

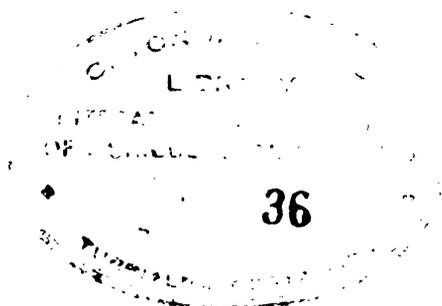
**ESTUDIOS SOBRE LA MANCHA DE LA HOJA DEL CAFE PRODUcida**

**POR EL CE COSPORA**

**EN LA REGION DE TURRIALBA, COSTA RICA**

**Por**

**T. RODRIGUEZ QUESADA GUTIERREZ**



**INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS**

**Turrialba, Costa Rica**

**Abril de 1950**

ESTUDIOS SOBRE LA MANCHA DE LA HOJA DEL CAFE PRODUCIDA

POR EL CERCOSPORA

EN LA REGION DE TURRIALBA, COSTA RICA

T e s i s

Sometida al Comité Facultativo en cumplimiento parcial  
de los requisitos para obtener el título de

Magistri Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADO:

Frederick Wellman

Consejero

L. R. Holdidge

Comité

Lucy Hastings

Comité

Fecha:

July 14, 1950

## A G R A D E C I M I E N T O

El autor desea expresar su más profundo agradecimiento al Dr. Frederick L. Wellman por la dirección en este proyecto y quien en todo momento tuvo gran interés en el desarrollo del mismo haciendo posible en virtud de sus oportunas y valiosas insinuaciones, conducir el estudio a un feliz término.

Mi agradecimiento a la señorita Lucy Hastings por muchos consejos recibidos y ayuda en los trabajos microscópicos, así como también el señor Hernán Granados por asistencia en los trabajos de laboratorio.

Especial mención debo hacer de la colaboración obtenida de parte del Ing. Guillermo Bonilla, quien puso a mi disposición lotes de plantas de café que fueron usadas en los estudios de infección del hongo.

Sería largo enumerar todas aquellas personas miembros del Staff del Instituto y estudiantes que en diferentes aspectos del estudio me prestaron su valiosa cooperación y para quienes guardo mi más sincero agradecimiento.

## BIOGRAFIA DEL AUTOR

T. Rodolfo Quesada Gutiérrez nació en Sabanilla de Montes de Oca, provincia de San José y capital de la República de Costa Rica. Cursó sus estudios secundarios en el Liceo de Costa Rica y estudios profesionales en la Facultad de Agronomía de donde pasó a trabajar en el Ministerio de Agricultura e Industrias del país. Optó el título de Ingeniero Agrónomo en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica en el año 1949, continuando estudios de especialización de fitopatología en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
<b>AGRADECIMIENTO</b>	
<b>BIOGRAFIA DEL AUTOR</b>	
<b>TABLA DE CONTENIDO</b>	
<b>INTRODUCCION . . . . .</b>	1
<b>REVISION DE LITERATURA . . . . .</b>	3
<b>MATERIALES, METODOS Y TERMINOLOGIA . . . . .</b>	8
<b>Medios de cultivo usados, fórmulas . . .</b>	11
<b>Técnica y material usado en el estudio de infección del hongo . . . . .</b>	13
<b>Términos usados en conexión al estudio de inoculaciones . . . . .</b>	14
<b>ESTUDIO DE LAS ESPORAS . . . . .</b>	15
<b>FACTORES IMPORTANTES EN LA GERMINACION DE LAS ESPORAS . . . . .</b>	23
<b>Efecto de la luz y de la oscuridad en la germinación de las conidias . . . . .</b>	23
<b>Efecto de la temperatura en la germinación de las esporas . . . . .</b>	25
<b>Efecto del pH en la germinación de las esporas . . . . .</b>	29
<b>CARACTERISTICA DEL HONGO EN MEDIOS DE CULTIVO</b>	31
<b>Descripción de las colonias de <u>Cercospora coffeicola</u> 6 días después de las siembras</b>	33
<b>Descripción de las colonias de <u>Cercospora</u> crecidas en la luz y oscuridad dentro del laboratorio y en el invernadero, comparando sus características en las tres condiciones, después de 14 días de las siembras</b>	37
<b>Formación de esporas en los medios de cultivo . . . . .</b>	43
<b>Descripción de las colonias crecidas en los medios de almidón, dextrosa y peptona en tres niveles, 0, 5 y 10 gramos en todas las combinaciones posibles, después de 8 días de las inoculaciones . . . . .</b>	45

	Pag.
Efecto del almidón . . . . .	52
Efecto de la dextrosa . . . . .	52
Efecto de la peptona . . . . .	52
Observaciones microscópicas del hongo cre- ciendo en los medios de almidón, dextrosa y peptona, en relación a la formación de estructuras reproductivas y pigmento del micelio . . . . .	54
Estudio del hongo en medios de cultivos preparados de hojas de café de plantas a la sombra y de hojas de café de plan- tas al sol . . . . .	54
<b>ESTUDIOS ACERCA DE LA INFECCION DEL HONGO</b>	<b>56</b>
Infecciones experimentales con esporas sobre hojas colocadas en cámara húmeda	56
Inoculaciones experimentales con esporas sobre hojas en las plantas . . . . .	58
Infecciones experimentales con micelio sobre hojas colocadas en cámara húmeda	67
Infecciones experimentales con micelio sobre cerezas colocadas en cámara hú- meda . . . . .	67
Inoculaciones de micelio sobre hojas en las plantas . . . . .	68
<b>ESTUDIO ACERCA DE LA INFECCION DEL HONGO EN FORMA NATURAL . . . . .</b>	<b>68</b>
Período de incubación de la enfermedad	72
Infección de Cercospora en los frutos	81
<b>DISCUSION . . . . .</b>	<b>82</b>
<b>RECOMENDACIONES . . . . .</b>	<b>85</b>
<b>SUMARIO . . . . .</b>	<b>86</b>
<b>LITERATURA CONSULTADA . . . . .</b>	<b>88</b>

## I N T R O D U C C I O N

El café, como la mayoría de las plantas de gran cultivo, es atacada por varias enfermedades fungosas que de acuerdo a las condiciones climatéricas donde el cultivo se halla establecido son más o menos perjudiciales a éste.

No obstante que esta planta ha sido cultivada por más de 200 años y que su producto es utilizado por el hombre como una bebida muy generalizada en todo el mundo, muy poco se ha hecho en el sentido de aumentar su producción controlando las enfermedades que la atacan.

Entre las enfermedades fungosas que atacan a esta Rubiacea y que talvez no le damos la importancia necesaria debido al poco conocimiento que de ella tenemos y de la forma como afecta a su huésped, está la "mancha de la hoja" y "quemado del fruto de café", causados por un hongo del género Cercospora.

Muy pocos y limitados estudios se han realizado sobre esta dolencia del café siendo el objeto de este trabajo investigar sobre algunos aspectos de la vida del hongo y en especial estudiar la reacción de sus cuerpos reproductivos a las condiciones ambientales, tratando de buscar la forma de control del parásito.

Algunos aspectos de este estudio pueden considerarse no más que exploratorios, esperándose servirán de base para futuras investigaciones, pues como anteriormente se expuso,

al iniciarse este trabajo no se contó con puntos de referencia y si al menos esta discusión logra despertar el interés de personas con mayores conocimientos en esta ciencia, con orgullo podría decirse que el trabajo no se ha realizado en vano.

## REVISION DE LA LITERATURA

Esta enfermedad fué observada por primera vez en hojas de café en Jamaica por Morris, botánico del gobierno en ese país. Morris las envió a Inglaterra para su estudio y al respecto encontramos en el libro de Lock, (12) un párrafo en que dice que le fué permitido por el Rev. M. J. Berkeley examinar parte de ese material que mostraban manchas parecidas al "ojo de gallo" aunque menores en tamaño y que tenían pequeños puntos negros como el Sentoria o Subaxella como él llama a esa enfermedad, pero que examinadas al microscopio mostraban que esos puntos negros no eran peritecios, sino montículos de hilos cortos oliváceos con esporas hialinas, bacilares, creciendo en el ápice. Dice además, que ni Morris ni Berkeley pudieron encontrar esporas y que el Dr. Cooke las observó después de un largo y minucioso examen, denominando el organismo Cercospora coffeicola de Berkeley & Cooke.

En el año 1895 el profesor Nicolás Saenz de la Universidad de Colombia en su libro "Memoria sobre el cultivo del cafeto" (19), menciona esta enfermedad en la misma forma que Lock.

M. T. Cook (6) en 1913 describe la "mancha de la hoja del cafeto" diciendo que es producida por el hongo Cercospora coffeicola de Berkeley & Cooke, anotando que esta dolencia

ha sido reportada de las Indias Orientales Holandesas, México, Cuba, Jamaica, Trinidad, y Brasil y que probablemente ocurra en otros países productores de café.

Ahora se sabe que esta enfermedad está ampliamente distribuida por muchos países productores de café produciendo serios daños al follaje de la planta como también al fruto, recibiendo muy variados nombres: en Costa Rica y Nicaragua, chasparria; Brasil, molestia de olhos pardos; Colonias Inglesas, coffee berry spot; Colombia, falsa stilbella; El Salvador, Guatemala y México, mancha de hierro; Puerto Rico y Cuba, sancocho y quemado del café. Además de los países citados también ha sido reportada la enfermedad en Jamaica, Santo Domingo, Hawaii, Filipinas, Nueva Caledonia, Indias Holandesas, Surinam, Madagascar, Kenya, Uganda, Congo Belga, Trinidad y es posible que exista en todos los países productores de café.

#### Importancia de la enfermedad.

La enfermedad es de gran importancia desde el punto de vista que ocasiona la caída de las hojas afectadas; también produce un resecamiento en la corteza de las cerezas dificultando el beneficio y produciendo un manchado en el pergamino del fruto. En la región de Turrialba, Costa Rica, los almácigos también sufren enormemente de esta dolencia.

La mayoría de los autores que han escrito sobre el hongo concuerdan en decir que la enfermedad aparece en mayores proporciones en cafetales muy asoleados pero limitándose a simples observaciones, excepto G. L. Fawcett en Puerto Rico (7), que encontró una mayor proporción de cerezas afectadas en lotes desprovistos de sombra y B. R. Iglesias en Costa Rica (3) que observó que la enfermedad atacaba fuertemente lotes de café desprovistos de sombra y sin fertilización, diciendo que el hongo ataca como consecuencia de un desequilibrio fisiológico de la planta.

#### Síntomas de la enfermedad

En las hojas la enfermedad se manifiesta como una mancha de color café oscuro con círculos concéntricos de diferentes colores. Cuando ésta es joven la coloración es homogénea parda, pero a medida que la mancha es más vieja va apareciendo en el centro un color más claro haciéndose posible observar círculos concéntricos a saber. Exteriormente una aureola reducida de color verde pálido clorótico, luego un círculo de color café oscuro seguido por otro de color café claro rojizo para dejar un centro gris blancuzco que es más o menos grande de acuerdo al tamaño y edad de la mancha.

Las manchas pueden aparecer en cualquier lugar de la hoja, inclusive sobre las nervaduras las cuales no son

obstáculo para el desarrollo de ella; cuando éstas principian en el borde toman la forma de un semi-círculo.

Generalmente las hojas muestran una pequeña cantidad de manchas y a lo sumo pueden haber cinco. El tamaño de ellas es muy variable y en raras ocasiones exceden a un centímetro de diámetro.

Muchas personas confunden la "chasparría" con la enfermedad conocida vulgarmente como "ojo de gallo" (Omphalia flavida de Maubl. & Rang.) y en realidad se necesita un entrenamiento especial para poder diferenciarlas rápidamente, pero en sus síntomas hay rasgos inconfundibles.

R. P. Roba (17) compara las características de ambas enfermedades en la siguiente forma:

Chasparría	Ojo de Gallo
A. La línea de demarcación entre los tejidos sanos y enfermos es definida pero no muy nítida	A. La línea de demarcación entre los tejidos sanos y enfermos es muy nítida
B. La mancha presenta círculos concéntricos de diferentes colores	B. Toda la extensión de la mancha es de un color uniforme.
C. Las fructificaciones del hongo aparecen como pequeños puntos negros	C. Las fructificaciones del hongo son cabecitas amarillas en forma de alfiler y muy visibles.

**Chasparria**

**Ojo de Gallo**

- |  |  |
|--|--|
| <b>D. En raras ocasiones hay varias manchas en una misma hoja</b>                | <b>D. Las manchas pueden ser numerosas en una misma hoja</b>                               |
| <b>E. Los tejidos afectados raramente se desprenden</b>                          | <b>E. Los tejidos afectados se desprenden dejando la hoja agujereada</b>                   |
| <b>F. La chasparria es más común en cafetales expuestos a mucho sol</b>          | <b>F. El ojo de gallo es más común en cafetales sombreados</b>                             |
| <b>G. La chasparria prefiere las cerezas pero es muy importante en las hojas</b> | <b>G. El ojo de gallo prefiere las hojas, pero causa importante pérdida en las cerezas</b> |

Observando las hojas en el microscopio de disección o sea aumentándolas veinte veces, se aprecian muy claramente las diferentes coloraciones y la zona gris blanquesca del centro de la mancha casi transparente con unos puntos de color oscuro que al colocar la hoja en un plano tangencial aparecen en forma de penachos oscuros dando una impresión como si fueran cepas de zacate distribuidas irregularmente y que no son otra cosa que los órganos reproductivos del hongo.

Las cerezas son atacadas cuando están sazonas ya comenzando su madurez, apareciendo una mancha de color café oscuro generalmente en el lado superior y la cáscara

del grano se resaca y adhiere fuertemente al pergamino llegando a veces a mancharlo y dificultando mucho la operación de desecarada y clasificación del producto.

Ocasionalmente las manchas aparecen también en las ramitas de los almóigos cuando la infección es fuerte, formando una mancha elíptica a lo largo de ella hasta llegar en condiciones favorables para su crecimiento, a consumir toda la corteza y secar la ramita.

### El hongo y su clasificación

El organismo causante de la enfermedad es un hongo al cual no se le ha encontrado la forma de reproducción sexual, o sea que pertenece a los Fungi Imperfecti, con las hifas reproductivas nacidas en pequeños grupos de un color café rojizo llevando esporas de una forma filamentosas o de aguja.

Su clasificación botánica es la siguiente:

Reino .....	Vegetal	Orden .....	Moniliales
División .....	Thalofitas	Familia ...	Dematiaceae
Grupo .....	Hongos	Sub-familia.	Scolecosporae
Clase .....	Fungi Imperfecti	Género ....	Cercospora
	Espece...		CERCOSPORA COFFEICOLA (Berkeley & Cooke)

### MATERIALES, METODOS Y TERMINOLOGIA

#### Localización del estudio

El estudio se llevó a cabo en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de Turrialba, Costa Rica. Turrialba

es una zona cafetalera y la vecindad del Instituto a plantaciones comerciales de este producto hizo posible efectuar ciertas observaciones. Además se pudo usar como fuente de material las nuevas plantaciones que tenía el Ing. Guillermo Bonilla, del Departamento de Fitotecnia.

Ligeras observaciones se efectuaron en plantaciones de café de la Meseta Central, especialmente en relación con la producción de esporas en las manchas e incidencia de la enfermedad en el follaje de plantas desarrolladas. Para el estudio de los síntomas de la enfermedad y características de la formación de las esporas, material colectado en el campo se llevó al laboratorio para las observaciones pertinentes.

Aislaciones del organismo se realizaron de manchas en las hojas, usando la técnica corriente en laboratorio, esterilizando la superficie con cloruro de mercurio y luego poniendo las partes desinfectadas en medio de agar papa y dextrosa para realisar a los tubos de ensayo. Colonias del organismo se obtuvieron haciendo crecer en medio de agar papa y dextrosa esporas aisladas.

Los estudios llevados a cabo con esporas de hicieron obteniendo éstas del campo, pues las producidas en los medios de cultivo no son en todo normales, pudiéndose afectar mucho los resultados. Para los trabajos de medición y germinación, las esporas se colectaron directa-

mente sobre porta-objetos numerados acercando éstos a manchas en hojas y haciendo una ligera presión. Para coleccionar las conidias en esta forma, tanto el porta-objetos como las conidias deben estar bien secos y con una ligera presión las conidias se adhieren al vidrio sin separarse al poner agua sobre ellas. Cuando se trató de hacer las pruebas con esporas suspendidas en agua, hubo gran dificultad debido a que por su característica filamentososa, las esporas se enlazan entre sí y aglutinan.

Los porta-objetos se numeraron para hacer las observaciones periódicas en una forma ordenada y seguir el record de germinación de cada lote. Las pruebas de germinación de conidias en presencia de luz y en la oscuridad se realizaron coleccionando las conidias en la forma ya sabida y poniendo un lote en presencia de luz y otro en cámara oscura, tratando de que las demás condiciones fueran lo más semejantes posible.

En los trabajos de germinación de esporas a diferentes temperaturas se usó una estufa provista de un termostato colocando los porta-objetos en platos de Petri con papel húmedo a fin de evitar la rápida evaporación del agua colocada sobre las conidias en forma de gotas. Los datos finales representan promedios de 12 muestras por tratamiento con esporas coleccionadas y germinadas en 6 días diferentes. En todos los casos se pusieron a germinar esporas a temperatura

ambiente para observar diferencias cualitativas.

