientes em uma plantação de cacau do sul de Bahia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* (Brasil) 8(3):337-345.
24. PEREIRA, H.C. 1959. Field measurements of water use for irrigation control in Kenia coffee. *Journal of Agricultural Science* 49:459-467.
25. REYES, E.; GALVEZ, N.C.; NAZARENO, N.B. 1961. Lysimeter studies on Lipa clay loam grown to paddy rice. *Philippine Agriculture* (Filipinas) 45: 246-257.
26. RUSSELL, A.E. 1983. Nutrient leaching during large storms in tropical successional ecosystems. M.S. thesis Gainesville, University of Florida. 140 p.
27. RUSSELL, C.E. 1983. Nutrient leaching and productivity in native and plantation forests in Jari Florestal, Para, Brazil. Ph.D. thesis Athens, University of Georgia.
28. RUTTER, A.J.; MORTON, A.J.; ROBINS, P.C. 1975. A predictive model of rainfall interception in forests II. Generalization of the model and comparison with observations in some coniferous and hardwood stands. *Journal of Applied Ecology* (EE.UU.) 12:367-380.
29. RUTTER, A.J.; MORTON, A.J. 1977. A predictive model of rainfall interception in forests. III. Sensitivity of the model to stand parameters and meteorological variables. *Journal of Applied Ecology* (EE.UU.) 14:567-588.
30. SANTANA, M.B.M.; CABALA-ROSAND, P. 1985. Reciclagem de nutrientes em uma plantação de cacau sombreada com eritrina. In *International Cocoa Research Conference* (9, 1984, Lomé, Togo). 1985. *Proceedings*. Lagos, Nigeria, Cocoa Producers' Alliance. p. 205-210.
31. SCHAFER, K.A.; FRITTON, D.D.; BAKER, D.E. 1979. Drainage water sampling in a wet, dual pore system. *Journal of Environmental Quality* (EE.UU.) 8:241-246.
32. SCHROEDER, R. 1951. Resultados obtenidos de una investigación del micro-clima en un cafetal. *CENICAFE* (Colombia) 2(18):33-43.
33. SUAREZ DE CASTRO, F.; RODRIGUEZ GRANDAS, A. 1962. Investigaciones sobre la erosión y la conservación de los suelos en Colombia. Bogotá, Federación nacional de Cafetaleros de Colombia. 473 p.
34. ULRICH, B.; BENECKE, P.; HARRIS, W.S.; KHANNA, P.H.; MAYER, R. 1981. Soil Processes. In *Dynamic properties of forest ecosystems*. Ed. by Reichle, D.E. Inglaterra, Cambridge University Press. p. 265-339.

Ciclo Biológico y Reproducción Partenogenética de la Broca del Fruto del Cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferr.)¹

R. Muñoz*

ABSTRACT

In the laboratory, it was shown that the developmental cycle of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* (Ferr.)) is 35.8 days (9.4 days in incubation, 19.8 days in the larval stage, and 6.6 days in the pupal stage) with a temperature of $23.3 \pm 2.5^\circ\text{C}$ and a relative humidity of $81.6 \pm 12.4\%$. The maximum life period of the adult borer was observed to be 131 days. Adult borer females kept in insolation were able to produce fertile eggs up to a second generation, without the presence of males (parthenogenetic reproduction). Some parthenogenetic eggs were fertile and others infertile. It was observed that the parthenogenetic reproduction of the coffee berry borer was of the thelytocia type, and not of the arrhenotokous type. The maximum number of parthenogenetic eggs laid by one borer was 46. Data obtained from eggs laid by borers under laboratory conditions are presented, as well as on growth of borers from eggs and pupae collected in the field. Research on the borer life cycle should continue under both laboratory and field conditions to determine the effects of variable temperature and humidity, and to allow characterization of the observed parthenogenesis as sporadic, facultative or obligatory.

INTRODUCCION

El tipo más común de reproducción que ocurre en la mayoría de insectos adultos, cuando los órganos sexuales han adquirido madurez, es la sexual, que requiere la cópula entre la hembra y el macho, con el fin de darle continuidad a la especie; sin embargo, se observan ciertas variaciones, y una de ellas es la partenogénesis, o sea cuando la reproducción tiene lugar sin que ocurra la fertilización del huevo.

En relación a la broca del fruto del cafeto, *Hypothenemus hampei* (Ferr.), varios autores han estudiado su ciclo biológico, en diferentes condiciones de campo y/o laboratorio. De estas investigaciones se han obtenido datos muy valiosos que sirven para tener un

COMPENDIO

En condiciones de laboratorio con temperatura de $23.3 \pm 2.5^\circ\text{C}$ y $81.6 \pm 12.4\%$ H.R. se determinó que el ciclo biológico de la broca del fruto es de 35.8 días (9.4 días de incubación, 19.8 días en estado larval y 6.6 días en estado pupal). La longevidad máxima alcanzada por una broca adulta fue de 131 días. Hembras adultas de broca mantenidas en aislamiento fueron capaces de producir huevos fértiles hasta una segunda generación, sin ser apareadas con el macho (reproducción partenogenética). Entre los huevos ovipositados por partenogénesis, existieron unos fértiles y otros infértiles. En las condiciones del estudio, la broca presentó reproducción partenogenética, del tipo de telitocia y se determinó que no es el tipo arrenotoquia. El número máximo de huevos ovipositados partenogenéticamente por una broca fue de 46. Se presentan datos obtenidos a partir de huevos ovipositados por broca en laboratorio así como crianza de broca a partir de huevos y pupas colectadas en el campo. Se recomienda continuar con el estudio de ciclo biológico del insecto, en condiciones controladas, o no, de temperatura y humedad relativa, así como determinar si la partenogénesis presentada es esporádica, facultativa u obligatoria.

mejor conocimiento sobre el comportamiento de la plaga; sin embargo, ninguno de ellos informa el hecho de que las hembras de la broca pueden reproducirse partenogenéticamente, en forma fértil.

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la duración de los estados de desarrollo del insecto, en condiciones de laboratorio en Honduras; sin embargo, accidentalmente se determinó además que el insecto puede dar lugar a descendencia en forma partenogenética.