Para los estudios del efecto del pH en la germinación de las conidias, se usó el método anteriormente descrito para la recolección de las esporas, poniéndose luego a germinar usando la solución buffer de Mc.Ilvaine preparada con ácido cítrico  $C_6H_8O_7$ , 0.1 molar y solución de bifosfato de sodio  $Na_2HPO_4$ , 0.2 molar. Con estas soluciones madres se prepararon soluciones de pH 3.0 - 4.0 - 5.0 - 6.0 - 7.0 - 8.0. Los lotes de conidias para germinar a diferentes pH se pusieron todos al mismo tiempo, tratando de homogeneizar lo más posible las otras condiciones y así apreciar diferencias cualitativas en los tratamientos. Los datos presentados son promedios de ocho muestras colectadas y germinadas en cuatro días diferentes.

El recuento de conidias germinadas en las investigaciones de esta clase se hizo en primer lugar con la ayuda de un microscopio y luego usando dos contadores automáticos, marcando en uno las esporas germinadas y en el otro las no germinadas hasta observar 100 esporas. El número de conidias germinadas será el porcentaje del tratamiento. Este trabajo se hizo periódicamente cada hora hasta obtener un 100% de germinación o datos conclusivos en los diferentes tratamientos, para luego buscar los promedios.

#### Estudio del hongo en medios de cultivo.

Diferentes medios se prepararon para cultivar el hongo, a saber:

Agar agua

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 25 grs.

Agar nutriente

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 17 grs.  
Extracto carne .. 3 grs.  
Peptona..... 10 grs.

Agar de harina de maiz

Agua destilada... 1000 cc.  
Harina de maiz... 20 grs.  
Agar..... 17 grs.

Agar malta

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 15 grs.  
Extracto de malta 30 grs.

Agar de papa y dextrosa

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 17 grs.  
Papas peladas.... 200 grs.  
Dextrosa..... 20 grs.

Agar dextrosa

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar ..... 25 grs.  
Dextrosa ..... 10 grs.

Agar nutriente dextrosa

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 17 grs.  
Extracto carne .. 3 grs.  
Peptona..... 10 grs.  
Dextrosa..... 10 grs.

Agar de harina de maiz y dextrosa

Agua destilada... 1000 cc.  
Harina de maiz... 20 grs.  
Agar..... 17 grs.  
Dextrosa..... 20 grs.

Agar de papa

Agua destilada... 1000 cc.  
Agar..... 17 grs.  
Papas peladas ... 200 grs.

Estos medios de cultivo fueron preparados usando las direcciones dadas en "Introduction to Research on Plant Diseases" de A. J. Riker y R. S. Riker (16) y luego colocando pequeñas cantidades en frascos Erlenmeyer de 250 cc. para hacer las inoculaciones con partículas de micelio. Los cultivos se separaron en tres lotes que fueron colocados dentro del laboratorio en presencia de luz, en cámara oscura y en el invernadero. Se tomaron medidas del crecimiento de

las colonias en estos medios y se hicieron descripciones de ellas en cuanto a forma, densidad de micelio, formación de esporas y coloración con la ayuda del diccionario de colores de Maerz y Paul (14). Las medidas se tomaron en dos diámetros en cruz por colonia y luego buscando el promedio general de cada medio.

Se hicieron cultivos del hongo en medio de hojas de café picadas, hojas de café bañadas con solución de dextrosa al 5% y también sobre cerezas de café sazonas.

Se prepararon cultivos en medios de agar con almidón, dextrosa y peptona en tres niveles: 0, 5 y 10 gramos por litro de agar agua al 2% en forma factorial, usando todas las combinaciones posibles de estos ingredientes en las tres proporciones, tratando de averiguar el efecto que los nutrientes tienen en el desarrollo de la colonia, haciendo una descripción de sus características en cuanto a densidad del micelio, presencia de esporas y medidas como se dijo anteriormente.

De hojas de plantas de 10 meses de edad crecidas en presencia de sol y hojas de plantas crecidas en sombra muy densa y maceradas a fin de obtener el extracto, se prepararon medios de cultivo mezclando este con agar agua de 2% a razón del 5% del peso de las hojas.

#### Estudio de la forma de infección del hongo

Hojas de café procedentes de plantas crecidas en el sol y de plantas crecidas bajo sombra se trajeron al labo-

ratorio y colocaron en cámara húmeda para ser inoculadas con esporas y micelio del hongo. Para los mismos propósitos se colectaron ramitas de café con cerezas sazonas.

Para el estudio de la infección del hongo se usaron plantas sembradas en maceteros y colocadas dentro del laboratorio y también bajo la acción del sol; también plantas en el campo de 10 a 16 meses de edad con sombra 50% más o menos, sombra muy densa y sin sombra.

Se recogieron en los cafetales cerezas de plantas sin sombra y con sombra para investigaciones en cuanto a la incidencia de la enfermedad. Las cerezas después de colectadas se dejaron una noche en cámara húmeda a fin de promover la formación de esporas y luego observar en el microscopio.

#### La terminología usada en conexión de estudios de inoculaciones

**Inoculación con suspensión de esporas:** Esporas colocadas en agua y aplicadas sobre las hojas por medio de un gotero.

**Inoculación directa:** Consiste en aplicar en el punto escogido una mancha de una hoja con suficientes esporas haciendo una ligera presión.

**Inoculación con herida:** Cuando se habla de herida se trata de una pequeña incisión sacando una delicada película por medio de una navajilla en el lado inferior de la hoja en el punto indicado.

**Inoculación por atomización:** Consiste en aplicar las esporas suspendidas en agua por medio de un atomizador.

## I - ESTUDIO DE LAS ESPORAS

El hongo se reproduce por medio de conidias de forma filamentosa o de aguja, es decir largas con un extremo terminado en punta y el otro más abultado, hialinas, septadas y se producen en conidióforos ligeramente más gruesos de color pardo, septados y zigzagueados levemente como una caña de azúcar. Los conidióforos nacen en grupos distribuidos sobre la superficie de la mancha (Fig. 1). Sobre las células de los conidióforos y en su extremo superior se forma la conidia que al desprenderse deja una cicatriz. Las esporas son formadas por ambos lados de la mancha, pero la cantidad mayor se aprecia en el lado inferior de la hoja pudiéndose ver a simple vista como una gran cantidad de hilos muy finos de un color gris claro. Las conidias se forman diariamente en células nuevas del conidióforo durante la noche o en presencia de ambiente húmedo, para desprenderse al día siguiente una vez que el rocío o la humedad sobre la mancha haya desaparecido y la espora se seque en su ápice estando lista para ser acarreada por el viento (Figs. 2, 3, 4). Las esporas húmedas se adhieren fuertemente al conidióforo sin ser desprendidas por las brisas. Gotas de agua pasando sobre las manchas llevan esporas también. Cuando la humedad es constante las esporas formadas

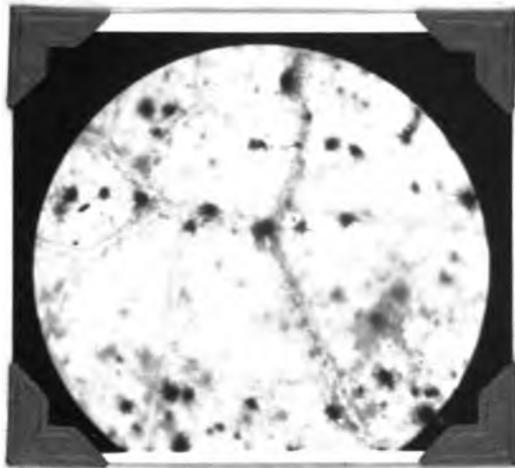


Fig. 1 Sección de una mancha de *Cercospora coffeicola* en una hoja de café mostrando los conidióforos nacidos en grupos que aparecen como puntos negros. (Foto del autor x 100).-



Fig 2 Conidióforos de *Cercospora coffeicola* sobre una mancha de una hoja de café; las conidias ya se han desprendido. Fotografía tomada en una plano tangencial. ( Foto del autor x 100).-



Fig. 3 Esporas de *Cercospora coffeicola* antes de desprenderse de los conidióforos. Fotografía tomada en un plano tangencial. (Foto del autor x 100).-

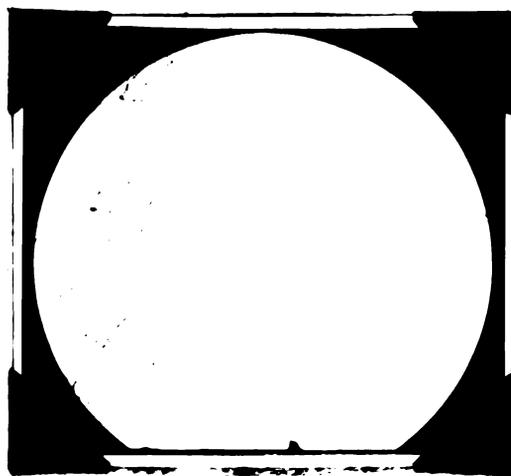


Fig. 4 Conidias de *Cercospora coffeicola*; nótese la gran variación en el tamaño de éstas. (Foto del autor x 100).-

en los conidióforos siguen aumentando de tamaño sin formarse nuevas hasta tanto ésta no se desprenda. No se ha podido observar más de una conidia creciendo sobre el conidióforo. En días claros la mejor hora para recolectar las conidias es entre nueve y diez de la mañana; por las tardes es difícil encontrar una cantidad apreciable de ellas sobre las manchas.

Las conidias son muy adhesivas como puede verse que acercando un porta-objetos bien limpio y seco sobre una mancha y haciendo una ligera presión, las conidias quedan adheridas al vidrio en una forma que no es posible desprenderlas soplando fuertemente, ni tampoco con pequeñas corrientes de agua; lluvias moderadas tampoco logran desprenderlas. Los conidióforos no exhiben esta propiedad.

El tamaño de las conidias es muy variable y posiblemente dependa en su mayor parte del tiempo que la conidia permanezca sobre el conidióforo; hay algunas cortas o más o menos gruesas y otras demasiado largas y delgadas.

La variación del tamaño de las conidias es considerable encontrándose desde 16 a 176 micras de largo con un promedio de 71.69 micras calculado con un error de 2.40; la medida más corriente o sea el modo es de 64 micras.

El cuadro 1 y la fig. 5 muestran una clasificación de 200 esporas atendiendo a su tamaño.

El ancho de las conidias varía entre 1.6 a 6.4 micras

con un promedio de 3.6 calculado con un error de 0.79; el modo es de 3.2 micras. (Cuadro 1 y fig. 6).

El número de septas de las conidias es también muy variable, encontrándose desde 0 septas hasta 15; las esporas más corrientes son aquellas de 6 septas; el promedio de septas en las esporas es de 5.49 con un error de 0.17. (Cuadro 1 y fig. 7).

CUADRO No. 1

Medidas de Esporas de Cercospora coffeicola  
(Datos tomados en 200 esporas)

No. Esporas	(1) Largo	No. Esporas	(2) Ancho	No. Esporas	(3) Septas
23	16-35.9	10	1.6 - 2.5	14	0 - 2
47	36-55.9	142	2.6 - 3.5	38	3 - 4
52	56-75.9	6	3.6 - 4.5	93	5 - 6
25	76-95.9	35	4.6 - 5.5	26	7 - 8
33	96-115.9	7	5.6 - 6.4	14	9 - 10
10	116-135.9			13	11 - 12
6	136-155.9			2	13 - 15
4	156-176				

- 1) La clasificación fué hecha en un intervalo de clase de 20 micras.
- 2) En esta clasificación se usó un intervalo de clase de 1 micra.
- 3) En esta clasificación se usó un intervalo de clase de 2 septas.

Facilmente se puede observar la gran variación que hay en las medidas de las esporas especialmente en lo que se refiere al largo de las conidias y número de septas de éstas.

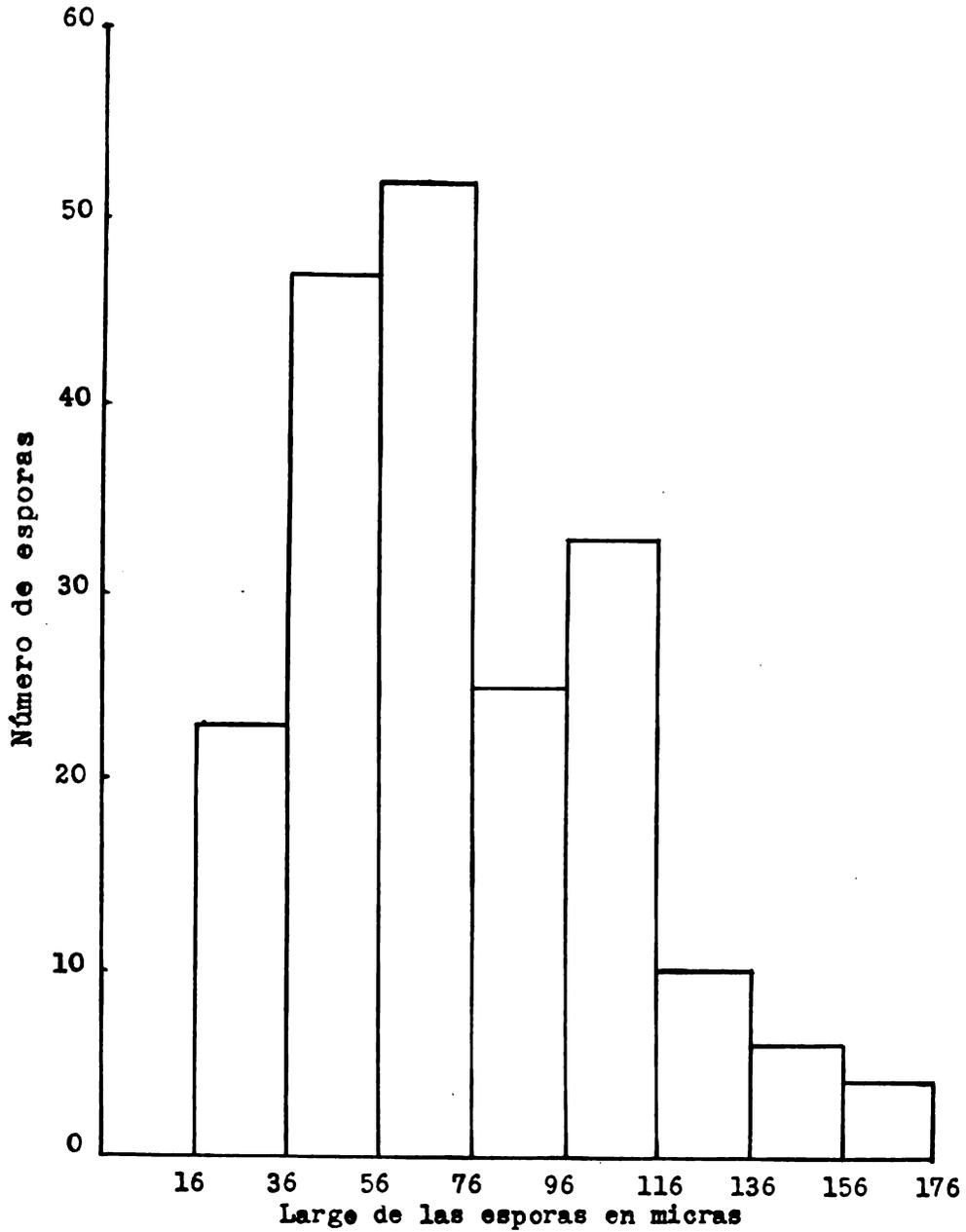


Fig. 5 Largo de las esporas de *Cercospora deffeicola*; esta clasificación fué hecha sobre 200 esporas, tomando un intervalo de clase de 20 micras.-

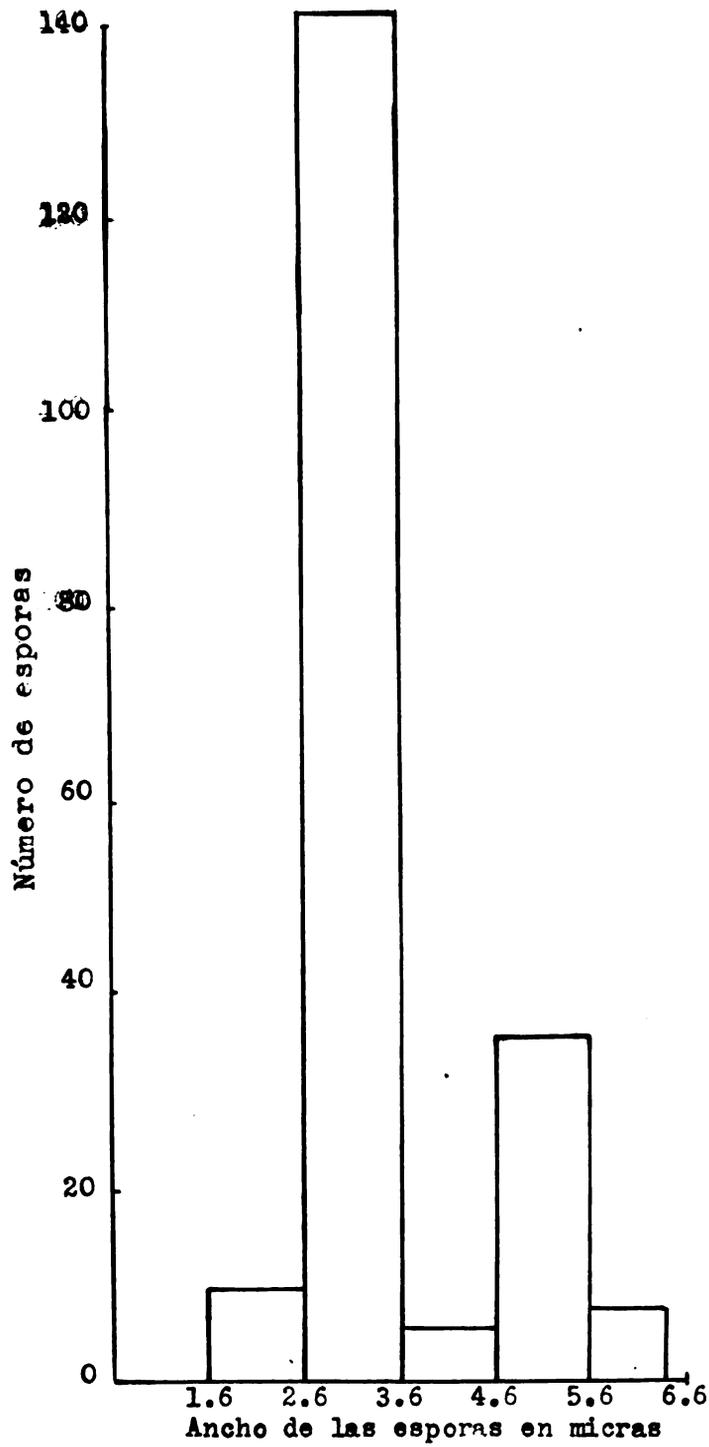


Fig. 6 Ancho de las esporas de *Cercospora coffeicola*; clasificación hecha sobre 200 esporas, tomando un intervalo de clase de una micra.-