REVISION DE LITERATURA

Bartra *et al.* (3) informan un ciclo biológico de la broca de 25 como mínimo y 33 días como máximo; sin embargo Sánchez (9) informa un ciclo de vida de 28 días, distribuidos en siete días de incubación, 14 días de estado larval y siete días del estado pupal. Urbina (10) menciona que el ciclo de vida completo depende de las condiciones bióticas y abióticas y está entre 20 a 37 días. La temperatura tiene una gran

1 Recibido para publicación el 31 de octubre 1989

* Entomólogo del Instituto Hondureño del Café Apdo Postal 329, San Pedro Sula, Honduras

influencia sobre los diferentes estados de desarrollo del insecto; el periodo de incubación es de 9 días a 27°C y 16 días a 18.7°C (Bergamin, citado por Urbina, 10) y el estado larval dura de 10 a 26 días (Alonzo, Bartra, Hanania, Hernández, Leefmans y Sladen, citados por Urbina, 10). Las larvas hembras sufren dos mudas, mientras que los machos solo una. La última fase del estado larval es de quietud, denominada prepupa, la cual dura aproximadamente dos días. En el estado de pupa se realizan los cambios morfológicos que caracterizan al adulto (10) (Cuadro 1).

La hembra oviposita un mínimo de 12 huevos y un máximo de 63 (D'Oliveira, Lepelley y Baker, citados por Urbina, 10) Bergamin, citado por Urbina (10), señala un mínimo de 31 huevos y un máximo de 119, con un promedio de 74 huevos puestos por una hembra durante toda su vida Cuadro 1.

La longevidad de las hembras es mucho mayor que la de los machos. Las hembras pueden llegar a vivir un mínimo de 135 días (9); sin embargo Oliveira, citado por Sánchez (9), indica que la hembra puede vivir de 80 a 123 días y los machos pueden promediar hasta 46 días. Bergamin, citado por Sánchez (9) informa que las hembras pueden vivir 282 días, promediando 156 y que el macho ha alcanzado de 80 a 103 días. Baker (1) menciona que las hembras viven un promedio de 150 días y que pueden alcanzar hasta un máximo de 250 días (Cuadro 1).

Los machos de la broca son bien diminutos, en comparación con las hembras, por lo que se les puede diferenciar a simple vista; además los machos carecen de alas funcionales para el vuelo. Debido a ello es que la fecundación se realiza en el interior del fruto (2, 10).

En las poblaciones de broca existe una diferencia bien marcada entre el número de brocas hembras y machos; generalmente son las hembras las más abundantes. En Honduras se ha encontrado una proporción de sexos de 1:10 y de 1:13, pero esta proporción dependerá, entre otros, del estado de desarrollo del fruto y/o de la época del año. Baker (1) informa una proporción de sexos de 1:8 - 10 en favor de las hembras (Cuadro 1).

Ya se mencionó que ocurre partenogénesis cuando la hembra se reproduce sin que el huevo sea fecundado por el macho; de acuerdo a los sexos producidos, algunos autores dividen la reproducción partenogenética en tres tipos: a) arrenotoquia, tipo de reproducción partenogenética cuando la progenie es toda de machos; b) telitoquia, cuando la progenie es toda de hembras; y c) deuterotoquia o anfitoquia, cuando la progenie es de machos y hembras.

De acuerdo a las condiciones que la motivaron, la partenogénesis se divide en: 1) partenogénesis esporádica (accidental u ocasional), la cual puede ocurrir por alteraciones locales externas y puede producir

Cuadro 1. Resumen de datos biológicos de *Hypothenemus hampei*, según varios autores (Adaptado de Urbina, 10).

Autor	País	Relación ♂:♀	Madurez sexual (días) ♀	Periodo de pre- ovip. (días)	Ovip/día/♀ (No. de huevos)	No. máx. huevos Ovip./♀	Longevidad de la hembra (días)	Duración de los estados (días)				Hue- vo a adulto	No. de gene- raciones/año
								Huevo	Larva	Pre- pupa	Pupa		
Bergamin	Brasil	1:10	3-4	100	2-3	74	157	7-6	13-8	2	6-4	20-28	7
Jepson	Sri Lanka	NR	NR	5-20	2	50	NR	6	18	2	5	31	NR
Corbett	Malasia	1:30	NR	4-14	NR	60	120	5-7	12-20	NR	4-7	21-34	NR
Hargreaves	Uganda	NR	NR	5-6	NR	63	35-112	8-9	15-19	NR	7-8	30-36	8
Leefmans	Java	1:59	NR	NR	NR	54	87	5-6	10-21	2	4-6	21-35	NR
Leefmans	Java	1:40	NR	8-20	NR	NR	102	5-6	10-26	1-2	4-8	20-37	NR
Monterroso ¹	Guatemala ^a	NR	NR	NR	NR	7	187	7-8	11-13	NR	5-6	23-28	NR

a Observaciones de laboratorio

NR = No reportado.

1 Nota: Monterroso, en Guatemala, indica que la máxima longevidad de hembras adultas fue de 187 días y de 90 días para los machos

tanto machos como hembras; 2) partenogénesis facultativa, cuando los óvulos son capaces de desarrollarse tanto después de ser fecundados, como sin fecundación; 3) partenogénesis obligatoria (constante), cuando los óvulos siempre o, al menos, en ciertas generaciones se desarrollan únicamente por vía virginal

A menudo la partenogénesis obligatoria tiene un carácter cíclico (partenogénesis cíclica o estacional), pues una, o varias generaciones partenogenéticas se alternan aquí con una generación bisexual gámica o anfigónica, en la que aparecen machos y hembras que se fecundan (6, 8)

En insectos la partenogénesis ocurre esporádicamente en muchas especies y es un carácter distintivo del ciclo de vida en otras; por ejemplo, en áfidos y avispas que producen agallas, ocurre frecuentemente partenogénesis, pero durante el año hay reproducción bisexual.

La partenogénesis es más común en ciertas especies pertenecientes a los Ordenes Homoptera e Hymenoptera; sin embargo, se presenta también en el Orden Coleoptera, en donde los miembros de la subfamilia Otiorhynchinae, de la Familia Curculionidae todas son hembras y cada una de ellas oviposita partenogénicamente entre 1000 a 1800 huevos (4).

Wood, citado por Martínez (7), menciona que la reproducción en Scolytidae es variada y cita cuatro tipos principales: monógama, polígama normal (heterosanguínea), polígama extrema (consanguínea), partenogénica ginogenética o telitoquia.

MATERIALES Y METODOS

Las observaciones se realizaron en el Laboratorio de Entomología que el Instituto Hondureño del Café tiene en La Fe, Ilima Santa Bárbara, Honduras, en condiciones no controladas de temperatura y humedad relativa

Se colectaron en el campo 10 hembras adultas de broca, las que fueron llevadas al laboratorio y colocadas en frutos semiconsistentes sanos a los que por medio de una aguja de disección se les hizo un orificio en donde se introdujo una broca adulta

Cada fruto, conteniendo una hembra de broca, fue aislado en un plato Petri, con su respectiva tapa; diariamente se cambió el alimento y los huevos ovipositados por estas brocas progenitoras.