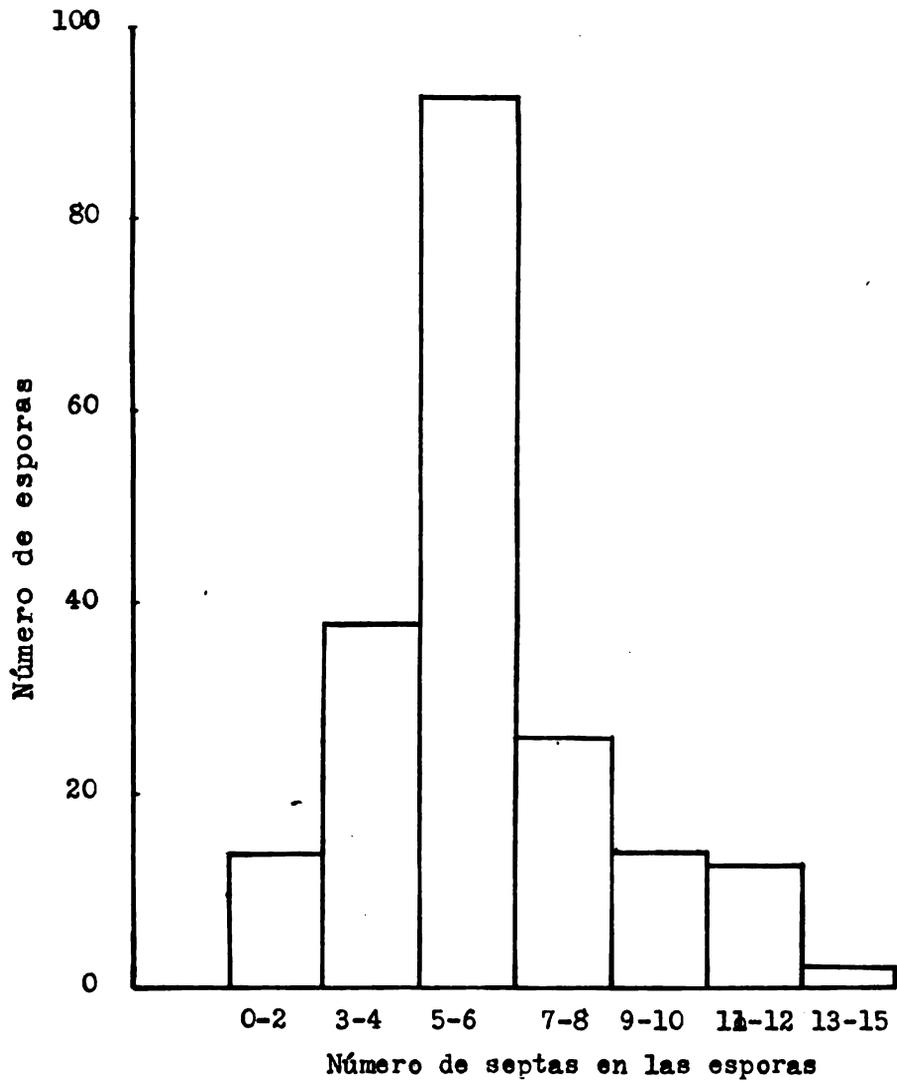


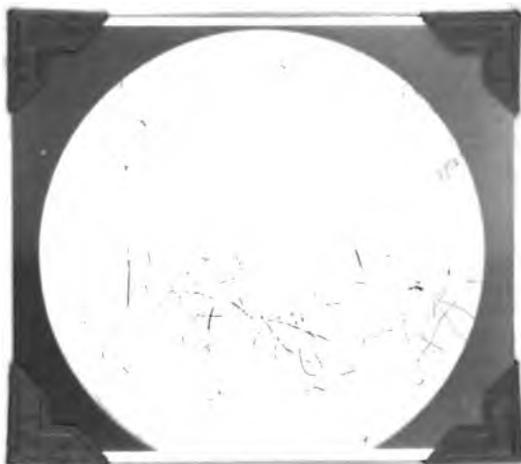
Fig. 7 Número de septas en las esporas de *Cercospora coffeicola*; clasificación hecha sobre 200 esporas, tomando un intervalo de clase de 2 septas.-

FACTORES IMPORTANTES EN LA GERMINACION  
DE LAS ESPORAS

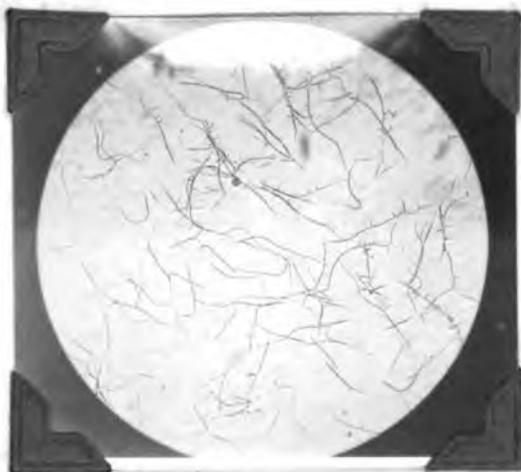
Las esporas del Cercospora coffeicola germinan rápidamente necesitando un período de 8 horas como máximo; aún esporas rotas germinan y los filamentos nacen en más de una célula haciéndolo de preferencia en la célula basal y con más rapidez, siguiendo luego las otras células adyacentes (Fig. 8 y 9). Algunas esporas que no se desprenden del conidióforo a causa de mucha humedad, principian su germinación por la célula apical sin formar más filamentos.

Efecto de la luz y de la oscuridad en la germinación de las conidias

La presencia o ausencia de luz no tiene efecto alguno en la germinación de las esporas. El cuadro 2 muestra un ensayo de germinación de esporas en presencia y ausencia de luz.



**Fig. 8** Conidias de *Cercospora coffeicola* comenzando a germinar después de cuatro horas de haberlas colocado en agua a temperatura ambiente (25° C.); nótese como la germinación se inicia en la célula basal. (Foto del autor x 100).-



**Fig. 9** Conidias de *Cercospora coffeicola* profusamente germinadas después de ocho horas de haberlas colocado en agua a temperatura ambiente (25° C.); las esporas han desarrollado tubes germinales en varias células. (Foto del autor x 160).-

CUADRO No. 2

Germinación de esporas en la luz y en la oscuridad

Horas							
Luz	Muestra						Promedio
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
1	2	1	1	0	0	0	1
2	23	13	37	44	7	57	30
3	97	92	77	90	95	88	90
4	98	100	100	96	98	100	99
5	100	100	100	100	100	100	100
Oscuridad							
1	0	0	0	0	0	0	0
2	6	59	33	11	40	51	33
3	83	89	96	46	77	88	80
4	85	97	98	97	91	100	95
5	100	97	100	96	100	100	99

Las cifras representan porcentajes establecidos contando 100 esporas en cada repetición; las pruebas se hicieron durante tres días.

Los datos del cuadro anterior muestran que prácticamente no hay diferencia en los tratamientos; se puede observar una gran variación en los diferentes lotes resultando los promedios muy semejantes. En el desarrollo de los tubos germinales de las conidias no se apreció diferencia.

Efecto de la temperatura en la germinación de las esporas

Las esporas del hongo Carcospora coffeicola son muy sensibles a la acción de diferentes temperaturas, las cuales aceleran o retardan el período de germinación como también la modalidad. El cuadro 3 muestra un ensayo de germinación de las esporas usando diferentes temperaturas.

CUADRO No. 3

Germinación de esporas a diferentes temperaturas :

Horas	25°C	28°C	30°C	32°C	35°C
1	0	0	0	0	0
2	16	47	26	12	0
3	68	71	93	45	48
4	89	82	100	67	85
5	93	96	100	75	99
6	96	100	100	88	100
7	100	100	100	93	100
8	100	100	100	100	100

El cuadro anterior muestra las cifras promedios de los porcentajes establecidos en doce repeticiones contando 100 esporas en cada una y por tratamiento.

Se puede apreciar en el cuadro que las esporas germinadas a temperatura del laboratorio alcanzan un 100% de germinación en un período de 7 horas; con 28°C., a 6 horas; a 30°C., en 4 horas, para luego disminuir la germinación hasta necesitar 8 horas a temperatura de 32°C., y aumentar nuevamente a temperatura de 35°C., dando origen a una curva bimodal como puede observarse en la figura No. 10.

La temperatura óptima para la germinación de las esporas es de 30°C.; temperatura de 40°C. inhibe la germinación por el tiempo que están sometidas al tratamiento, pero luego de dejarlas por un lapso de 4 horas a temperatura ambiente, las esporas germinan totalmente. Temperatura de 45°C. durante 5 horas hace perder la vitalidad de

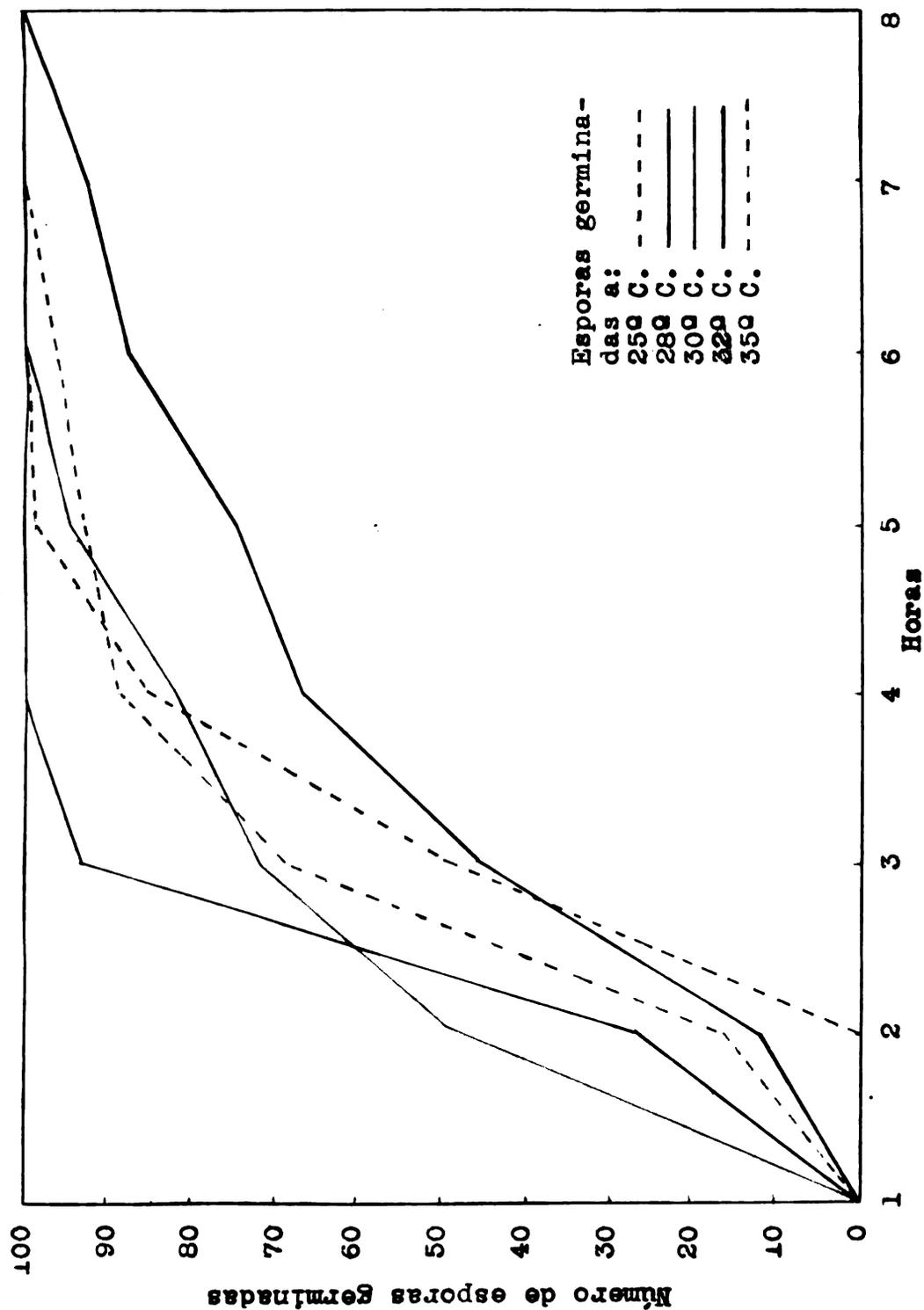


Fig. 10 Efecto de la temperatura en la germinación de esporas de *Cercospora coffeicola*. La temperatura óptima para la germinación de las esporas fué de 30° C. (Porcentajes establecidos contando 1200 esporas por tratamiento).

las esporas, no germinando al colocarlas durante 24 horas a temperatura ambiente.

Las esporas germinadas a 30°C. desarrollan tubos germinales mucho más largos que a temperatura ambiente. Esporas colocadas a 32°C. germinan más lentamente que a temperatura ambiente y los tubos germinales son más cortos, pero las esporas germinan más profusamente, es decir, hay mayor cantidad de tubos germinales por conidia. A temperatura de 35°C. las conidias germinan más rápidamente que a temperatura de laboratorio (25°C.) y los tubos germinales son más desarrollados.

Conidias expuestas a la acción del sol durante un día perdieron su vitalidad en contraposición de esporas colectadas en la misma fecha y guardadas a la sombra que germinaron en 100%. Es de anotar que los días en que se hizo este ensayo no fueron muy luminosos, sino que los rayos solares alternaron con períodos nublados.

Esporas colocadas bajo la acción del sol en presencia de agua mostraron muy bajo porcentaje de germinación, no más que 8% al cabo de 6 horas, en comparación con 100% de esporas colocadas a la sombra; las mismas conidias al colocarlas a la sombra germinaron en 100% tres horas después; el factor influyente en este caso es la temperatura desfavorable.

**Efecto del pH. en la germinación de las esporas**

La acidez de las soluciones afecta la germinación de las esporas en una forma muy particular, pudiéndose observar que un pH. demasiado ácido, así como también pH. neutro o ligeramente alcalino es perjudicial a éstas.

El cuadro 4 y fig. 11 muestran un ensayo de germinación de esporas usando diferentes pH.

CUADRO No. 4.

Germinación de esporas usando diferentes pH

---

Horas	Porcentaje de esporas germinadas					
	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	1	0	0
3	0	7	6	8	0	0
4	1	42	49	38	8	1
5	4	61	66	44	10	1
6	10	70	75	46	17	4
7	23	79	88	47	25	9
8	32	83	90	53	35	11

---

El cuadro muestra las cifras promedios de los porcentajes establecidos en 8 repeticiones contando 100 esporas en cada una y por tratamiento.

Del estudio del cuadro se desprende que un pH fuertemente ácido lo mismo que pH neutro o ligeramente alcalino son perjudiciales a las esporas y que la mejor germinación se obtuvo con pH 5.0 (moderadamente ácido).

Las esporas colocadas en pH 3.0, además de mostrar un porcentaje pequeño de germinación, aparecen al cabo de 8

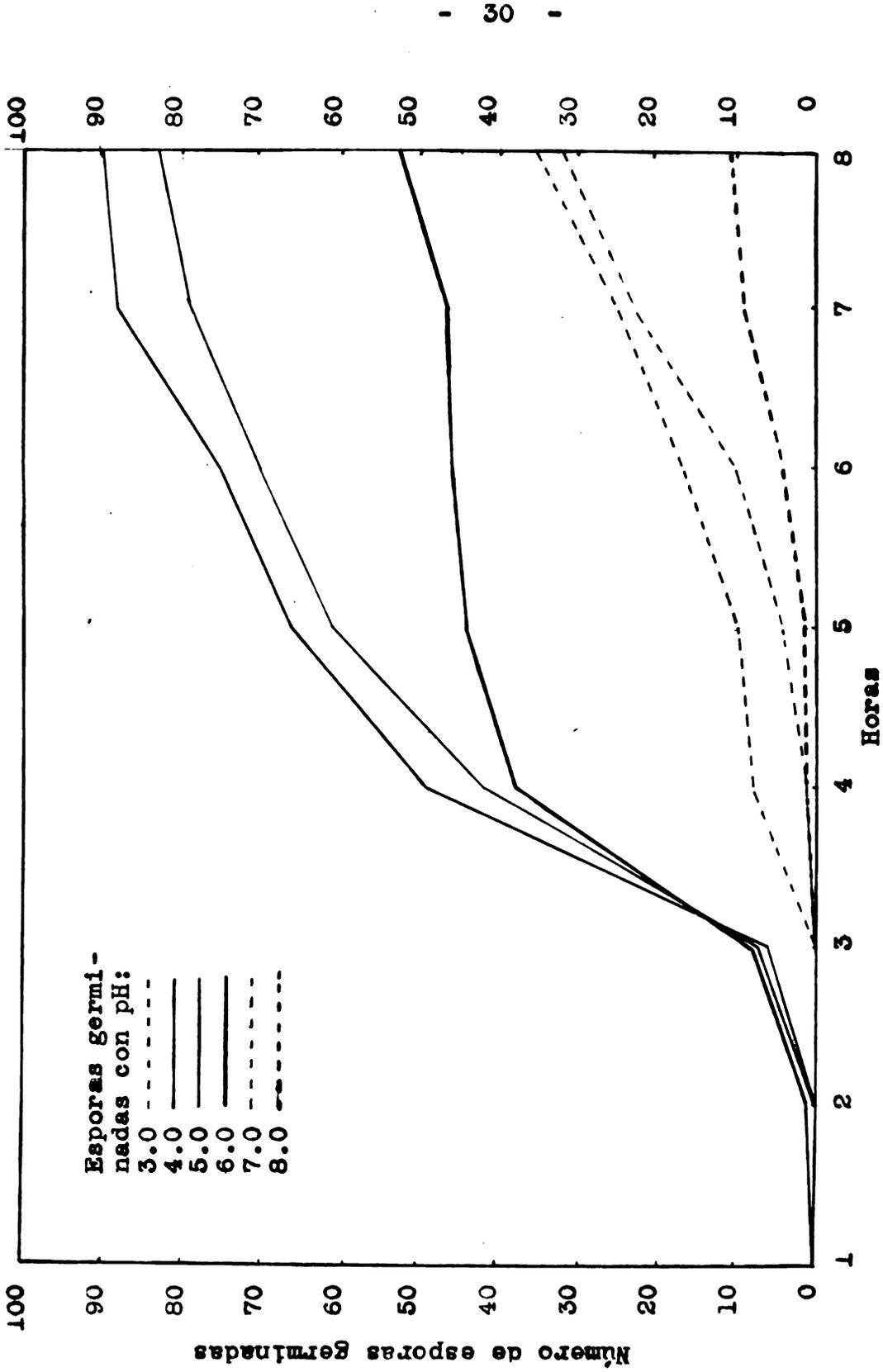


Fig. 11 Efecto del pH, en la germinación de las esporas de *Cercospora coffeicola*. El pH. óptimo para la germinación de las esporas fué de 5.0 - (Porcentajes establecidos contando 800 esporas por tratamiento).-

horas con tubo germinal no más que en la célula basal el cual es muy corto. Con pH 4.0 al cabo de 8 horas las conidias muestran el tubo germinal en la célula basal bastante desarrollado y en otras células también aparecen tubos germinales. Con pH 5.0 las esporas además de germinar en menos tiempo, lo hacen más profusamente y con tubos germinales más largos que en los otros tratamientos. Usando pH menos ácido que 5.0 las conidias germinan más lentamente, siendo los tubos germinales muy cortos al cabo de 8 horas.

#### CARACTERISTICAS DEL HONGO EN MEDIOS DE CULTIVO

El micelio del hongo es hialino, septado, con células cortas y muy ramificado. Según el medio donde crece, la colonia muestra características peculiares de crecimiento, variando la forma, coloración, densidad del estroma, etc.

La presencia o ausencia de luz en los medios de cultivo no afecta al hongo en lo referente a forma y crecimiento de la colonia, pero sí se pudieron apreciar diferencias fisiológicas como es la formación de esporas y por lo tanto en la coloración de las colonias. Como es de esperarse, la temperatura afecta el crecimiento del hongo, pero al respecto no se realizaron más trabajos que hacer crecer colonias en el invernadero y dentro del laboratorio usando diferentes medios. El cuadro No. 5 muestra el crecimiento de colonias de *Cercospora* colocadas dentro del laboratorio en presencia de luz y en cámara oscura, y en el invernadero.

CUADRO No. 5

Medidas de colonias de Careospora coffeicola crecidas en diferentes medios colocados dentro del laboratorio en presencia de luz y en cámara oscura y en el invernadero.

Laboratorio, en presencia de luz			
Medios de cultivo	6 ds.	9 ds.	13 ds.
Agar agua	9.0	12.0	22.7
Agar dextrosa	7.7	12.1	18.2
Agar papa	15.7	22.8	27.1
Agar papa dextrosa	22.4	36.7	57.4 (1)
Harina de maíz	14.3	21.7	27.5
Harina de maíz y dextrosa	15.3	25.2	38.9 (3)
Agar nutriente	12.3	16.5	18.9
Agar nutriente y dextrosa	19.6	33.3	47.7 (2)
Agar malta	15.1	23.8	37.5
Laboratorio, en cámara oscura			
Agar agua	9.1	12.2	15.5
Agar dextrosa	6.6	11.1	16.4
Agar papa	15.9	23.1	28.4
Agar papa dextrosa	22.7	38.2	56.1 (1)
Harina de maíz	13.8	22.5	34.3
Harina de maíz y dextrosa	15.8	27.7	41.3 (3)
Agar nutriente	11.5	16.6	19.6
Agar nutriente y dextrosa	18.7	31.3	46.2 (2)
Agar malta	13.9	24.6	38.1
Invernadero, en presencia de luz			
Agar agua	6.7	9.7	12.6
Agar dextrosa	5.8	9.1	12.3
Agar papa	13.2	19.1	24.7
Agar papa dextrosa	19.8	28.0	43.7 (1)
Harina de maíz	12.5	17.3	24.7
Harina de maíz y dextrosa	12.9	17.7	26.2 (3)
Agar nutriente	11.7	15.8	18.8
Agar nutriente y dextrosa	16.1	24.7	37.7 (2)
Agar malta	11.2	15.6	25.6

Las cifras representan diámetro promedio de las colonias en centímetros. (Los números entre paréntesis corresponden por su orden a las colonias donde el hongo tuvo mejor crecimiento).

Observando los datos del cuadro anterior encontramos que en el medio agar de papa y dextrosa el hongo creció más, seguido luego por los medios agar nutriente dextrosa y harina de maíz y dextrosa en las tres condiciones. En los medios en que se agregó dextrosa el hongo tuvo un crecimiento mucho mayor que en medios semejantes sin dextrosa, poniendo de manifiesto una preferencia por medios azucarados. Entre los cultivos crecidos en presencia de luz y los cultivos crecidos en cámara oscura no se aprecian diferencias de crecimiento. Los cultivos crecidos en el invernadero muestran un diámetro promedio bastante inferior a los crecidos en el laboratorio como consecuencia de la alta temperatura que soportaron, llegando a un máximo de 37°C.; también la variación es considerable obteniéndose en las noches temperaturas menores de 20°C.; en el laboratorio la temperatura es muy constante teniendo un promedio de 24°C.

Descripción de las colonias de Cercospora coffeicola  
6 días después de las siembras

Las colonias del hongo mostraron características especiales en los diferentes medios respecto a estructura, forma, densidad del micelio y color. La descripción de los colores se hizo con la ayuda del diccionario de colores de Maerz y Paul (15), donde se pueden observar los nombres y láminas a que hacemos referencia.

Agar de papa y dextrosa: Colonia de forma regular, micelio denso algodonoso sobre la superficie del estrato. Color del estrato: blanco algodonoso con un centro pequeño amarillo canario (Lámina 17, J1). Color del substrato: centro color granada Morro-Arnada (Lámina 8, H6) con bordes de color Málaga (Lámina 7, L1).

Agar de papa: Colonia de forma regular, micelio creciendo sobre la superficie en forma compacta. Color del estrato: blanco opaco en círculos concéntricos. Color del substrato: café oscuro Beaver Mushroom Canel Starling (Lámina 15, A6) en toda la extensión de la colonia.

Agar nutriente dextrosa: Colonia de forma regular de bordes bien definidos y parreados, el micelio crece como una delicada película sobre el medio con surcos que salen del centro hacia los bordes y todo el estroma es corrugado profundamente dando el aspecto de una tela corrugada. Color del estrato: borde ancho, blanco, rodeando un anillo de color Cement National Grey (Lámina 46, A1); en el centro una berla o botón color Shadow (Lámina 46, C1). Color del substrato: centro color Tiffin (Lámina 14, K10), luego un anillo oscuro (Lámina 40, A1) y los bordes nuevamente como el centro. Por el substrato se notan también los surcos que parten del centro hacia los bordes.

Agar nutriente: Colonia regular de bordes parreados, bien definidos con el micelio compacto creciendo sobre la su-

perficie del agar en forma muy corrugada. Color del estrato: en el borde color blanco en anillo angosto rodeando un color oscuro Carbuncle (Lámina 8, L7). Color del substrato: borde angosto color Mosul (Lámina 14, F8), rodeando un color (Lámina 8, H1).

Agar dextrosa: Colonia no bien definida, filamentos dispersos creciendo interiormente en el agar, sin poderse definir los bordes. Coloración: oscura como (Lámina 9, B1).

Agar de harina de maíz: Colonia regular de bordes bien definidos con micelio creciendo sobre la superficie como una película delicada y lisa. Coloración del estrato: centro de color oscuro como Lava (Lámina 8, E7), luego un anillo ligeramente rosado como (Lámina 4, B2) y un borde angosto como Lillium Antique Fuchsia (Lámina 43, K7). Color del substrato: centro cerca de Brunswick, Gr. deep (Lámina 24, A12), luego un anillo de color (Lámina 17, C1) y un borde de color (Lámina 44, L6).

Agar de harina de maíz y dextrosa: Colonia regular de bordes bien definidos con micelio creciendo en la superficie en forma lisa y compacta. Color del estrato: centro un color como Elephant skin (Lámina 7, A2), luego círculos angostos concéntricos de color como Lillium Antique Fuchsia (Lámina 43, K7) que alternan con círculos de un color rosado blanco como (Lámina 43, B1). Color del substrato: centro de color verduzco como (Lámina 24, E1) y luego círculos concéntricos hacia afuera

en la misma forma y color del estrato.

Agar Malta: El micelio crece dentro del agar con pequeñas partículas que sobresalen en la superficie en forma irregular y con aspecto algodonoso; la colonia muestra una forma regular de bordes definidos. Color del estrato: las partículas de micelio que emergen en la superficie son de color blanco algodonoso. Color del substrato: centro de color oscuro verduseo como (Lámina 24, A6) y luego borde blanco sucio como de (Lámina 12, A1).

Características de las colonias de *Cercospora* crecidas en ausencia de luz dentro del laboratorio:

Las colonias tienen las características generales que se observaron en los cultivos crecidos en la luz, sólo que los colores son ligeramente más claros y no desarrollan los colores púrpura en los medios de harina de maíz y harina de maíz y dextrosa cuando están en presencia de luz y también crecidos en el invernadero.

Características de las colonias crecidas en el invernadero:

En el invernadero los cultivos desarrollan colores más intensos y brillantes y con especial diferencia los medios de harina de maíz y harina de maíz y dextrosa que forman un color púrpura que se aprecia tanto en el estrato como el substrato en forma de círculos concéntricos muy vistosos.

Descripción de las colonias de Cercospora crecidas en la luz y oscuridad dentro del laboratorio y en el invernadero, comparando sus características en las tres condiciones, después de 14 días de las siembras:

Agar

de papa dextrosa: Colonia de forma regular con bordes bien definidos pero no muy nítidos, micelio creciendo en la superficie del medio formando un estroma denso no compacto. La colonia tiene en el centro un pequeño botón de donde parten hacia el exterior cinco o seis hendiduras que forman un perfecto asterisco y llegan hasta los bordes. Color del estrato: exteriormente un círculo angosto de color gris blancuzco como (Lámina 5, A1); interiormente se va tornando de un color amarillento canario semejante a (Lámina 11, J1) y sobre este círculo amarillo se forma una coloración grisácea como (Lámina 31, A1). Color del substrato: coloración café homogénea como Cochin mocassin Argus Brown (Lámina 7, A12).

Las colonias crecidas en la oscuridad desarrollan en el estrato los mismos colores que cuando crecidas en la luz pero sin el gris del centro que es consecuencia de la formación de conidióforos porque los cultivos en esta condición no los forman. En el substrato no tenemos diferencia.

Las colonias crecidas en el invernadero no desarrollan los colores amarillo ni gris y todo el micelio aparece de color blanco brillante. El substrato no tiene diferencia.

**Agar de papa:** La colonia tiene forma regular con bordes bien definidos aunque no muy nítidos; el micelio es denso y compacto sobre la superficie y lisa la colonia. Color del estrato: color homogéneo en toda la colonia como (Lámina 4, A1); color del substrato: color uniforme como Olive Wood Collie (Lámina 15, E10). Las colonias crecidas en cámara oscura muestran en el estrato una coloración ligeramente más oscura en el centro y que se confunde lentamente con el otro color (Lámina 4, A1). El substrato aparece igual. Las colonias crecidas en el invernadero muestran en el estrato una coloración blanco brillante o crema en vez de ser blanco sucio, como las otras colonias. El substrato no tiene diferencia.

**Agar nutriente dextrosa:** Colonia de forma regular con bordes muy bien definidos y parreados; el micelio crece en la superficie en forma compacta y muy rugosa dando el aspecto de una tela corrugada. Del centro de la colonia parten hacia los bordes varias líneas o hendiduras que llegan hasta los bordes y otra cantidad de rayos menores se forman más adelante hasta llegar a los bordes. Color del estrato: exteriormente un anillo angosto de color (Lámina 5, A8), luego en el centro un color como Hudson seal (Lámina 8, A9). Color del substrato: color uniforme como Sepia (Lámina 8, A10) atravesado por rayos y círculos de un color más claro como Cochin moccasin + Argus Brown (Lámina 7, A12). Las

colonias crecidas en la cámara oscura tienen una coloración más clara en el estrato como Bonito Fuscous + (Lámina 7, C7). La superficie de la colonia es menos corrugada y el color es uniforme. En el substrato no hay diferencia. Las colonias del invernadero muestran mucha semejanza a las crecidas en la cámara oscura tanto en su apariencia como coloración.

Agar nutritivo: Colonia regular de bordes muy bien definidos y parreados. El micelio del hongo crece en la superficie del agar en forma compacta y de aspecto parreado con un botón en el centro de donde parten hendiduras suaves que van hacia los bordes como rayos. Color del estrato: color uniforme como Sepia (Lámina 8, A10). Color del substrato: igual al estrato. Las colonias crecidas en la cámara oscura muestran en el estrato un color más claro, como Rose Gray (Lámina 7, A8); el substrato no muestra diferencia. Las colonias crecidas en el invernadero son muy semejantes a las crecidas en cámara oscura.

Agar dextrosa: La colonia crece interiormente en el agar sin salir a la superficie y sólo se aprecia un botón en el lugar donde se hizo la inoculación; los bordes no son bien definidos y el crecimiento del micelio es raro. Color del estrato: en el centro hay un botón de color blanco algodónoso muy pequeño, luego un color verdusco como (Lámina 24, C5); exteriormente el micelio creciendo muy raro

se aprecia hialino, visible sólo a trasluz. Color del substrato: el mismo color verdusco descrito para el estrato (Lámina 24, C5). Las colonias crecidas en cámara oscura son semejantes a las crecidas en la luz, sólo que el color verdusco es más claro como (Lámina 24, H5); igual para el substrato. Las colonias crecidas en el invernadero muestran las mismas características que las crecidas en la luz, además de un color verde gris como (Lámina 24, C5) en los bordes, alternadas con manchas de color púrpura semejantes a las desarrolladas en los medios harina de raíz y harina de maíz y dextrosa. Por el substrato los mismos colores descritos en el estrato.

Agar agua: Las colonias crecidas en este medio muestran el micelio creciendo interiormente en el agar y sólo un pequeño botón algodonoso se aprecia en la superficie, el micelio es hialino y sólo es posible observarlo por transparencia. No hay coloración. Las colonias desarrolladas en cámara oscura son en todo semejantes a las descritas anteriormente. Las colonias crecidas en el invernadero tienen todas hacia los bordes un anillo de color púrpura como (Lámina 42, L9), rodeando un pequeño centro de color blanco brillante. Por el substrato el color púrpura es algo más opaco como (Lámina 42, L8).

Agar de harina de maíz: Colonia de forma regular con micelio creciendo sobre la superficie del agar formando un

estroma liso y compacto. Color del estrato: centro de color blanco sucio como (Lámina 21, A1), rodeado de un anillo de color púrpura como (Lámina 41, L8). Esta coloración está formada por micelio del hongo que crece dentro del medio sin salir a la superficie. Color del substrate: en el centro una coloración azul negro como Simbad (Lámina 48, A12), rodeado de una coloración púrpura un poco azulada como (Lámina 41, L9). Las colonias crecidas en la oscuridad no desarrollan el color púrpura o rojizo, sino que en el estrato la coloración es verde grisáceo como Cannon (Lámina 32, A5) y que aparece como espolvoreado de blanco formado por filamentos que emergen a la superficie. En el substrate la coloración es uniforme como Cannon (Lámina 32, A5). Las colonias crecidas en el invernadero muestran tres colores que los podemos definir así: centro de color blanco brillante en forma de botón algodonoso en el lugar de la inoculación, luego un color blanco gris como New Silver (Lámina 37, A2) y rodeando esta coloración un círculo angosto de color púrpura oscuro como (Lámina 42, L9). En el substrate se observa un color como Hepática (Lámina 42, L8) en forma de círculos concéntricos alternados con círculos más claros.