Cada huevo se colocó en el interior de un fruto sano de cafeto en estado semiconsistente. A estos frutos se les hizo un orificio en el ápice por medio de

Cuadro 2. Ciclo biológico y reproducción partenogenética de la broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei* Ferr.), en condiciones de laboratorio de 23.3 ± 2.5°C de temperatura y 81.6 ± 12.4% de humedad relativa. Instituto Hondureño del Café, La Fe, Ilima, Santa Bárbara.

Fecha de Inicio: 10-02-88
Fecha de Finalización: 16-06-88

No. huevo ¹	Duración en días del estado de:			Ciclo biológico (días)	Sexo	Longevidad del adulto (días)	Período en días de:		Huevos ovipositados ²	Porcentaje de huevo	
	Huevo	Larva	Pupa				Pre-oviposi-	Ovipo-sición		Eclosio-nados	Sin eclosionar
1	11	22	8	41	♀	—	—	—	—	—	—
2	13	29	7	49	♀	52	14	31	13	53.8	46.2
3	11	22	6	39	♀	67	29	21	18	61.1	38.9
4	11	26	5	42	♀	54	8	41	3	66.7	33.3
5	14	18	4	36	♂	55	—	—	—	—	—
6	8	24	6	38	♀	63	—	—	0	—	—
7	9	17	14	40	♀	66	7	51	27	44.4	55.6
8	7	20	5	32	♀	23	—	—	0	—	—
9	6	15	7	28	♀	—	15	1	9	44.4	55.6
10	6	15	7	28	♀	66	15	48	46	60.9	39.1
11	7	10	4	21	♀	30	—	—	0	—	—
Promedio	9.4	19.8	6.6	35.8	—	52.8	14.7	32.2	19.3 ³	55.2	44.8 ⁴

1 Huevo ovipositado en laboratorio por broca adulta colectada en el campo.
2 Huevos ovipositados sin aparear con el macho (reproducción partenogenética).
3 Considerando solo las hembras que ovipositaron.
4 No eclosionan por ser infértiles y/o por ataque de ácaros.

una aguja de disección. Cada uno de estos frutos que contenía un huevo de broca fue aislado en un plato Petri, con su respectiva tapa. Para llevar el registro, se numeraron estas placas de 1 a 15. Cuando emergió a larva fue alimentada con frutos semiconsistentes y se cambió el alimento diariamente; la pupa fue mantenida en el interior de los frutos y al emerger el adulto se le cambió diariamente el alimento.

Para determinar la duración de los diferentes estados de desarrollo de la broca (ciclo biológico), se llevó registro de las fechas en que ocurrió la oviposición, la emergencia larval, el empupamiento y la emergencia del adulto; además se determinó la fecha y el número de huevos, ovipositados por cada hembra durante su vida y la fecha de su muerte. La mayoría de los adultos emergidos eran hembras y fueron mantenidas aisladas en el mismo plato Petri, en donde se colocó el huevo que les dio origen.

Al no obtener suficientes machos en laboratorio, las hembras no fueron apareadas; solo se les cambiaba el alimento (frutos de café) diariamente y se observaba si ocurría o no oviposición. Con estas observaciones determinamos que algunas hembras de broca del fruto del café, ovipositaban aún estando en completo aislamiento.

Para determinar si estos huevos, ovipositados partenogenéticamente eran fértiles, éstos fueron colocados en el interior de un fruto semiconsistente de café y diariamente, por medio del estereomicroscopio se observaba si emergía o no la larva.

En las primeras crías, en condiciones de laboratorio, se tuvo problemas con ácaros entomófagos, los que destruyeron principalmente huevos y pupas de broca, también se presentaron problemas de contaminación de hongos, y para evitar estos problemas, en las siguientes crías se tomaron medidas rigurosas de limpieza y/o esterilización del material utilizado, para evitar el ingreso de ácaros. Con parafina se construyó un pequeño canal alrededor del área ocupada por los platos Petri; este canalito se mantuvo con agua durante el período que duró la crianza.

Con el fin de obtener más información, de frutos colectados en una finca de café, se extrajeron 15 huevos y 15 pupas de broca, y cada espécimen se aisló y a los adultos obtenidos se les llevó registro de oviposición, sin ser apareados con el macho.

RESULTADOS

El Cuadro 2 presenta los datos obtenidos de huevos ovipositados por broca adulta colectada en el

Cuadro 3. Ciclo biológico y reproducción partenogenética de la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) en condiciones de laboratorio en el Centro Experimental la Fe, Ilama, Honduras*.

Fecha de inicio: 28-06-88

Fecha de finalización: 15-09-88

No. huevo ^a	Duración en días del estado			Sexo	Periodo de pre-oviposición	No. de huevos ovipositados ^b
1	12	6	19	Femenino	—	0
2	17	5	—	"	—	0
3	13	5	12	"	—	0
4	7	5	10	"	7	1
5	13	5	13	"	—	0
6	9	4	10	"	—	0
7	9	5	7	"	—	0
8	9	5	17	"	—	0
9	10	6	15	"	—	0
10	8	4	11	"	—	0
11	16	6	15	"	—	0
12	14	6	58	"	12	24
13	16	5	20	"	—	0
Promedio	11.8	5.2	17.2		9.5	12.5 ^c

a. Huevos extraídos de frutos colectados en el campo.

b. Huevos ovipositados partenogenéticamente. Todos fueron infértiles.

c. Considerando solo las hembras que ovipositaron.

* 23.0 ± 2.1°C y 86.4 ± 9.4% H.R.

campo, cuando la crianza se realizó a $23.3 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ y $81.6 \pm 12.4\%$ H.R. Se puede observar que la duración media en días, de los estados de desarrollo fue: huevo 9.4 (mínimo 6 y máximo 14), larva 19.8 (mínimo 10 y máximo 29), pupa 6.6 (mínimo 4 y máximo 14) y su ciclo biológico lo completó en 35.8 días (mínimo 21 y máximo 49).

La longevidad del adulto en promedio fue de 52.8 días (mínimo 23 y máxima 67). De 10 hembras obtenidas, seis de ellas ovipositaron partenogenéticamente, en promedio 19.3 huevos (mínimo 3 y máximo 46); estos huevos presentaron un 55.2% de viabilidad; el período de preoviposición fue de 14.7 días (mínimo 7 y máximo 29) y el período de oviposición fue de 32.2 días (mínimo 1 y máximo 51).

De los huevos obtenidos partenogenéticamente de esta primer generación, criada en laboratorio, se obtuvo una segunda generación de hembras, pero pocas de éstas ovipositaron partenogenéticamente, con una viabilidad promedio de 53.8%

El Cuadro 3 presenta los datos de huevos extraídos de frutos infestados por broca, colectados en el campo; cuando la crianza se realizó a $23 \pm 2.1^{\circ}\text{C}$ y $86.4 \pm 9.4\%$ H.R.

No se presenta la duración de incubación, pues no se sabía en qué fecha se realizó la oviposición. De 13 observaciones efectuadas, en las condiciones antes mencionadas, la duración del estado larval, en promedio fue de 11.8 días (mínimo 7 y máximo 17), el estado pupal fue de 5.2 días (mínimo 4 y máximo 6) y el adulto vivió 17.2 días (mínimo 7 y máximo 58). De 13 hembras emergidas, únicamente dos ovipositaron partenogenéticamente un total de 25 huevos los que fueron infértiles

El Cuadro 4 presenta los datos de pupas extraídas de frutos infestados por broca, colectados en el campo, cuando la crianza se realizó en condiciones de $22.4 \pm 1.8^{\circ}\text{C}$ y $88.3 \pm 8.5\%$ H.R. De 15 pupas extraídas se obtuvo 15 adultos hembras de broca, las que vivieron en promedio 45 días (mínimo 22 y máximo 131). El período de preoviposición fue de 17 días (mínimo 8 y máximo 24). De las 15 hembras únicamente ocho ovipositaron partenogenéticamente un promedio de 16 huevos por hembra (mínimo 4 y máximo 41) y la viabilidad de estos huevos fue de 80%. De estos huevos se obtuvo una segunda generación de hembras adultas de las que algunas ovipositaron partenogenéticamente, pero los huevos fueron infértiles.

DISCUSION

La broca del fruto del cafeto es capaz de reproducirse partenogenéticamente y dar progenie fértil. En las condiciones en que se realizó la crianza, no todas las hembras adultas fueron capaces de reproducirse sin ser copuladas (o inseminadas) y las que lo hicieron, sus huevos no presentaron alta viabilidad, la cual pudo ser afectada por el manipuleo continuo de los diferentes estados de desarrollo del insecto, en el laboratorio.

La partenogénesis es un fenómeno asociado frecuentemente con una gran estabilidad genética; mientras que el fenómeno de resistencia de los insectos a los insecticidas es asociado con la variabilidad genética existente en las poblaciones. El estudio de Brun y Ruiz (5) determinó una cepa de brocas resistentes al insecticida endosulfan, y se puede deducir que el hecho de que la broca se reproduzca en forma partenogenética, puede ser desfavorable para el insecto. Si en una zona cafetalera en particular se tienen poblaciones del insecto, con características de no resistencia, la descendencia producida partenogenéticamente, por consiguiente, será siempre susceptible. Será favorable para la sobrevivencia del insecto, si por presión de selección (uso continuo de endosulfan y aplicaciones de altas dosis) se deja en la zona una cepa con características de resistencia. Si estos insectos se reproducen partenogenéticamente, rápidamente se obtendrán poblaciones resistentes.

En este trabajo se encontró que la reproducción presentada por la broca es del tipo telitoquia, pero para descartar el tipo deuterotoquia, faltan más estudios; lo que sí se puede afirmar es que no existe el tipo arrenotoquia.

CONCLUSIONES

En condiciones de $23.3 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ y $81.6 \pm 12.4\%$ H.R., el ciclo vital de la broca del fruto del cafeto fue de 35.8 días, distribuidos en: 9.4 días de incubación, 19.8 días en estado larval y 6.6 días en estado pupal.

A $22.4 \pm 1.8^{\circ}\text{C}$ y $88.3 \pm 8.5\%$ H.R., el estado adulto de la broca tuvo una longevidad de hasta 131 días.

Algunas hembras adultas de *H. hampei* (Ferr) fueron capaces de producir huevos fértiles, en forma partenogenética, hasta una segunda generación criada en el laboratorio.

Cuadro 4. Ciclo biológico y reproducción partenogenética de la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.), en condiciones de laboratorio, en el Centro Experimental La Fe, Ilama, Honduras*.

Fecha de Inicio: 28-06-88

Fecha de Finalización: 08-11-88

No. de pupa ^a	Duración en días del adulto	Sexo	Periodo de preoviposición (días)	No. de huevos ovipositados ^b	Porcentaje huevos	
					Eclosio-nados	Sin eclosionar
1	131		24	41	80.0	20.0
2	45		—	0	—	—
3	40		—	0	—	—
4	41		—	0	—	—
5	37		19	8	50.0	50.0
6	32		—	0	—	—
7	22		—	0	—	—
8	29		15	8	62.5	37.5
9	62		8	30	88.0	12.0
10	24		—	0	—	—
11	63		19	30	86.2	13.8
12	27		—	0	—	—
13	29		17	4	100.0	0.0
14	42		20	6	100.0	0.0
15	41		13	4	75.0	25.0
Promedio	45.0		16.9	16.4	80.2	19.8

a Pupas extraídas de frutos colectados en el campo

b Considerando solo las hembras que ovipositaron

* 22.4 ± 1.8°C y 88.3 ± 8.5% HR

Entre los huevos ovipositados partenogenéticamente, algunos eran fértiles y otros infértiles.

Se encontró diferencia en la duración de los diferentes estados de desarrollo de la broca, pero de los estados inmaduros, el estado larval fue el más largo.

También dentro de un mismo estado de desarrollo (huevo, larva o pupa), se encontró diferencias marcadas en duración, si se comparan los especímenes observados, pero estas diferencias se debieron, principalmente, a que no se controló la temperatura. Experiencias previas indicaron que cuando se mantiene la temperatura más o menos constante, hay uniformidad en la crianza.