Agar de harina de maíz y dextrosa: Colonia de forma regular de bordes no bien definidos cuyo micelio crece en parte sobre la superficie y otra parte interiormente; el micelio es raro. Color del estrato: en el centro de la colonia

el micelio que crece sobre la superficie es de un color verdusco como (Lámina 31 A3) y exteriormente el micelio crece dentro del agar formando círculos concéntricos como (Lámina 44, L6) alternados con otros de color un poco más claro. Color del substrato: en el centro un color verde gris como (Lámina 31, A6) rodeado de círculos rojizos como (Lámina 44, L5 y K5) alternados entre sí. Las colonias crecidas en cámara oscura son en todo muy semejantes a las colonias crecidas en la luz. Las colonias crecidas en el invernadero son semejantes a las crecidas en la luz, excepto que los colores son más claros. En el estrato: centro de color blanco grisáceo como (Lámina 5, A1) muy extendido y bordeado por un anillo de color púrpura como (Lámina 42, A9). Color del substrato: color púrpura uniforme que al observarlo contra la luz se definen como círculos angostos de color púrpura oscuros y claros alternados.

Agar Malta: Colonia de forma regular y de bordes no muy definidos; micelio sobre la superficie ralo y poco compacto, en zonas el micelio desaparece. Color del estrato: el micelio que emerge a la superficie tiene un color gris blancuseo como (Lámina 36, A1). Color del substrato: centro color café oscuro como Andorra (Lámina 8, L4) y luego un círculo de color más claro como Army Fr. Rosario (Lámina 6, A10). Los cultivos crecidos en cámara oscura no muestran diferencia con los de la luz. Las colonias ereci-

das en el invernadero son también semejantes a las crecidas en la luz.

#### Hojas de café:

En los cultivos efectuados sobre hojas de café esterilizadas el micelio se desarrolló mucho abarcando una gran porción del medio. El micelio del hongo se observa de una coloración gris como (Lámina 7, A1). En el medio de hojas de café bañadas con solución de dextrosa al 5% se observa el desarrollo del hongo en una forma semejante al medio de hojas de café solas. En estos dos medios hay formación de esporas en gran cantidad, las cuales son semejantes a las encontradas en el campo.

#### Cerezas de café:

El hongo crece muy bien sobre cerezas de café esterilizadas y sazonas desarrollando un color gris como (Lámina 5, A1), el hongo se extiende muy rápidamente y forma conidias en gran cantidad.

#### Formación de esporas en los medios de cultivos

Formación de conidias en gran cantidad se obtuvo en los cultivos de agar papa y dextrosa crecidos en el laboratorio en presencia de luz; las conidias se observaron a los 10 días de haberse hecho las inoculaciones. En los cultivos de agar nutriente dextrosa se observó una formación de conidióforos cortos globosos que a veces sostenían esporas irregulares. Formación de clamidosporas se pudo observar en es-

te medio en condiciones de luz, oscuridad y en el invernadero. En los cultivos de agar nutriente no fué posible encontrar formación de conidias, pero hubo formación de clamidosporas en las tres condiciones, luz, oscuridad e invernadero. Es de notar que sólo en los cultivos de agar papa y dextrosa hubo formación de conidias bien formadas y características de *Cercospora* y dentro de este medio sólo en los cultivos crecidos en la luz dentro del laboratorio. De todos los cultivos preparados con base en agar se obtuvo mejor desarrollo y mayor crecimiento en el medio de agar de papa y dextrosa; en agar nutriente y dextrosa las colonias tienen suficiente crecimiento pero no hay formación de esporas.

Observando las colonias de *Cercospora* crecidas en los medios antes descritos se puede concluir que el hongo es favorecido por la presencia de carbohidratos en el medio; basta observar el crecimiento en general de las colonias en los medios de agar de papa con y sin dextrosa, agar nutriente con y sin dextrosa y harina de maíz con y sin dextrosa. La dextrosa en los medios ha favorecido el crecimiento del hongo, observándose más densidad del micelio y mayor crecimiento. Partiendo de estas observaciones se inició otro ensayo usando almidón, dextrosa y peptona en las proporciones de 0, 5 y 10 gramos con base en agar en forma factorial usando todas las combinaciones posibles.

Descripción de las colonias crecidas en los medios de almidón, dextrosa y peptona en tres niveles, 0, 5 y 10 gramos en todas las combinaciones posibles después de 8 días de las inoculaciones.

Almidón 0, dextrosa 0 y peptona 0: micelio creciendo interiormente dentro del agar sin emerger a la superficie; los filamentos son muy ralos y la colonia no guarda forma regular sino que los filamentos partiendo del centro de la inoculación se dispersan. El micelio sólo se puede observar a trasluz.

Almidón 0, dextrosa 0 y peptona 5: colonia de forma no regular de bordes bien definidos con micelio creciendo en la superficie en forma rala y de un color verde gris como Bister Gr. (Lámina 13, A5) alternando con círculos más claros de color crema. En el substrato aparece un color como Citrine Rhubarb (Lámina 14, L6) con círculos más claros alternados.

Almidón 0, dextrosa 0 y peptona 10: colonia de forma no muy regular de bordes bien definidos con micelio creciendo sobre la superficie del agar en forma más densa que el anterior. El micelio emerge sobre el estrato con una coloración blanco grisácea (Lámina 20, A1). Por el substrato tenemos una coloración como Castor (Lámina 16, A8) bordeado de un círculo más claro blanquesino.

Almidón 0, dextrosa 5 y peptona 0: colonia de forma irregular de bordes no definidos con micelio desarrollado en el interior del agar sin emerger a la superficie, filamentos hialinos sólo visibles por transparencia. Los micelios se

dispersan en el agar y se comienza a notar una coloración púrpura.

Almidón 0, dextrosa 5 y pentona 5: colonia de forma regular de bordes bien definidos con el micelio creciendo sobre la superficie del agar en forma rala con una coloración blanco verdusca como Dusty Gr. (Lámina 22, C1), en el centro de la colonia el micelio está más concentrado. En el substrato el color es algo así como Roman Green (Lámina 15, L5), más intenso en el centro y más claro en los bordes.

Almidón 0, dextrosa 5 y pentona 10: colonia de forma regular de bordes bien definidos y con micelio creciendo sobre la superficie en forma densa y compacta, con una coloración como (Lámina 21, A1). El substrato tiene un color como Bison (Lámina 16, A10) y el agar en la extensión de la colonia aparece reventado formando tres o cuatro sectores.

Almidón 0, dextrosa 10 y pentona 0: colonia de borde indefinido con el micelio creciendo dentro del agar en forma hialina, sólo visible por transparencia. En algunas colonias comienza a desarrollarse un color púrpura.

Almidón 0, dextrosa 10, pentona 5: colonia creciendo sobre la superficie del agar con bordes bien definidos, micelio un poco denso y compacto de un color blanco un poco grisáceo, en los bordes el micelio aparece un poco rosado pálido. El substrato es de un color como Bison (Lámina 16, A10) con el centro y borde de un color rosado pálido como (Lámina 49, C1).

Almidón 0, dextrosa 10, pentosa 10: colonia creciendo bien sobre la superficie del estrato con bordes muy bien definidos; el micelio es tupido, compacto de color blanco ligeramente gris como (Lámina 4, A1), el substrato tiene un color como Broncho Old English Br. (Lámina 8, F12), con un círculo angosto alrededor como Deanville Sand Stucco (Lamina 14, A5).

Almidón 5, dextrosa 0, pentosa 0: colonia de bordes no definidos, el micelio no emerge a la superficie sino que se observa como filamentos dispersos que parten del centro y sólo visible a trasluz.

Almidón 5, dextrosa 0, pentosa 5: colonia de forma irregular, bordes bien definidos; el micelio emerge a la superficie del agar pero no es muy denso con un color como Nutria Grege Beaverpelt (Lámina 15, A3). Por el substrato hay un color como Sepia (Lámina 8, A10) bordeado por un color claro casi blanco o crema.

Almidón 5, dextrosa 0, pentosa 10: colonia de forma irregular de bordes bien definidos con el micelio creciendo sobre la superficie del agar en forma poco densa con una coloración como (Lámina 15, A3 6 A5). El substrato tiene un color uniforme como Winter leaf Cashew Nut-Beach tan-Sedge (Lámina 15, A8).

Almidón 5, dextrosa 5, pentosa 0: colonia de forma regular con bordes definidos pero sin emerger a la superficie; el micelio es hialino y solamente se puede observar a trasluz;

comienza a aparecer una coloración rosada en el substrato.

Almidón 5, dextrosa 5, peptona 5: colonia de bordes regulares y bien definidos, micelio creciendo sobre la superficie en forma rala, la coloración del estrato es como (Lámina 13, A1) y (Lámina 12, A1), según la densidad del micelio mezclados irregularmente. Por el substrato tenemos un color como Autuan (Lámina 8, A12), bordeado de un anillo claro como Moka Bisque (Lámina 14, C8).

Almidón 5, dextrosa 5, peptona 10: colonia de bordes bien definidos de forma regular con micelio creciendo sobre la superficie en forma densa y compacta con surcos que la dividen en tres o cuatro sectores. En el estrato el color es blanco ligeramente gris como (Lámina 4, A1) y en el substrato el color es como Sepia (Lámina 8, A10) bordeado de un anillo como Caucasia (Lámina 14, C6).

Almidón 5, dextrosa 10, peptona 0: colonia de forma regular de bordes no definidos, el micelio no emerge a la superficie y sólo se puede observar por transparencia; en algunos cultivos se puede observar en los bordes de la colonia un color púrpura como Patricia (Lámina 42, L7) en forma de anillos alternados con otros más claros.

Almidón 5, dextrosa 10, peptona 5: colonia de forma regular con bordes bien definidos, micelio emergiendo en la superficie en forma poco densa con una coloración como (Lámina 30, A1) en forma de anillos alternados con colores más claros; el substrato es de un color como (Lámina 8,

C12), con un borde en forma de anillo de color claro.

Almidón 5, dextrosa 10, peptona 10: colonia de forma regular con bordes bien definidos con micelio emergiendo en la superficie en forma densa y compacta de un color blanco ligeramente grisáceo, con surcos en la superficie que dividen la colonia en tres o cuatro sectores. El substrato es de un color como Sepia (Lámina 8, A1C) con un anillo o borde de color claro como Stag (Lámina 14, E7).

Almidón 10, dextrosa 0, peptona 0: colonia de forma irregular de bordes no bien definidos, el micelio no emerge a la superficie y apenas es perceptible como una delicada mancha que debido a la opacidad del medio es muy difícil apreciarla. El micelio es hialino y no hay coloración alguna.

Almidón 10, dextrosa 0, peptona 5: colonia de forma irregular de bordes bien definidos, micelio creciendo sobre la superficie del agar en forma no muy densa con una coloración entre gris blanco con pardo oscuro como (Lámina 5, A8), en el substrato el color es como (Lámina 23, E5) con un borde blanco, angosto.

Almidón 10, dextrosa 0, peptona 10: colonia de forma irregular con bordes bien definidos, el micelio es denso y compacto de un color como (Lámina 14, A8) con partes más claras; el substrato es como Sepia (Lámina 8, A1C) con una aureola de color blanco sucio más intenso en la orilla de la colonia y se va extinguiendo lentamente.

Almidón 10, dextrosa 5, pentona 0: colonia irregular de bordes no definidos; micelio no emerge a la superficie y es muy poco desarrollado difícil de observar. Hay una tendencia a formarse una coloración rosada en el estrato.

Almidón 10, dextrosa 5, pentona 5: colonia de forma regular de bordes bien definidos muy desarrollada con micelio creciendo en forma densa y compacta sobre la superficie; en el centro de la colonia hay una borla de donde salen surcos como 8 ó 10 que dividen la colonia en sectores. En el estrato tenemos una coloración como (Lámina 8, A7) bordeado de un anillo de color Cuban Sand - Folk Stone (Lámina 13, A3). En algunos cultivos la borla del centro aparece del color del anillo exterior. El substrato es de un color como Sepia (Lámina 8, A10) y con aureola de color blanco sucio que se disipa lentamente.

Almidón 10, dextrosa 10, pentona 0: la colonia crece muy raquitica en el interior del agar, los bordes no son bien definidos y el micelio crece demasiado ralo sin poderse apreciar facilmente pues este es hialino y debido a la opacidad del medio dificilmente se distingue. En el centro de la colonia hay una coloración verdusca como (Lámina 24, J1) en el substrato el color aparece un poco más oscuro como (Lámina 24, F1).

Almidón 10, dextrosa 10, pentona 5: colonia de forma regular con bordes bien definidos. El micelio es denso en la superficie del agar y compacto con una coloración como

Rose Grey (Lámina 7, A8). Por el substrato tenemos un color como Swamp (Lámina 24, A9).

Almidón 10, dextrosa 10, peatona 10: colonia de forma regular de bordes bien definidos, el micelio crece en forma densa y compacta sobre la superficie del medio y hay varios surcos, 6 u 8 que parten del centro de la colonia y la dividen en sectores. El color del micelio en el estrato es como (Lámina 5, A8) y el substrato es de un color como Sepia (Lámina 8, A10). Los surcos que dividen la colonia en sectores se aprecian también en el substrato, apareciendo el medio reventado.

#### Medidas de las colonias

De las colonias antes descritas se tomaron medidas que no se dan aquí por no considerarse importantes desde el punto de vista que el diámetro promedio que éstas alcanzaron no está de acuerdo con el desarrollo o buen crecimiento del hongo, pudiéndose notar en algunos medios un diámetro de la colonia suficientemente grande pero con un micelio raro y casi imperceptible sin emerger a la superficie y en el caso contrario, algunas colonias crecidas en ciertos medios mostraban un estroma muy denso en la superficie pero con un diámetro pequeño.

Haciendo estudios comparativos de las colonias desarrolladas en diferentes niveles de los nutrientes usados, se hizo posible generalizar ciertas características imprimidas por estos en el desarrollo del hongo.

### Efecto del almidón

El almidón intensifica la densidad del micelio en presencia de cualquier nivel de peptona y especialmente cuando el nivel de dextrosa es bajo o ausente, pero cuando los cultivos disponen de suficiente dextrosa su efecto no es tan notorio. El diámetro de las colonias no experimenta ningún aumento con cantidades mayores de almidón comparativamente con los cultivos que no disponen de este elemento. En conclusión se puede decir que este ingrediente en los medios de cultivo favorece al *Cercospora* muy poco, siendo su efecto nulificado por la presencia de dextrosa.

### Efecto de la dextrosa

Las colonias que crecen en ausencia de dextrosa muestran un desarrollo heterogéneo e irregular, es decir, no se aproximan a la forma circular sino que sus diámetros en diferentes sentidos son muy diversos, acentuándose esta característica cuando el almidón es bajo. Aún en presencia de suficiente almidón, una cantidad mayor de dextrosa repercute en un aumento considerable del diámetro de la colonia en relación directa, indistintamente de la cantidad de peptona que el medio tenga (5 ó 10 gramos), pero la densidad del micelio en el estrato es indiferente a la concentración de dextrosa del medio.

### Efecto de la peptona

Los cultivos crecidos en ausencia de peptona, indistintamente de la concentración de almidón y dextrosa del medio,

no muestran el estroma en la superficie del agar, sino que el hongo crece interiormente en forma rala en cuyas colonias no es fácil observar los filamentos en sus bordes, pues éstos son siempre hialinos y en algunos medios se aprecian sólo por transparencia. Las colonias crecidas con 5 gramos de peptona muestran el micelio suficientemente denso y con colores claros; con 10 gramos de peptona en los medios los cultivos tienen el estroma más denso y la colonia forma surcos en la superficie y aparecen corrugadas mayormente que con 5 gramos. Al aumentar la peptona de 5 a 10 gramos en presencia de almidón en sus tres niveles, manteniendo la dextrosa en 0 gramos se observa que el diámetro de la colonia con 10 gramos es menor que con 5 gramos. Con dextrosa al nivel de 5 gramos sucede lo mismo y otro tanto se observa con dextrosa al nivel de 10 gramos, pero el micelio es mucho más denso. Cuando el almidón se mantiene fijo haciendo las comparaciones en los niveles de peptona en presencia de dextrosa en sus tres niveles, se observa que hay una disminución del diámetro de la colonia al aumentar la peptona de 5 a 10 gramos. Conclusivamente podemos decir que la peptona aumenta la densidad del micelio en relación directa, e indiferentemente de la concentración de almidón y dextrosa, pero que con 10 gramos de este nutriente el diámetro de la colonia es menor que con 5 gramos. Conforme la edad

de los cultivos fué mayor, las diferencias antes apuntadas entre los cultivos con 5 y 10 gramos de peptona fueron más aparentes.

Observaciones microscópicas del hongo creciendo en los medios de almidón, dextrosa y peptona, en relación a la formación de estructuras reproductivas y pigmento del micelio

De acuerdo con la concentración de los nutrientes almidón, dextrosa y peptona, el micelio del hongo experimenta ciertos cambios en la pigmentación y formación de clamidosporas. No se obtuvieron esporas en ninguno de los cultivos. Gran cantidad de clamidosporas y micelio de color pardo oscuro se observó en los medios ricos en peptona, lo cual fué aumentado con la presencia de dextrosa. En los medios sin peptona no hubo formación de clamidosporas y el micelio fué poco pigmentado, acentuándose esta condición cuando también hay ausencia de dextrosa. En los cultivos con sólo almidón se obtiene poco pigmento en el micelio, un poco más con dextrosa y mucho más con peptona.