LITERATURA CITADA

- BAKER, P.S. 1984. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in Southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomológica Mexicana* 61:9-14.
- BAKER, P.S. 1987. Biología, ecología y hábitos de la broca. In *Curso Regional sobre Manejo Integrado de Plagas del Café con Énfasis en Broca de Fruto *Hypothenemus hampei* (Ferr)* IICA (2., 1986, San Pedro Sula, Hond.). Memoria. San Pedro Sula, Hond., IHCAFÉ - PROMECAFE.
- BARIRA, C.; URRELO, R.; RODRIGUEZ, S.R. 1982. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr (Coleoptera: Ipsidae), en Tingo María, Perú. *Tropicicultura (Perú)* 2(1):17-31.
- BORROR, J.D.; DWIGHT, M.D. 1963. An introduction to the study of insects. New York, EUA. p. 37, 195, 336, 337.
- BRUN, L.O.; RUIZ, J.L. 1987. Detection of endosulfan resistance in coffee berry borer, *Hypothenemus*

- hampei* Ferr. (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. In International Conference on Pesticides in Tropical Agriculture. Kuala Lumpur, Malaysia.
6. CORONADO, R.; MARQUE, A. 1980. Introducción a la entomología. México, Limusa p. 59-60.
 7. MARTINEZ, E.A. 1987. Consideraciones generales sobre la familia Scolytidae y algunos datos sobre el género *Hypothenemus*. In Taller Internacional sobre la Broca del Grano del Café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). (2., 1986, Tapachula, Chiapas, Méx.). Memoria. Tapachula, Chiapas, Méx., IICA - PROMECAFE - INMECAFE, AID - ROCAP. p. 171-178.
 8. NOVIKOFF, M. 1963. Fundamentos de la morfología comparada de los invertebrados. Buenos Aires, Arg., EUDERA p. 342-343.
 9. SANCHEZ DE LEON, A. 1985. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). In Memoria Curso Sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto con Énfasis en Broca del Fruto *Hypothenemus hampei* (Ferr.). (1., Guatemala, Gua.). Memoria. Guatemala, IICA - PROMECAFE - ANACAFE p. 97-104.
 10. URBINA, E. 1987. La broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). In Memoria del II Curso Regional Sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto con Énfasis en Broca del Fruto *Hypothenemus hampei* (Ferr.). (2., 1986, San Pedro Sula, Hond.). Memoria. IICA. San Pedro Sula, Hon., IHCAFE - PROMECAFE - IICA p. 148-166.

Notas y Comentarios

Buitres que prefieren excrementos de leones

Un investigador que había observado la forma de vida de los buitres de Egipto (*Neophron perenopterus*) en el África Oriental, durante varios años, se dio cuenta de que, aunque había visto con frecuencia a las aves alimentándose ávidamente en acumulaciones de excremento de leones, nunca los había visto comer los igualmente abundantes montones de estiércol de perros salvajes y de hienas. David Houston, un zoólogo de la Universidad de Glasgow, pensó que los buitres preferían boñiga de leones porque los leones digieren sus alimentos menos intensamente que las hienas, con el resultado de que los leones producen un estiércol más nutritivo.

Los gatos domésticos tienen un intestino relativamente corto y se sabe que extraen sólo el 79% de la energía total que ingieren, mientras que los perros domésticos tienen un intestino más largo y obtienen 89% de la energía del alimento que ingieren. Conforme a los resultados obtenidos por Houston, lo mismo es cierto de los parientes salvajes de estos dos compañeros del hombre (*Journal of Zoology*, v. 216, p. 603).

Houston visitó leones, hienas manchadas (*Crocuta crocuta*) —la hiena más grande que existe— y los buitres grifón de Ruppel, en los zoológicos de Edimburgo y Londres. Los alimentó con una dieta de carne molida de vacuno, sin grasa, con 0.1% de óxido crómico añadido. El óxido crómico es un marcador inerte que pasa sin cambiar por todo el intestino. Houston estima la eficiencia digestiva de los animales comparando la concentración del marcador en muestras de boñiga con su concentración en el alimento. El cambio en la concentración en los dos leones promedió 76.8%, bastante por debajo del obtenido por la hiena manchada de 90.2% y del 91.3% de los buitres grifones de Ruppel, en los zoológicos de Edimburgo y Londres.

Si los buitres egipcios son tan eficientes como los buitres grifones, obtendrían sólo alrededor de la mitad de alimento del estiércol de perros salvajes o hienas que de los excrementos de leones y otros felinos.

Houston especula que una razón por la cual los felinos son menos eficientes para digerir alimentos que los perros podría ser debido a que los felinos tienden a emboscar su presa y darles una caza breve. Si no lo consiguen, abandonan el intento. En cambio,

los perros y las hienas tienden a cansar sus presas mediante una larga persecución. Los felinos, con su necesidad de costosas explosiones de velocidad, pueden beneficiarse al aceptar sólo un intestino más corto y liviano, a pesar de que esto significa una eficiencia más baja. A. G.

El extraño origen de las plantas con flores

El finado Serge Meyen, del Instituto Geológico de la Academia de Ciencias de la Unión Soviética, en Moscú, puede haber resuelto el "abominable misterio" de Charles Darwin — el enigma del origen de las plantas con flores, las angiospermas. Los científicos han propuesto muchos grupos de plantas como antecesores de la que poseen flores, pero, la mayor parte de los botánicos creen que ellas surgieron de un grupo llamado gimnospermas que incluye a las coníferas.

En una angiosperma, los óvulos, que desarrollan en semillas, están incluidos en un ovario, pero, en las gimnospermas, ellas se hallan desprotegidas sobre las escamas de un cono. Nadie ha sido capaz de explicar cómo las angiospermas evolucionaron de las gimnospermas y ninguno ha encontrado una gimnosperma viviente o extinta que sea intermedia entre las dos.

El eslabón puede estar perdido porque el registro de la fosilización es incompleto. Meyen creía que estaba allí, pero no había sido reconocido. La mayoría de los investigadores ha supuesto que el ovario de las angiospermas evolucionó de las partes femeninas de la gimnosperma y por eso, debería tener una estructura similar. Meyen creían que fueran, de hecho, las partes masculinas de la gimnosperma que evolucionaron hacia el ovario en un proceso llamado "gametoheteropía". Este proceso es la transferencia de características sexuales secundarias de un sexo al otro, que ocurre en un número de animales.

Meyen sugirió que el cambio ocurrió cuando un grupo de gimnospermas, las Bennettitales, que ahora se hallan extinguidas, produjeron un ovario primitivo.

Los fósiles de Bennettitales muestran que las semillas eran producidas sobre conos, pero el polen — el gameto masculino — era producido en órganos llamados esporangios que formaban dos filas sobre una escama del cono. La teoría de Meyen sugiere que la escama se dobló para formar un ovario primitivo y que las verdaderas angiospermas evolucionaron de esto (*Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 97, p. 171).

La estructura de la madera de algunas Bennettitales es similar a la de la madera de las angiospermas y las dos han sido a veces confundidas una con la otra. Hay también algunas similitudes en el polen y en los estomas de cada grupo.

Si Meyen estaba en lo cierto, entonces todas las plantas con flores que existen ahora son las descendientes de este grupo de gimnospermas, que florecieron unos 70 a 239 millones de años, en el Mesozoico, la edad de los dinosaurios. Esto, señaló Meyen, deja a los investigadores otro problema: ¿Cómo se originaron las Bennettitales? Adalberto Gorbitz†.

Utilización de bacterias para eliminar los nitratos del agua

Investigadores en los Países Bajos han diseñado una nueva técnica para eliminar los nitratos del agua subterránea, lo cual produciría agua mucho más limpia que lo que se logra con los métodos usados en la actualidad.

Los científicos de la Universidad Agrícola de Wageningen han sido apoyados por el gobierno holandés, el que está preocupado por los altos niveles de nitratos en el agua subterránea en el país. La Asociación de Compañías Holandesas de Producción de Agua (DWPD) calcula que, pronto, más de una cuarta parte del abastecimiento de agua en el país excederá el límite de 50 miligramos de nitratos por litro que fija la Comunidad Europea.

El nuevo proceso combina dos técnicas existentes de extracción de nitratos: intercambio de iones y desnitrificación biológica. Los métodos de intercambio de iones son usados en los Estados Unidos, pero, muchos de ellos producen agua que contiene algunas sales y cloro. La extracción biológica corre muchas veces el riesgo de contaminar el agua, ya sea con las mismas bacterias o con el metanol que éstas necesitan para sobrevivir.

En la técnica holandesa, el agua fluye a través de un cambiador de iones (una columna de resinas porosas), donde los iones de nitratos son extraídos y reemplazados por iones de bicarbonatos. Estos son generados por la acción de bacterias *Hyphomicrobium* sobre el metanol del que se alimentan.

Los iones de nitrato pasan entonces a través de una segunda columna, donde ellos son "consumidos" por esas mismas bacterias. Las bacterias se alimentan del nitrato y lo transforman en el inocuo gas nitrógeno. El agua nunca va a estar en contacto directo con las bacterias, lo cual elimina el riesgo de contaminación.

El resultado final es agua que está libre de nitratos y tiene una concentración de bicarbonatos de 100 miligramos por litro por cada 50 miligramos de nitrato eliminado. Es ligeramente salada al paladar, pero es enteramente segura porque tales concentraciones de bicarbonato son inocuas. El sistema, para el cual hay una patente pendiente, consiste solamente en agregar algo de metanol, el cual las bacterias necesitan para generar bicarbonato.

El nuevo método es caro ya que cuesta unos 180 000 dólares en aparatos para purificar 75 metros cúbicos por hora de agua del subsuelo. Esto inevitablemente hace subir el costo del agua potable pero es más barato que encontrar suministros alternos. Estiman que el sistema costará dos peniques por metro cúbico de agua potable si se aplica en todo el país.

Esto supone que una cuarta parte de los abastecimientos de agua sean tratados y que los costos estén repartidos equitativamente entre los consumidores. Una planta piloto ha comenzado a operar en Doetmichen.

Altos niveles de nitrato en el agua subterránea, debidos principalmente al uso excesivo de fertilizantes, están causando alarma en Bélgica, Alemania Federal, Gran Bretaña y Estados Unidos. El proyecto ha despertado interés entre las autoridades británicas encargadas del agua, las que encaran el problema adicional de contaminación de las aguas con sulfatos de las aguas que administran. Los investigadores han mostrado que este sulfato adicional no interfiere con el proceso holandés de extracción de nitratos. A. G.

Luchando contra las formas resistentes de malaria

La malaria está en aumento. Las últimas noticias de la Organización Mundial de la Salud (OMS), sugieren que hay unos 100 millones de casos por año, uno o dos millones de ellos fatales. La mayor parte de los casos está en las partes tropicales de África y Sudamérica, donde es común el zancudo *Anopheles* que transmite el parásito. Los viajeros internacionales también están en peligro. Este año se estima probable que 2000 turistas británicos contraigan malaria.

Una de las razones por el constante incremento de la malaria ha sido la dispersión de la resistencia a la cloroquina, una de las mejores y más baratas drogas antipalúdicas (Aralen es la marca comercial más conocida). David Payne, del Programa de Acción de Malaria de la OMS, ha delineado la dispersión de la resistencia a la cloroquina en todo el mundo (*Parasitology*, v. 3, p. 241). La resistencia se presentó independien-

temente en dos lugares, el Sudeste de Asia y América Latina, pero, se extendió para cubrir la parte Norte de la América del Sur, alrededor de la Hoya Amazónica y la mayor parte de la Península de Malaya, Camboya, Tailandia y Vietnam.

En los años novecientos setenta, mientras la resistencia se desplazaba desde estos dos centros, emergió también un lugar enteramente nuevo, el África Oriental. Cepas resistentes de malaria *falciparum* han infiltrado posteriormente el Sudeste de Asia y muchas de las islas del Pacífico, el interior de China, Pakistán e Irán. Hay cepas resistentes en la mayor parte de África Central, Este y Sur, sospechándose que exista también en África Occidental.

Payne recalca que, a pesar de la resistencia, la cloroquina sigue siendo la mejor droga para el tratamiento en gran escala de personas, porque es barata y tiene pocos efectos secundarios. La cloroquina es una 4-aminoquinolona. Funciona matando los estados asexuales del parásito, los esporozoitos, que circulan en la corriente sanguínea.

Generalmente, la cloroquina elimina los esporozoitos en dos o tres días. Tomándola como medida de precaución, previene una infección por cepas no resistentes del parásito. Aunque los científicos todavía no están aún seguros de cómo mata la droga al parásito, probablemente altera la permeabilidad de la membrana celular del protozoario, de tal manera que no puede absorber los nutrimentos esenciales de la desintegración de la hemoglobina de la sangre del hospedante.

Nadie sabe cómo el parásito desarrolla resistencia a la droga, pero, en el mismo número de *Parasitology Today*, Jeremiah Ryall, del Walter Reed Army Institute, en Washington, discute una manera posible de invertir el proceso de resistencia suministrando un ión antagonista al calcio, al mismo tiempo que la cloroquina. Los antagonistas al calcio, tales como el verapamil, impiden a los iones de calcio el cruzar las membranas celulares. En estudios *in vitro*, Ryall encontró que el verapamil permite que las dosis normales de cloroquina maten las cepas resistentes de *Plasmodium*.

El verapamil se suministra a menudo para tratar arritmias del corazón y —como muchos otros antagonistas al calcio— se conoce que invierten la resistencia a drogas de ciertas células cancerosas. Tal como varios investigadores han señalado, los parásitos de la malaria comparten muchas características con las células cancerosas, incluyendo una capacidad para multiplicarse muy rápido. Ambas clases de células demandan de sus hospedantes cantidades grandes de nutrimen-

tos. La inhibición de la fisiología de las células puede ser la mejor manera de controlarlas. A.G.