Estudio del hongo en medios de cultivo preparados de hojas de café de plantas a la sombra y hojas de café de plantas al sol

En el estudio anterior se pudo apreciar que el hongo es muy sensible a las diferentes concentraciones de nutrientes y se pensó que talvez sería posible obtener diferencias de crecimiento en medios de cultivo preparados en base en agar usando extractos de hojas crecidas al sol y de hojas crecidas a la sombra. Se prepararon los medios en la forma

como se apuntó anteriormente (ver métodos), observándose que los cultivos no muestran diferencias apreciables. Se tomaron medidas de las colonias después de 10 y 15 días de hechas las siembras como se observa en el cuadro No. 6.

CUADRO No. 6

Medida promedio de las colonias de Cercospora coffeicola crecidas en medios preparados de extractos obtenidos de hojas de café de plantas expuestas al sol y de plantas en la sombra

Hojas de plantas	Días	
	10	15
en el sol	29.10	41.13
en la sombra	29.96	41.41

Las cifras representan el diámetro promedio de las colonias en milímetros.

Después de 15 días no fué posible hacer más medidas debido a que el hongo crece interiormente en el medio que es muy opaco sin poderse determinar la extensión de la colonia.

Características de las colonias

Como se expuso anteriormente, el micelio crece en el interior del medio en ambos cultivos, emergiendo a la superficie pequeñas partículas de filamentos que dan una apariencia polvorienta blancuzca en el estrato sin tomar una forma definida. Al cabo de 20 días se aprecia que los cultivos por igual están formando sobre el micelio blanco algodonoso una estructura de color gris oscuro que emergen sobre el medio y vistos en el microscopio resultan ser conidiófo -

ros más o menos normales, pero no se observaron conidias; estos conidióforos no aparecen en forma definida sobre el estrato, sino que se presentan irregularmente en el medio alternando con zonas blancuzcas. Después de 45 días es aparente que los cultivos preparados de hojas de plantas en el sol, han formado una coloración más extensa que los otros cultivos debido a una formación mayor de conidióforos, en oposición a los medios preparados de hojas de plantas en la sombra que tienen una mayor proporción de color blanco por la ausencia de éstos.

#### ESTUDIOS ACERCA DE LA INFECCION DEL HONGO

##### Infecciones experimentales con esporas sobre hojas colocadas en cámara húmeda

Con el fin de investigar la forma en que el hongo causa infección en las hojas se colectaron hojas sazonas y se colocaron en cámara húmeda; sobre estas hojas se realizaron inoculaciones de esporas suspendidas en agua haciendo la aplicación con un gotero en la superficie inferior de la hoja; también se hizo otro ensayo aplicando las esporas por medio de un atomizador. Las hojas permanecieron en las cámaras por espacio de 20 días antes de que comenzaran a descomponerse, sin que se pudiera observar mancha alguna de *Cercospora*.

En un ensayo posterior se colocaron hojas de café en cámaras húmedas haciendo la inoculación en dos formas: inoculación de esporas directamente e inoculación de esporas suspendidas en agua sobre hojas en que se ha practicado

herida (ver métodos) y también en hojas sin herida. Al cabo de 11 días de haber hecho las inoculaciones (100 en cada tratamiento) se obtuvo el siguiente resultado:

Inoculación directa	( con herida	81 manchas
	( sin herida	9 manchas
Inoculación por suspensión	( con herida	52 manchas
	( sin herida	0 manchas

Después de 11 días las hojas comenzaron a descomponerse no siendo posible hacer nuevos recuentos.

Otro ensayo se realizó sobre hojas colocadas en cámara húmeda usando hojas de plantas del almacigal crecidas en el sol y hojas crecidas bajo sombra, haciendo las inoculaciones (100 en cada tratamiento) con esporas suspendidas y esporas aplicadas directamente. Sobre la misma hoja se efectuaron los dos tratamientos de herida y no herida a cada lado de la nervadura central. A los 18 días de haberse hecho las inoculaciones se obtuvo el siguiente resultado:

Hojas de plantas al sol	(Inoculación directa)	(con herida	26 manchas	
	(	(sin herida	0 manchas	
	(Inoculación por suspensión	(con herida	37 manchas	
	(	(sin herida	1 mancha	
Hojas de plantas en la sombra	(Inoculación directa	(con herida	37 manchas	
	(	(sin herida	1 mancha	
	(	(	(	(
	(Inoculación por suspensión	(con herida	37 manchas	
(	(sin herida	0 manchas		

Este ensayo terminó a los 18 días cuando las hojas comenzaron a descomponerse comprobándose microscópicamente la presencia de Cercospora en las manchas aparecidas. Se puede observar como las inoculaciones con herida desarrollaron un alto porcentaje de manchas en oposición de las inoculaciones sin herida. Las manchas desarrolladas en las hojas procedentes de plantas crecidas en la sombra tuvieron un diámetro mayor, al mismo tiempo que fueron más numerosas.

Inoculaciones de esporas suspendidas sobre cerezas sazonas colocadas en cámara húmeda no produjeron la enfermedad aún cuando se hicieron heridas; estas permanecieron por 20 días en las cámaras húmedas al cabo de los cuales comenzaron a descomponerse muy atacadas por hongos del laboratorio (*Fusarium*).

#### Inoculaciones experimentales con esporas sobre hojas en las plantas

Sobre hojas de café en plantas colocadas en maceteros se hicieron inoculaciones con esporas suspendidas en agua colocándolas por medio de un gotero en la superficie inferior de las hojas sazonas. En este caso haciendo dos inoculaciones en cada hoja y dos hojas en cada planta. Un lote de estas plantas estaban creciendo sin sombra y otro lote bajo sombra en el laboratorio. Luego de haber hecho las inoculaciones las plantas fueron colocadas en sus respectivos lugares y humedecidas frecuente-

mente por medio de un atomizador por espacio de 8 días. Las plantas permanecieron en observación por espacio de dos meses sin registrarse infección alguna.

Otro ensayo se llevó a cabo en plantas del almacigal usando dos lotes. Uno bajo sombra muy densa formada por enramada de hojas de Musas y otro en plantas sin sombra. Las plantas en que se hicieron las inoculaciones tenían una edad de 8 meses más o menos. Las esporas fueron colocadas por el método directo que parece ser más efectivo, usando herida y sin herida. Las inoculaciones (100 en cada tratamiento) se hicieron en la superficie inferior de la hoja destinando el lado derecho de la hoja para inoculaciones con herida y al lado izquierdo de la nervadura para inoculaciones sin herida. Al cabo de 20 días se obtuvo el siguiente resultado:

Hojas en el sol	(con herida	94 manchas
	(sin herida	0 manchas
Hojas en la sombra	(con herida	35 manchas
	(sin herida	0 manchas

Las hojas tratadas se colectaron al cabo de 20 días debido a que algunas de ellas muy afectadas y que estaban creciendo bajo la acción del sol comenzaron a caer. Se trajeron al laboratorio y con la ayuda de un microscopio se comprobó la presencia de Cercospora en las manchas. Las hojas que crecieron en la sombra mostraron un número menor de manchas, pero en general el

diámetro de ellas fué mayor.

En heridas testigos que se realizaron se pudo observar que ésta no alcanzaba a matar el tejido de la hoja y que en las heridas inoculadas al cabo de 3 días aparecía un crecimiento grisáceo debido a la germinación de las esporas y formación del micelio en la superficie de la parte inoculada.

Sobre plantas también del almacigal en condiciones semejantes a las anteriores tratadas, es decir, con sombra muy densa y sin sombra se efectuó otro ensayo haciendo las inoculaciones por el método directo y tratando de reducir lo más posible las heridas.

Luego de hechas las inoculaciones se colocaron las hojas dentro de frascos Erlenmeyers con el fin de proporcionar a las esporas un ambiente húmedo rociando las hojas con un atomizador por espacio de tres días. En este ensayo se hicieron 30 inoculaciones por tratamiento. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Hojas sin sombra	(con herida	23 manchas
	(sin herida	6 manchas
Hojas con sombra	(con herida	24 manchas
	(sin herida	1 mancha

Las hojas se colectaron al cabo de un mes y se trajeron al laboratorio para comprobar la presencia de Cercospora en las manchas. Las hojas de las plantas en la sombra

hubo necesidad de tenerlas 8 días en cámara húmeda antes de que las manchas formaran esporas. El diámetro de las manchas en estas hojas en la sombra fué mayor que las manchas de las hojas en el sol. Las manchas que resultaron en hojas en que se hizo inoculación sin herida resultaron en hojitas relativamente jóvenes y que fueron escogidas así para mayor facilidad al introducirlas en los frascos por ser más suaves o menos consistentes.

Del resultado de estos primeros ensayos se desprende que las hojas obtienen la infección a través de una herida, pues cuando ésta no se practicó no fué posible obtener la enfermedad excepto en unas hojitas muy jóvenes que pudieron haberse roto al hacer la inoculación directa.

Sobre plantas del almácigo de una edad semejante a las usadas anteriormente se hizo otro ensayo con hojas muy jóvenes y hojas muy viejas bajo las dos condiciones de sombra muy densa y sin sombra practicando en cada tratamiento 100 inoculaciones por la vía directa. Los resultados del ensayo fueron los siguientes:

Hojas sin sombra	(jóvenes -	completamente atacadas
	(viejas -	20 manchas
Hojas con sombra	(jóvenes -	0 manchas
	(viejas -	0 manchas

Catorce días después de efectuadas las inoculaciones se observó que en las hojas jóvenes sin sombra apareció una gran cantidad de puntitos pardos que fueron extendiéndose

hasta formar manchas típicas de Cercospora. A los 20 días estas hojitas comenzaron a caer y a los 32 días todas habían caído fuertemente atacadas por la enfermedad. Sobre las hojas viejas sin sombra se observaron unas pequeñas manchas que crecen muy lentamente, mientras que en las hojas con sombra no aparecen síntomas tanto en las jóvenes como viejas. A los 75 días se colectaron las hojas que todavía crecían sobre las plantas y colocaron en cámara húmeda por espacio de un mes; en las hojas viejas que tenían sombra muy densa no se presentó ninguna mancha; en las hojas viejas sin sombra hubo 20 manchas; las hojas jóvenes creciendo bajo sombra no desarrollaron un tamaño normal desconociéndose la causa y fueron colocadas en medio de agar de papa y dextrosa con el fin de investigar si el hongo se presenta en forma imperceptible dentro del tejido de las hojas y aunque hubo crecimiento de hongos no se logró aislar el Cercospora.

En este ensayo anterior en que las aplicaciones de esporas se hicieron por vía directa, apareció una gran cantidad de manchas en las hojitas jóvenes que crecían sin sombra, existiendo la posibilidad de que la infección ocurriera por rotura de las hojitas al hacer la aplicación de las esporas.

Se preparó entonces un nuevo ensayo haciendo la inoculación con esporas suspendidas aplicadas por medio de

un atomizador bajo tres condiciones de sombra: sombra muy densa formada por cobertura de hojas de Musas colocadas inmediatamente sobre las plantas; sombra 50% formada por enramada de caña a una altura de tres metros, y sin sombra.

A los 14 días después de haberse efectuado la inoculación se notó en las hojas jóvenes de las plantas sin sombra una fuerte infección en forma de pequeños puntos, que luego mostraron los síntomas característicos de Cercospora. A los 17 días de la inoculación aparecieron los síntomas en las hojas jóvenes de las plantas creciendo bajo sombra de 50%.

A los 24 días después de la inoculación las hojas jóvenes afectadas de las plantas sin sombra habían caído, no así las hojas inoculadas en las plantas con 50% de sombra que llegaron a su madurez a los 35 días después de las inoculaciones, no obstante estar muy afectadas. Las hojas anteriores a aquellas muy jóvenes en el momento de la inoculación en las plantas con sombra de 50% y sin sombra, no contrajeron la enfermedad y no hubo formación de manchas. En las plantas con sombra muy densa no hubo síntomas de enfermedad.

Con base en los resultados obtenidos anteriormente y que ponen de manifiesto que hojas maduras no contraen la enfermedad, se planeó un ensayo de inoculación por medio de esporas suspendidas sobre hojas de edad conocida. En

dos lotes de plantas, uno sin sombra y otro con sombra densa (100%) se quitaron las hojas totalmente y se esperó que las nuevas hojitas comenzaran a brotar para hacer sobre ellas inoculaciones cada 8 días. Se trataron en cada vez 10 plantas sin sombra y 3 plantas con sombra densa. Los resultados fueron los siguientes:

Inoculación sobre hojas de 8 días: a los 20 días después se observaron los primeros síntomas de la enfermedad.

Inoculación sobre hojas de 15 días: no se obtuvo infección.

Inoculación sobre hojas de 22 días: no se obtuvo infección en estas hojas, pero se notó que en hojas más jóvenes que aquellas que aparecían en brote en el momento de la inoculación, se presentaron los síntomas 22 días después. Las inoculaciones se continuaron cada 8 días hasta tratar hojas de 45 días, sin obtenerse infección en hojas desarrolladas; se obtuvo siempre infección en hojas que al momento de la inoculación eran muy jóvenes, apareciendo los síntomas en un período de 20 días más o menos.

En las plantas con sombra densa (100%) no aparecieron manchas en ningún caso, durante tres meses que permanecieron las plantas en esa condición.

Haciendo observaciones en el campo, pudo apreciarse como en unos lotes de plantitas que estaban creciendo bajo una sombra muy densa no mostraban síntomas de enfermedad y que otros lotes muy próximo expuestos a los rayos solares

mostraban un fuerte ataque. Sin conocer la causa de tal fenómeno se colocó en dos macetas plantas que aparecían sanas (15 plantas en cada maceta) y se llevaron al laboratorio en lugar oscuro. Después de 8 días no se observaba diferencia alguna, entonces se tomó una maceta y se colocó bajo la acción de los rayos solares apareciendo al cabo de 8 días gran cantidad de manchas de gran tamaño, mientras que las plantas que permanecieron en la sombra no mostraban síntomas de enfermedad. Se procedió a hacer el mismo tratamiento a las plantas que habían quedado en el laboratorio resultando una gran cantidad de manchas después de 5 días.

Con base en este primer trabajo exploratorio en que parecía objetivo que las plantas de café bajo sombra muy densa contraen la enfermedad sin manifestar los síntomas mientras no se expongan las hojas a los rayos solares, se procedió a quitar la sombra en aquellas plantas que habían sido inoculadas sin mostrar síntomas de enfermedad durante tres meses con el resultado de que a los 6 días aparecieron gran cantidad de manchas de un tamaño mucho mayor que aquellas desarrolladas en plantas sin sombra, comenzando inmediatamente la producción de esporas (Figs. 12 y 13). Las hojas afectadas después de la formación de las manchas comenzaron a caer. Se comprobó así que en plantas con suficiente sombra el hongo causa también infección, pero que requiere



Fig. 12



Fig. 13

Fig. 12-13 Hojas de café con manchas de *Cercospora coffeicola*. Estas hojas crecieron bajo sombra muy densa y no mostraron los síntomas de la enfermedad por un período de tres meses, apareciendo las manchas al quinto día de suprimida la sombra. (Foto de D. Fiester).-

los rayos solares para la manifestación de la enfermedad.

Infecciones experimentales con micelio sobre hojas colocadas en cámara húmeda

En hojas de café sazonas colectadas de plantas creciendo con sombra y sin sombra y puestas en cámara húmeda se hicieron inoculaciones de micelio de Cercospora. El material se obtuvo de cultivo de agar de papa y dextrosa incrustando pequeñas partículas por medio de una aguja en la superficie inferior de la hoja. Pocas manchas se desarrollaron y al cabo de 37 días se hizo el siguiente recuento:

	Inoculaciones	Manchas
Hojas sin sombra	100	6
Hojas con sombra	100	10

Se constató con la ayuda del microscopio la presencia de Cercospora en las manchas apuntadas y se pudo observar que en otras inoculaciones aún cuando el micelio no había muerto, éste no creció hasta llegar a formar mancha.

Infecciones experimentales con micelio sobre cerezas colocadas en cámara húmeda

En inoculaciones efectuadas sobre cerezas de café sazonas colocadas en cámara húmeda y realizadas en la misma forma como en las hojas, no se logró obtener la enfermedad y al cabo de 20 días las cerezas comenzaron a descomponerse siendo muy atacadas por hongos del laboratorio, en especial Fusarium. Se pudo observar que el micelio se mantenía vivo sobre el punto de la inoculación pero sin extenderse al tejido sano.