Abejas que aplican calor a las avispas para matarlas

Las abejas melíferas japonesas, en lugar de combatir a sus atacantes con una punzada "kamikase", calientan a sus adversarias hasta que las matan. M. Ono, I. Okada y M. Sasaki, de la Universidad Tamagawa, en Tokio, descubrieron esta notable estrategia mientras observaban colmenas de la abeja local, *Apis cerana japonica* (*Experientia*, v. 43, p. 1031).

Hacia el final del verano, las colmenas apícolas son amenazadas por avispas predatoras que buscan abejas para proveer alimento a sus propias larvas. Cuando una avispa ataca a una abeja guardiana, notaron los investigadores, muy a menudo termina rodeada por completo por un enjambre en miniatura de hasta 250 abejas. Unos 30 minutos más tarde, las abejas se apartan dejando una avispa muerta y unas pocas abejas también muertas.

Una observación minuciosa (y un pequeño termómetro) revelaron lo que estaba sucediendo. Dentro de la bola que ellas forman, las abejas agitan rápidamente sus alas. Esto genera calor, elevando la temperatura en el centro de la bola, hasta 46°C en unos cuatro minutos. El calor mata a la avispa. Las pruebas en el laboratorio confirmaron que las abejas pueden sobrevivir a 48 y aún a 50°C, mientras que las avispas sucumben a los 47°C.

El arma térmica de las abejas es extremadamente eficaz. Ninguna avispa sobrevivió al ser engullida por la bola de abejas. Además, los investigadores nunca encontraron una punzada de abeja en un cadáver de avispa. Concluyen que sólo el calor pudo haber matado a las avispas. A.G.

Los pollitos cruzaron las estepas

Hasta hace poco tiempo, los arqueólogos creían que los pollitos fueron domesticados en el Valle del Indus, alrededor del año 2000 AC, y que las aves llegaron a Europa a través del Cercano Oriente. Pero, hay una nueva evidencia de que los humanos criaron gallinas mucho antes. Bárbara West, del Museo de Historia Natural de Londres, y Ben-Xion Zhou, del Instituto de Arqueología de Beijing, sugieren que los humanos domesticaron los pollos partiendo de aves silvestres rojas de las selvas, en tiempos del Neolítico, hace más de 6000 años (*J. of Archeological Science*, Vol. 15, p. 15).

West y Zhou examinaron evidencias arqueológicas de varias partes de Europa y Asia, buscando huesos de pollos domésticos. La evidencia más antigua fue de Cisham, en el nordeste de China. Las pruebas de radiocarbón estimaron que estos huesos tenían una edad de aproximadamente 8000 años.

Los investigadores creen que estos huesos provienen de aves domesticadas y no de aves silvestres, por dos razones. Los huesos de pollos domesticados son más largos que los de las aves silvestres de la selva. El fémur de las gallinas salvajes, por ejemplo, tiene una longitud de 69 milímetros, mientras que el de los pollos domésticos modernos es de 115 milímetros. Los huesos encontrados en excavaciones en el noroeste de China eran todos más largos de lo que los investigadores podrían esperar en las aves silvestres de la selva.

Cisham está también muy al norte para cualquier especie conocida de ave selvática. Todas las especies existentes de estas aves viven en zonas semitropicales, India y el noreste de Asia, especialmente; ellas prefieren vivir en vegetación densa antes que en llanuras abiertas. No hay evidencia de que la vegetación del sureste de Asia haya cambiado en los últimos diez mil años. Es improbable que los pollos viajaran bajo las condiciones gélidas del norte sin ayuda humana.

El cómo la domesticación de la gallina llegó a Europa, es algo que permanece en el misterio. West y Zhou no creen, sin embargo, en la idea de que la práctica se difundió allá desde la India. Los investigadores creen que, debido a que los hallazgos están muy al norte, es más probable que los pollos domésticos se extendieron desde la China a través de lo que hoy es la Unión Soviética. Zhou favorece la vieja Ruta de la Seda, a través del Turquestán; West está en favor de una ruta más norteña, o sea, a través de las estepas.

Sin embargo, hay poca evidencia para apoyar estas teorías en los resultados de las excavaciones. Hay indicios provocativos, como el descubrimiento de modelos en cuero de gallitos, que datan del siglo quinto AC, de las Montañas Altai, en Siberia. La pregunta fascinante, señalan los investigadores, es ¿cuál ruta puede haber tomado la domesticación? La evidencia que pueda proveer la Unión Soviética es esencial para formular una respuesta. A.G.†

Supervivencia de árboles al fuego

Otro ejemplo de adaptación al fuego para sobrevivir, ocurre en un árbol africano. Los fuegos forestales en Uganda están ayudando a sobrevivir a un árbol de la sabana, *Acacia sieberiana*. El árbol sobrevive en el

Queen Elizabeth National Park, Uganda, produciendo grandes cantidades de semilla. En su mayoría, éstas no germinan si simplemente caen al suelo debido a que, hasta un 96 por ciento, están infectadas con larvas de gorgojos de la familia *Bruchidae*.

En el pasado, los animales en pastoreo se comían las vainas y al pasar las semillas a lo largo de los intestinos del animal, las cáscaras de las semillas eran ablandadas y esto mataba a las larvas de los gorgojos. Sin embargo, los cazadores furtivos han matado a un gran número de animales en pastoreo en la región, lo cual resulta en un número menor de árboles en la sabana. Esto ha conducido también a fuegos forestales mucho más intensos.

E.N. Sabiiti y R.W. Wein, de la Universidad de New Brunswick, han encontrado que el 65 por ciento de las semillas del árbol de la sabana tomadas de la superficie del suelo en zonas quemadas, germinaban en el laboratorio, comparadas con sólo el 10 por ciento de las zonas sin quemar (*J. Ecol.* vol. 75, p. 933). La diferencia entre las dos muestras es debida al efecto del calor sobre las semillas de las zonas quemadas y no a los cambios causados por los fuegos. El calor raja las cubiertas de las semillas y mata a las larvas de los gorgojos. Esto produce casi el mismo resultado que una pasada por el intestino de un animal. Así, los fuegos, que son casi todos iniciados por humanos, están compensando de alguna manera la falta de animales que pastan. A.G.†

Los nidos de las termitas mejoran la vegetación

Los nidos de las termitas mejoran la fertilidad del suelo, alrededor de los montículos que constituyen sus nidos. Esto resulta en un "halo" de gramíneas y hierbas de color verde oscuro que se forma alrededor de la base del nido. Una hectárea puede contener hasta 450 de tales montículos; así, el efecto total podría ser considerable.