### Inoculación de micelio sobre hojas en las plantas

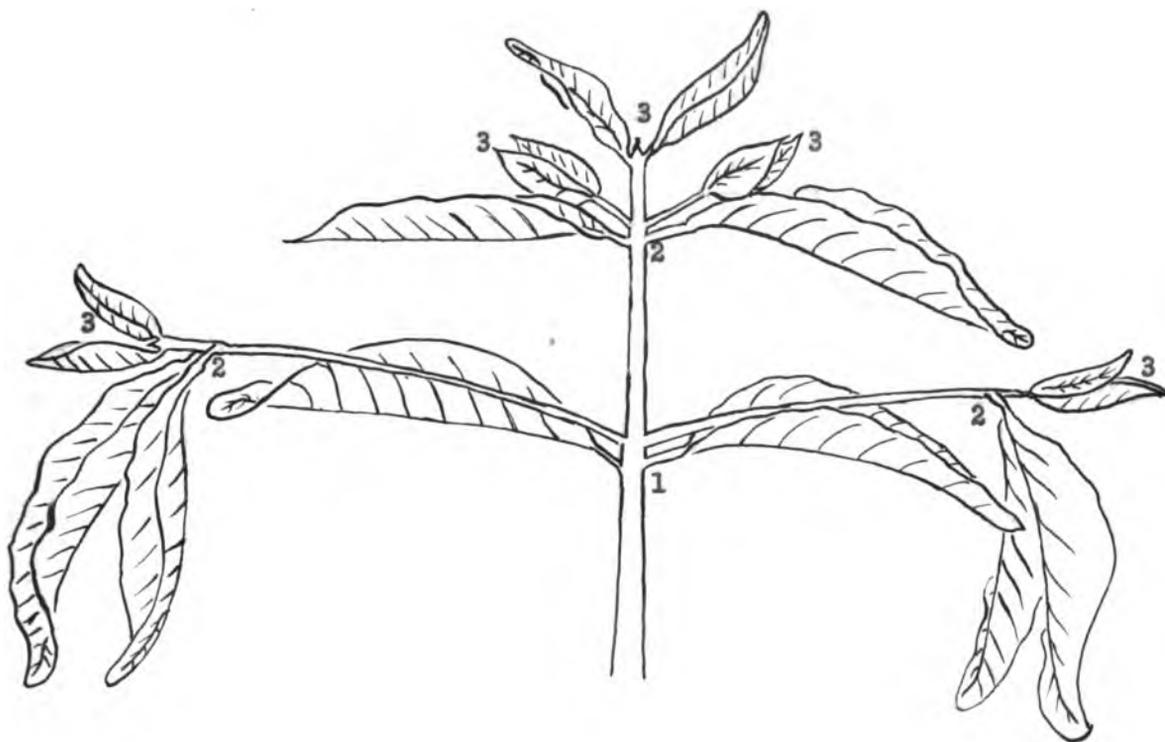
Sobre hojas sazonas de plantitas de café se colocó partículas de micelio sobre la superficie inferior, manteniendo las plantitas húmedas por espacio de 8 días. Las plantas se tuvieron en observación por más de un mes sin que apareciera la enfermedad.

### ESTUDIO ACERCA DE LA INFECCIÓN DEL HONGO

#### EN FORMA NATURAL

Las plantitas de café jóvenes tienen un crecimiento vertical, con hojas opuestas en nudos distanciados regularmente. Cuando las plantitas tienen de cuatro a seis meses comienzan a formar las ramitas o bandolas que nacen opuestas en los nuevos nudos sobre las axilas de las hojas en el eje vertical. Las ramitas al ir creciendo dan origen a hojas opuestas que nacen simultáneamente sobre las bandolas en la misma época (Figura 14). Matemáticamente las plantas tienen un par de hojas menos en las bandolas conforme éstas son más próximas al ápice de la planta, es decir, que si en las bandolas inferiores hay 6 pares de hojas, en las siguientes habrá 5 pares, luego 4, etc.

En plantas sin sombra las hojas alcanzan su tamaño normal en un período de 20 días más o menos, llegando a su madurez poco después. En estas plantas se forma un par de hojas sobre las bandolas cada 20 días (tres pares en 60 días); en las plantas con 50% de sombra el desarro-



**Fig. 14** Orden en que nacen las hojas en la planta de café.-  
Las hojas marcadas con número igual han nacido al mismo tiempo; se puede apreciar como las hojas formadas sobre el eje central crecen más rápidamente que las de las ramitas.  
(Dibujo copiado del natural).

lle de las hojitas toma más tiempo, aproximadamente un mes y asimismo la madurez se alcanza más tarde; formándose nuevas hojas cada 30 días, (dos pares en 60 días); las plantas con 100% de sombra no formaron más que un par de hojas en 60 días.

Haciendo observaciones en un almacigal sumamente infestado que el Ing. Bonilla tiene plantado cerca del edificio, pude apreciar como en algunas hojas se presentan muchas manchas de Cercospora y otras muy próximas aún sobre la misma bandola y de una edad mayor aparecen sanas. Hojas de bandolas opuestas formadas al mismo tiempo mostraban también este fenómeno.

Continuando las observaciones pude constatar que las manchas en las hojas opuestas aparecen en forma muy similar en desarrollo y colocación. Esto me hizo pensar, a la par del hecho que ciertos pares de hojas aún con las mismas probabilidades de contraer la enfermedad no la obtenían y que las investigaciones realizadas hasta ese momento me indicaban que hay necesidad de que exista una herida para que la enfermedad se produzca - como realmente sucede en hojas saxonas - que el factor causante de la infección es puramente local y que tal vez esté supeditado con el ataque de algún insecto cuando las hojas son muy jóvenes, estando aún en brote y superpuestas una a la otra y que pudiera afectar ambas hojas y quizás transmitir la enfermedad. El

Dr. Wellman y yo pudimos constatar como este fenómeno ocurre en gran cantidad de casos también en los cafetales sobre plantas bien desarrolladas.

En investigaciones precedentes en que se hicieron atomizaciones de esporas sobre hojas jóvenes, pude observar, que la infección ocurre sin necesidad de existir herida. Probablemente el hecho de que en muchos casos las manchas coincidan en colocación se deba a infecciones que ocurren cuando las hojas están aún en brote, por medio de esporas suspendidas en agua y llevadas por capilaridad dentro del cartucho que forman las hojitas cuando están en ese estado y que proveen condiciones muy favorables para la germinación de esporas que caen en ese lugar y que al desarrollarse producen infección en el par de hojitas.

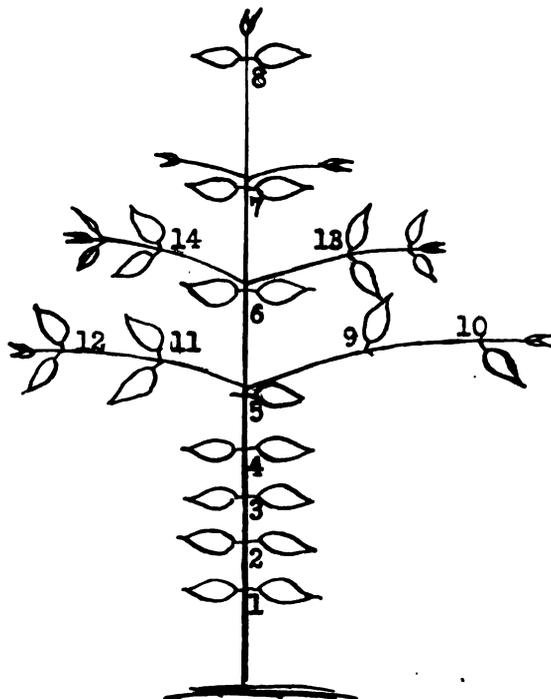
Hay que hacer notar que las esporas al germinar producen tubos germinales que se dirigen en direcciones diversas, pudiendo fácilmente una espora afectar ambas hojitas cuando están aún en brote.

Cuando un set de hojas acierta a formarse en condiciones de alta infección y muy favorables para el desarrollo de las esporas es muy probable que las hojas formadas en ese tiempo obtengan la enfermedad. En caso contrario, un set puede desarrollarse en condiciones de poca formación de esporas o bien desfavorables para su germinación, resultando las hojas relativamente sanas. El hecho de que ciertas hojas lleguen a su madurez sin contraer la enferme-

dad, pone de manifiesto que el período crítico en que las hojas se enferman es relativamente corto y que una vez pasado éste, las hojas alcanzan su desarrollo sin riesgo alguno. Una prueba más de que el hongo no causa enfermedad sobre hojas sazonas la tenemos observando plantas en el almacigal que muestran hojas enteramente sanas no obstante estar expuestas a una gran contaminación y en condiciones que el hongo ha causado manchas en hojas formadas posteriormente (Figuras 15 y 16).

#### Período de incubación de la enfermedad

En las infecciones experimentales que se realizaron sobre plantas de un año de edad más o menos, se encontró que el período de incubación de la enfermedad es de 14 días en las plantas creciendo sin sombra. En las plantas que crecen bajo sombra de 50% el período de incubación fué ligeramente más largo, 17 días en vez de 14 días. Así podemos observar que entre el período de crecimiento de las hojas y el período de incubación de la enfermedad hay una relación directa. Cuando las hojas están llegando a su tamaño normal aparecen los primeros síntomas de la enfermedad como puntitos de color pardo que se extienden rápidamente hasta llegar a tener un diámetro cerca de .5 cm. en 10 días. Poco después de aparecidos los primeros síntomas comienzan a diferenciarse las zonas o anillos concéntricos que estas tienen. La formación de



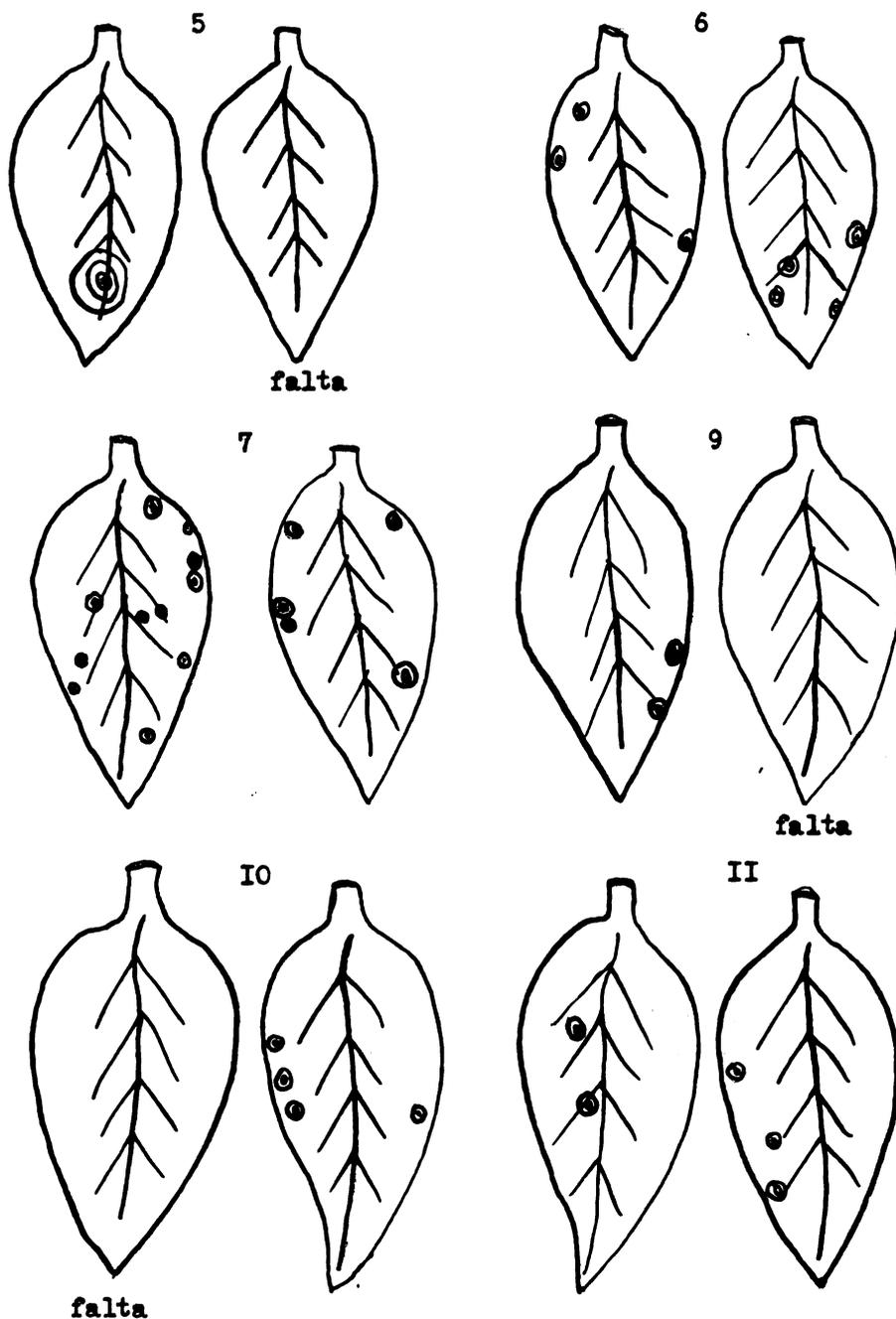
**Fig. 15** Forma como se presentan las manchas de *Cercospora coffeicola* en las hojas de una planta de café de un año de edad, creciendo en el almácigo con un 50% de sombra más o menos.

Las hojas correspondientes a los pares 1 - 2 - 3 y 4 nacieron y se desarrollaron antes de que se presentara la enfermedad en la plantación y aparecen sanas. Las hojas del par 8, son aún muy jóvenes para que hayan aparecido las manchas.

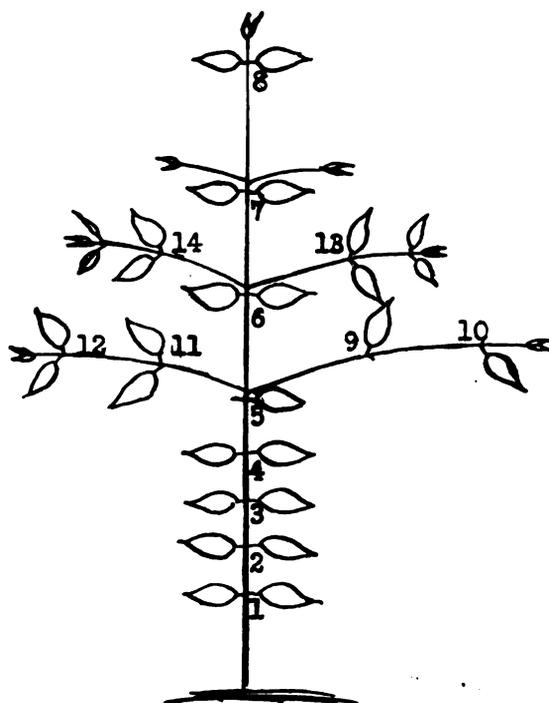
Las hojas que faltan en la planta se han desprendido a causa de un fuerte ataque del hongo; cada par de hojas muestra el número y la posición de las manchas en una forma muy similar.

El set de hojas correspondiente a los pares 6 - 9 - 11, está poco afectado; el set siguiente que corresponde a los pares 7 - 10 - 12 - 13 y 14 está muy afectado.

( Ver páginas 74 y 75 ).



**Fig. 15** Forma como se presentan las manchas de *Cercospora coffeicola* en las hojas de una planta de café de un año de edad, creciendo en el almocigal con un 50% de sombra más o menos.

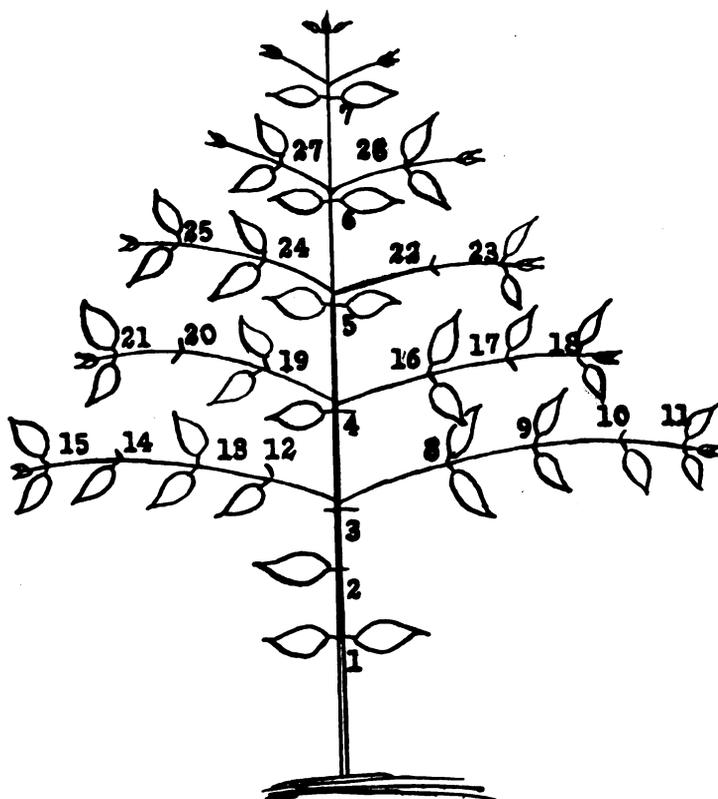


**Fig. 15** Forma como se presentan las manchas de *Cercospora coffeicola* en las hojas de una planta de café de un año de edad, creciendo en el almacigal con un 50% de sombra más o menos.

Las hojas correspondientes a los pares 1 - 2 - 3 y 4 nacieron y se desarrollaron antes de que se presentara la enfermedad en la plantación y aparecen sanas. Las hojas del par 8, son aún muy jóvenes para que hayan aparecido las manchas.

Las hojas que faltan en la planta se han desprendido a causa de un fuerte ataque del hongo; cada par de hojas muestra el número y la posición de las manchas en una forma muy similar.

El set de hojas correspondiente a los pares 6 - 9 - 11, está poco afectado; el set siguiente que corresponde a los pares 7 - 10 - 12 - 13 y 14 está muy afectado.  
( Ver páginas 74 y 75 ).

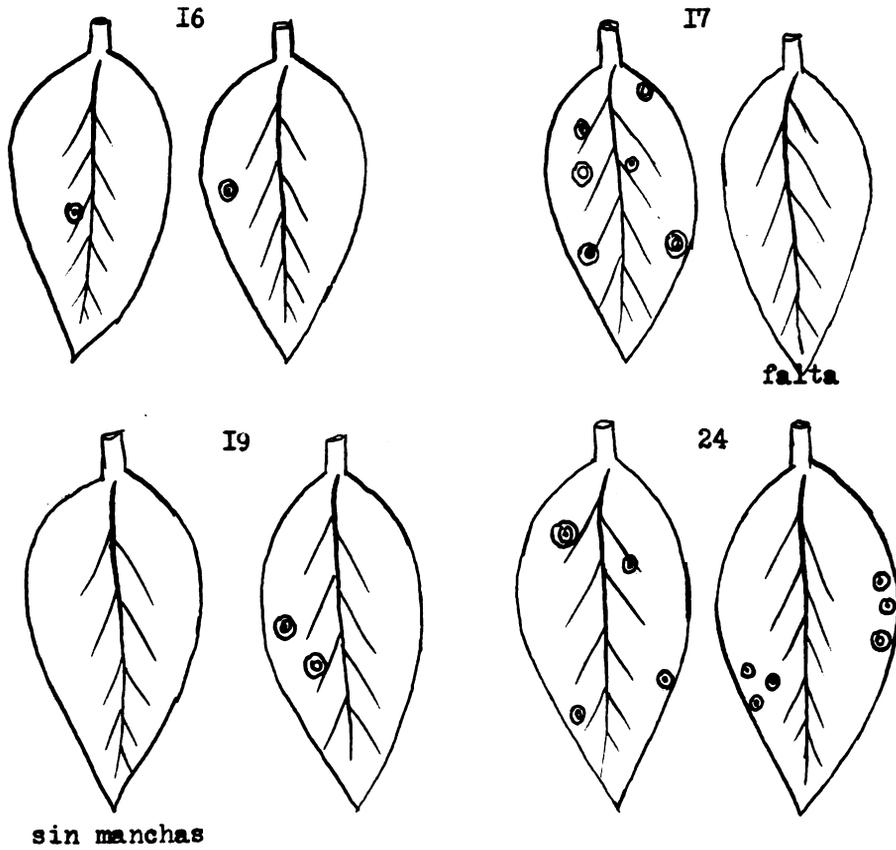


**Fig. 16** Forma como se presentan las manchas de *Cercospora coffeicola* en las hojas de una planta de café de un año de edad, creciendo en el almácigo con un 50% de sombra más o menos.

Las hojas correspondientes a los pares 7 - 11 - 15 - 18 - 21 - 23 - 25 - 26 y 27 son aún muy jóvenes para mostrar manchas. El set de hojas correspondiente a los pares 4 - 8 y 12 está bastante atacado; el siguiente par correspondiente a los pares 5 - 9 - 13 - 16 y 19 está muy sano con excepción del par 9; las hojas del set siguiente, o sean los pares 6 - 10 - 14 - 17 - 20 - 22 y 24 aparecen muy manchadas y algunas se han desprendido.

Se puede apreciar que las manchas en cada par de hojas se presentan en cantidad y posición muy similar.

( Ver páginas 77, 78 y 79 ).



**Fig. 16** Forma como se presentan las manchas de *Cercospora coffeicola* en las hojas de una planta de café de un año de edad, creciendo en el almucigal con un 50% de sombra más o menos.

conidias se presenta entre 5 a 8 días después de la aparición de los síntomas. No se conocen las razones por la cual hay manchas que no se desarrollan, sino que quedan como pequeños puntos y es hasta que las hojas envejecen que aumentan de diámetro y comienza la producción de conidias. Las manchas de las hojas que crecen en el sol se desarrollan más rápidamente, pero sobre hojas con sombra de 50% las manchas alcanzan mayor diámetro; esto probablemente se debe a que el período que toman estas hojas para madurar es más largo que en plantas al sol y el hongo tiene más oportunidad de crecer. Cuando las hojas han alcanzado su madurez, cesan en su desarrollo las manchas. En las plantas al sol las hojas afectadas caen rápidamente, más ligero cuando mayor sea la infección, razón por la cual algunos autores (1, 3, 7, 17, 19) dicen que muy pocas manchas se presentan en cada hoja, en contraposición del Omphalia flayida que puede presentar muchas manchas por hoja, siendo en realidad muy diferente su causa. En plantas al sol, hojas que poseen más de dos manchas no pueden permanecer por mucho tiempo y aún si hay una sola mancha sobre la nervadura central o muy cerca del pecíolo la hoja cae rápidamente. En las plantas bajo sombra las hojas afectadas resisten por más tiempo y en hojas muy viejas se pueden apreciar manchas hasta de 1 1/2 cm. de diámetro, las cuales producen gran cantidad de esporas y son una fuente muy seria de infección.

### Infección de Cercospora en los frutos

Las manchas de Cercospora aparecen en los frutos de café cuando estos están comenzando a madurar; no se ha hecho estudios tendientes a averiguar cuando y en qué forma es que ocurre la infección, pero a deducir de la forma como ésta se ocasiona en las hojas, es muy probable que en los frutos la enfermedad tenga un período de incubación bastante similar. La mayoría de los autores dicen que en plantas expuestas a mucho sol hay una cantidad mayor de cerezas enfermas que en plantas bajo sombra y aunque este fenómeno no se ha estudiado detenidamente, por vía exploratoria se tomaron algunas muestras de cerezas en plantas muy expuestas al sol, así como en plantas adyacentes que tenían sombra, encontrándose:

Procedencia del material	Porcentaje de cerezas afectadas				Promedio
Plantas al sol	18	28	41	19	26.5
Plantas a la sombra	6	1	1	8	4.0

Los números que se dan representan porcentajes en muestras de 100 cerezas.

El café se recolectó de varias plantas y se hizo una muestra general para la sombra y otra para el sol, colocándose las cerezas en número de 100 por cámara húmeda y después de un día se hizo el recuento con la ayuda del microscopio, contándose como cereza afectada toda aquella que pre-

sentara manchas típicas y además se comprobara que eran de *Cercospora* por la presencia de esporas. Por falta de tiempo en la estación de la recolecta no se tomaron más datos en diferentes épocas como era el deseo a fin de obtener un conocimiento más exacto de la incidencia de la enfermedad en los frutos.

Los datos en sí no son conclusivos por las razones ya expuestas, pero concuerdan con la opinión de otros investigadores.(3,7).

#### DISCUSION

De las experiencias y observaciones realizadas se desprende que el hongo encuentra condiciones más favorables para su propagación en aquellos almacigales que disponen de abundante sombra (50% o más), donde las esporas disponen de una mayor humedad ambiente. El rocío formado durante la noche o bien agua acumulada sobre las hojas durante las lluvias tarda más tiempo en evaporarse, permitiendo a las esporas mayores posibilidades de germinación; a la vez que la sombra las protege de los efectos del sol en días claros para continuar su crecimiento cuando nuevamente dispongan de humedad. En los ensayos de germinación de esporas se encontró que la temperatura óptima para éstas es de 30°C. Esta temperatura es difícil de obtener en condiciones naturales y a la vez una humedad que permita a las esporas germinar, a no ser en aquellos casos cuando se presen-

tan lluvias durante el día, alternadas con períodos de sol.

La infección del hongo ocurre sobre hojas jóvenes en período de crecimiento, el cual decididamente toma más tiempo cuando las plantas disponen de sombra permitiendo estas plantas mayores posibilidades de contraer la enfermedad. Si las plantas están expuestas a completo sol, el tiempo que tardan las hojas en sasonar es corto, no contrayendo la enfermedad una vez llegadas a este estado.

Cuando las plantas crecen expuestas a todo el sol, el hongo afecta muy seriamente a las hojas atacadas haciéndolas caer rápidamente, en muchos casos aún sin llegar a su desarrollo. Debido a este fenómeno la enfermedad se controla en parte en forma natural, pues las hojas desprendidas se secan, limitándose la producción de esporas que afectarían las nuevas hojas. Si las plantas disponen de sombra, aún cuando las manchas son abundantes, las hojas se mantienen en la planta llegando el hongo a causar manchas de gran tamaño que a diario producen cantidades enormes de esporas, siendo focos de infección muy peligrosos.

Se encontró que en condiciones de sombra muy densa el hongo parasita las hojas de café sin producir manchas, pero que al exponer las plantas a los rayos solares los síntomas característicos de la enfermedad aparecen en muy poco tiempo en forma de muchas manchas y de gran tamaño produciéndose la caída de las hojas. Este hecho desvirtúa la creencia

general de que la enfermedad tiene mayor ocurrencia en plantas expuestas a mucho sol, cuando en realidad lo que sucede es que en condiciones de sombra densa el hongo pasa imperceptible poniéndose de manifiesto en presencia de abundante sol. No me atrevo a decir cual sea la causa de que estas plantas con sombra muy densa no muestren los síntomas de la enfermedad, existiendo entre las posibilidades dos de mayor importancia, a saber:

1) Efecto de los rayos solares directamente sobre el hongo provocando una temperatura favorable para su desarrollo y activándose la producción de toxinas que matan las células afectadas. 2) Efecto de los rayos solares sobre las hojas activándose la fotosíntesis y sumentándose la cantidad de nutrientes en la hoja de las cuales el hongo se aprovecha teniendo un mejor crecimiento. Este punto queda por investigar.

No se realizaron estudios tendientes a investigar la forma de infección del Cercospora en los frutos, pero como otros investigadores (3 y 7) se encontró decididamente una cantidad mayor de cerezas enfermas en plantas desprovistas de sombra.

De acuerdo con las investigaciones realizadas se espera poder controlar la enfermedad manejando cuidadosamente la sombra en los almacigales, así como también en cafetales, habiendo necesidad para esto de efectuar un estudio acerca de la incidencia de la enfermedad en relación con las condiciones meteorológicas.

### RECOMENDACIONES

En la región de Turrialba el Cercospora coffeicola causa un fuerte daño en los almácigos de café al reducir enormemente el follaje de las plantitas lo cual trae como consecuencia un debilitamiento y retraso en el desarrollo. Las plantitas en el semillero necesitan sombra que poco a poco se va levantando a fin de acostumbrarlas a una intensidad mayor de luz; al hacer el trasplante del semillero al almácigo el cambio no debe ser brusco y las plantitas requerirán cierta cantidad de sombra. Sucede por lo general que bajo estas condiciones el Cercospora coffeicola encuentra un medio muy propicio para su desarrollo y propagación extendiéndose la enfermedad en muy poco tiempo por todo el campo ocasionando un fuerte daño.

Una manera efectiva de controlar el hongo estriba en suprimir la sombra como se expuso en el transcurso de este estudio, pero este trabajo debe hacerse en una forma lenta a fin de acostumbrar las plantas y evitar la rápida caída de las hojas afectadas como consecuencia de una brusca exposición al sol, sin que la planta tuviera tiempo de formar nuevas. Las plantas de café en los almácigos creciendo bajo sombra forman hojas de mayor dimensión que en plantas sin sombra, pero la cantidad de hojas es mucho menor no sólo en las ramitas, sino que la cantidad de éstas es también menor. Así pues, del punto de vista de la vigorosidad

de las plantas como también tomando en cuenta la reducción de la mancha de la hoja causada por el Cercospora coffeicola, conviene la supresión de la sombra lentamente una vez que las plantitas estén bien establecidas en el terreno.

#### SUMARIO

1. La "Chasparria" o "mancha de hierro" es una enfermedad mundialmente conocida como causando un fuerte daño tanto en el follaje como en el fruto del café.
2. El organismo causante de la enfermedad es el hongo Cercospora coffeicola, del cual no se conoce la forma sexual de reproducción.
3. El hongo se reproduce por conidias formadas en gran cantidad en ambas superficies de la hoja y sobre las cerezas, variando sus medidas de acuerdo al tiempo que permanecen sobre el conidióforo, lo cual es gobernado por las condiciones ambientales.
4. La temperatura óptima para la germinación de las conidias es de 30°C. Los rayos del sol hacen perder la vitalidad de las esporas.
5. Un pH de 5.0 favorece enormemente la germinación de las conidias y el desarrollo de los tubos germinales.
6. El mejor desarrollo del hongo en medios de cultivo con base en agar se obtuvo en agar de papa y dextrosa. Buen crecimiento se observó también en medios de hojas y cerezas de café esterilizadas.

7. La enfermedad se produce por infección de esporas en hojas muy jóvenes, para producirse la infección en hojas maduras es necesario una herida.
8. En las investigaciones realizadas se encontró que el período de incubación del hongo fué de 14 días en plantas sin sombra y 17 días en plantas con 50% de sombra más o menos.
9. Las manchas hacen la mayor parte de su crecimiento antes de que la hoja llegue a su madurez, aproximadamente en los primeros 30 días a partir del punto de infección.
10. Las manchas se presentan en cualquier parte de la hoja haciéndola desprenderse en especial si están sobre la nervadura central o cerca del pecíolo y la planta está muy expuesta a los rayos del sol.
11. En plantas con sombra completa, el hongo es imperceptible, apareciendo los síntomas característicos al exponer las hojas a los rayos del sol.
12. En los almácigos la enfermedad es más perjudicial a la planta cuando crece desprovista de sombra, pero su incidencia es mayor en plantas sombreadas.
13. En los frutos las manchas aparecen al tiempo que están llegando a su madurez encontrándose mayor incidencia de la enfermedad en plantas desprovistas de sombra.
14. En los almácigos de la región de Turrialba se puede

lograr el control de la enfermedad quitando lentamente la sombra con lo cual se consigue también mayor vigorosidad en las plantas.

#### LITERATURA CONSULTADA

1. Alvarado, J. A. Tratado de cañicultura práctica. Guatemala, C.A. Tipografía Nacional, 1935-1936. 2 t. t. 1, pp. 176-360.
2. Butler, E. J. Fungi and disease in plants. Calcutta, India. Thacker, Spink & Co., 1918. pp. 485-486.
3. Carranza Solís, J. Monografía del café. San José, C. R. Imprenta Nacional, 1933. pp. 405-433.
4. Clements, F. E. & Shear, C. L. The genera of fungi. New York, H.W. Wilson Co., 1931. pp. 318, 398. pl. 56.
5. Colombia, Federación Nacional de Cafeteros. Manual del cafetero colombiano. Bogotá. Litografía Colombia, 1932. pp. 218-220.
6. Cook, M. T. The diseases of tropical plants. London, Macmillan Co., 1913. pp. 163-166.
7. Fawcett, C. L. Fungal diseases of coffee in Puerto Rico. Puerto Rico Agr. Expt. Sta. (Mayaguez) Bul. 17. 1915. pp. 21-27.
8. Hansen, H. N. & Hawlins, T.E. Cercospora fruit and leaf spot of olive. Phytopathology 34:257-259. 1944.
9. Heald, F. L. Manual of plant diseases. 2nd. ed. New York, McGraw-Hill Book Co., 1933. pp 669, 673. fig. 112, 195.

10. Hocker, W. J. Comparative studies of two carrot leaf diseases. *Phytopathology* 34:606-612. 1944.
11. Leach, R. Banana leaf spot (*mycosphaerella musicola*) on the Gros Michel variety in Jamaica; investigations on the aetiology of the disease and the principles of control by spraying. Kingston, Jamaica. The Government Printer. 1946. 118 p.
12. Lock, C. G. W. Coffee: its culture and commerce in all countries. London, E. & F. N. Spon. 1888. p. 94.
13. McLean, Ruth A. Observations on *Cercospora* leaf spot of tobacco and the question of varietal resistance. *Phytopathology* 33:354-362. 1943.
14. Maerz, A. & Paul, M. R. A dictionary of color. New York. McGraw-Hill Book Co., 1930. pp.207.
15. Nowell, W. Diseases of crop-plants in the Lesser Antilles. London. The West India Committee. 1923. pp. 228-229.
16. Riker, A. J. & Riker, R. S. Introduction to research on plant diseases; a guide to the principles and practice for studying various plant disease problems. St. Louis, Mo., John S. Swift & Co., 1936. pp. 117.
17. Robá, R. P. La "mancha de hierro" y el "paloteo", enfermedades del cafeto. Nicaragua, Min. de Agr. y Trab. Secc. Téc. Bol. 10. 1940.
18. Saccardo, P. A. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Ann Arbor, Mich., Edwards Bros., 1944. 25 v. (Lithoprinted) v. 4 pp. 431-479, v. 10 pp. 564-566, v. 11 pp. 625-630, v. 14 pp. 1099-1106, v. 16 pp. 1066-1075, 1157.
19. Sáenz, Nicolás. Memoria sobre el cultivo del cafeto, o, guía para la fundación de un cafetal en Colombia. 3a. ed. Bogotá, Casa Editorial de J. J. Pérez, 1895. pp. 167.

20. **Simmonds, J. H.** Banana leaf spot. Queensland Agricultural Journal 39:21-40. 1933.
21. \_\_\_\_\_ Influence of seasonal conditions on the development of *Cercospora* leaf spot of the banana, with special reference to the control programme. Queensland Agricultural Journal 52:633-647. 1939.
22. **Stevens, F. L.** Plant disease fungi. New York, Macmillan Co. 1925 (413-416)
23. **Stevenson, J. A.** Foreign plant diseases; a manual of economic plant diseases which are new or not widely distributed in the United States. Washington, D.C., U.S. Govt. Print. Off., 1926. p. 50. (U.S. Dept. of Agr. Office of the Secretary)
24. **Yu, T. F.** *Cercospora* leaf spot of broad bean in China. Phytopathology 37:174-179. 1947.
25. **Wellman, F. L.** En Junta Interamericana del café. Estudio de la situación cafetera mundial. Apendice "C" - Enfermedades del café en los países productores de América. Washington, D. C., n.d. p. 6.