Investigadores del Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO), de Australia, han encontrado que las actividades de las termitas en el Noroeste de Australia producen "islas" de gramíneas anuales, de rápido crecimiento, rodeadas de gramíneas perennes de crecimiento más lento y de "coquitos" ("sedges", *Cyperus rotundus*) (*J. Ecol.* Vol. 70, p. 181). El pastoreo efectuado por las termitas que viven de desechos vegetales y de gramas, concentra los nutrimentos en sus montículos. Los suelos locales son muy pobres, de tal manera que una comunidad vegetal puede desarrollarse en el suelo más fértil. El suelo está también mejor drenado y menos favorable para el crecimiento de gramíneas perennes y de ciperáceas. A.G.†

Reseña de Libros

DORESTE, E. 1988. *Acarología*. 2a ed. rev. San José, Costa Rica. IICA. 410 p.

Capítulo 1: Historia de la Acarología

Se hace una breve reseña histórica de la Acarología complementada con la mención de las principales publicaciones en el campo.

Capítulo 2: Recolección y conservación de ácaros

Se informa sobre los sitios en donde se pueden recolectar los ácaros, métodos de conservación de los diversos grupos y montaje, lo cual incluye características sobre la preparación de láminas y las ventajas y desventajas que presenta cada medio de montaje.

Capítulo 3: Anatomía externa

En este capítulo se presenta información general de las particularidades externas más importantes de los acarinos y de aquellas que los hacen seres diferentes a los insectos, lo cual justifica el que constituyan un grupo independiente.

Capítulo 4: Anatomía interna

El Ing. Doreste hace una descripción muy simple de los principales rasgos internos de los grupos acarinos. La información es escasa, muy elemental, sin profundizar en el tema. El capítulo finaliza con la esquematización del ciclo de vida de los cinco subórdenes más importantes.

Capítulo 5: Acaros y Reino Animal

Se incluye en este capítulo el papel que juegan los ácaros dentro de la clase Arachnida, con una breve descripción de las subclases que la forman y con una clave de las mismas.

Capítulo 6: Taxonomía de los ácaros

Se presenta en este capítulo la agrupación taxonómica de los acarinos en dos grandes órdenes: los Parasitiformes o Anactinotrichida y los Acariformes o Actionotrichida, con una reseña de los subórdenes que los componen. Además, el texto está complementado con dibujos esquemáticos y una traducción y

adaptación al español de la clave para órdenes y subórdenes de Acari, hecha por G.W. Krantz en su obra "A Manual of Acarology" la cuál no había sido incluida en la primera edición del libro.

Capítulo 7: Suborden Gamasida

Descripción general del suborden de los gamásidos, con algunos comentarios de unas pocas de las 65 familias que se agrupan en el mismo. Se incluyen esquemas de algunos subórdenes. Las familias descritas tienen importancia diversa; algunos son parásitos de animales domésticos, otros son capaces de transmitir enfermedades y varios son depredadores, entre los que se encuentran los representantes de la familia Phytoseiidae, los cuales, desde hace varios años, han sido empleados en programas de combate biológico de ácaros fitoparásitos alrededor del mundo. Como aspecto positivo de esta edición se menciona la traducción de la clave que Schuster y Pritchard elaboraron en 1963 para algunos géneros de la familia. También, se incluye la clave de Krantz para todo el suborden.

Capítulo 8: Suborden Ixodida

Explicación general del grupo de las garrapatas, con la clave de Krantz para su clasificación, en el nivel de familia y de género.

Capítulo 9: Suborden Actinedida

Descripción de los actinédidos, en forma general, añadiendo algunos comentarios de familia de importancia médica, económica y depredadores de otros organismos. Se hace una mención especial de las principales familias de ácaros de importancia agrícola, con claves en el nivel de género de Tetranychidae y Tenuipalpidae. Se incluye, a su vez, una clave para los géneros de la familia Tydeidae, formada principalmente por depredadores y fitoparásitos. También, se adjunta la clave de Krantz para todo el suborden.

Capítulo 10: Suborden Acaridida

Se sigue el esquema general de los dos capítulos anteriores; se hace una descripción global del suborden con comentarios de algunas de las familias más relevantes incluyendo ácaros de importancia médica, otros que infestan productos almacenados (granos, bulbos, quesos, etc.). Se incluye, además, la clave de Krantz para el suborden. Al igual que en los capítulos anteriores, la información se complementa con dibujos de algunas especies.

Capítulo 11 Suborden Oribatida

Breve descripción del grupo con la clave de Krantz para las superfamilias.

Capítulo 12: Los ácaros como plagas y sus relaciones ecológicas

Este es un importante capítulo en el que se describen los principales factores que podrían contribuir a que los ácaros se conviertan en plagas, así como aquellos que pueden inhibir el incremento de sus poblaciones; se da un énfasis especial a los enemigos naturales como son los hongos, insectos y otros ácaros. También, se ofrecen otras consideraciones ecológicas significativas.

Capítulo 13: Plagas importantes en cultivos

Capítulo dedicado enteramente a la Acarología Agrícola. Se hacen descripciones de los principales problemas económicos en el país del autor —Venezuela— que, en muchos casos, son bastante similares a los que se localizan en los países centroamericanos, aunque, obviamente, faltan muchos de los cultivos atacados por ácaros que son de importancia económica en estos países. Se dan algunas alternativas de combate para varios de ellos, especialmente, de carácter cultural y químico.

Apéndice

Se presenta una breve información sobre algunos productos acaricidas, o bien insecticidas con propiedades acaricidas que se emplean en el combate de estas plagas. Además, se incluye un índice de materias que es muy útil para la rápida localización de la información.

En esta época en que los acarinos han alcanzado un alto nivel de importancia en numerosos campos, como son la medicina, microbiología, veterinaria, biología y agronomía, entre otros, es necesario que los profesionales puedan disponer de una obra de consulta. Por esa razón, este libro sin lugar a dudas, será de gran ayuda para sus actividades.

El libro está orientado, especialmente, hacia la taxonomía de los grupos acarinos mayores. Por lo tanto, en lectura se recomienda a todas aquellas personas que trabajan en la clasificación e identificación

de estos organismos, así como para los que laboran en algunas tareas específicas relacionadas con la producción agrícola.

La obra tiene algunos pequeños errores de traducción y de interpretación, con respecto a las que sirven de base para realizarla. Esos errores no desmerece

el valor de la publicación que, dicho sea de paso, presenta mejoras sustanciales con relación a la primera edición

HUGO AGUILAR PIEDRA
PROFESOR DE ACAROLOGIA
ESCUELA DE FITOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA