

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA

TESIS

ESPECIES DE *Colletotrichum* ASOCIADOS A *Coffea arabica* L. EN NICARAGUA

Autor: Bra. Marcela A. Torres Zuñiga

Asesores: MSc. Yanet Gutierrez
Dr. David Monterroso
MSc. Jorge Gongora

Managua, 26 de marzo de 1993.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL
DEPARTAMENTO FITOPATOLOGIA

TESIS

ESPECIES DE Colletotrichum ASOCIADAS A Coffea arabica L.
EN NICARAGUA

Autor: Bra. Marcela A. Torres Zúniga

Asesores: MSc. Yanet Gutiérrez

Dr. David Monterroso

MSc. Jorge Góngora

Presentada como requisito previo para optar al grado de Ingeniero
Agrónomo

Managua, 26 de marzo de 1993.

A mis padres y a mi tía Rosa Argentina

AGRADECIMIENTO

A mis padres y a mi tía Rosa Argentina cuyos esfuerzos me han permitido llegar hasta aquí.

A la Escuela de Sanidad Vegetal y en particular al Msc. Yanet Gutiérrez G.

Al Proyecto MIP - CATIE y en especial al Ph. D. David Monterroso S.

Al Centro Nacional de Protección Vegetal y al Msc. Jorge Góngora G.

A los MSc. Gregorio Varela O. y Sergio Pichardo G. por permitir la realización de este trabajo.

CONTENIDO

Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Contenido.....	iii
Lista de cuadros.....	iv
Lista de láminas.....	v
Lista de anexos.....	vi
Resumen.....	vii
Introducción.....	1
Objetivos.....	5
Materiales y Métodos.....	6
Resultados.....	14
Discusión.....	40
Conclusiones.....	70
Recomendaciones.....	72
Bibliografía citada.....	73
Anexos.....	78

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. Fincas de muestreo.....	7
CUADRO.2. Aislados en los que se	34
CUADRO 3. Intervalos para <u>Colletotrichum</u>	36
CUADRO 4. Composición del complejo.....	40
CUADRO 5. Comparación cuantitativa.....	60
CUADRO 6. Comparación cuantitativa.....	61
CUADRO 7. Comparación cuantitativa.....	62
CUADRO 8. Comparación cuantitativa.....	64
CUADRO 9. Análisis de las longitudes.....	66

LISTA DE LAMINAS

Lámina 1. Síntomas causados por.....	19
Lámina 2. A. Mancha foliar causada.....	20
Lámina 3. Síntomas causados por.....	21
Lámina 4. <u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	28
Lámina 5. <u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	29
Lámina 6. Variación morfológica de.....	30
Lámina 7. <u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	31
Lámina 8. <u>Colletotrichum coffeanum</u>	32
Lámina 9. Variación de la colonia.....	33
Lámina 10. Desarrollo de <u>Glomerella cingulata</u>	38
Lámina 11. Antracnosis de la cereza.....	39
Lámina 12. <u>C. gloeosporioides</u>	44

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. <u>Colletotrichum</u> ssp. aislado.....	78
Anexo 2. <u>Glomerella</u> Spauld. & H. Schrenk.....	83
Anexo 3. Glosario.....	85

RESUMEN

Con el objetivo de verificar la presencia del hongo causante de la enfermedad de las cerezas verdes también conocida como coffee berry disease (CBD), se recolectaron muestras en siete fincas de Coffea arabica L en la IV y VI Región de Nicaragua, ubicadas a diferentes pisos altitudinales y manejo agronómico. El estudio de las cepas obtenidas se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA) durante el período comprendido de Agosto de 1991-Agosto 1992.

Se encontraron cuatro grupos asociadas al sistema: Colletotrichum coffeanum Noack y Colletotrichum gloeosporioides Penz con tres formas conocidas como cca, ccm y Vermeulen.

Colletotrichum coffeanum variedad virulans Noack causante del coffee berry disease (CBD) o enfermedad de las cerezas verdes en Africa no fue reconocido en las zonas de estudio.

Cada grupo, presentó diferentes características ecológicas, patogénicas y monoculturales que son cualitativamente similares a los grupos de Kenia (Africa), referidas por Gibbs (1969), Hindorf (1970; 1972) y Muthappa (1976), pero no idénticos.

El hongo fue encontrado parasitando las cerezas verdes y maduras del cafeto, y aunque sus características in vitro no fueron similares a las del hongo causante del CBD, sus cepas desarrollaron patogenicidad en radículas, y plántulas de café con dos hojas cotiledonales (variedad Catuaí amarillo).

Se desconocen los factores que están induciendo a la selectividad del patógeno, y pensamos que deben realizarse más estudios de manera integral, acerca de todos los elementos que influyen en el sistema, como la fertilización del cultivo, la conservación de suelos, el uso de fungicidas, etc. Para evitar a tiempo cualquier explosión epidémica de la antracnosis en que los costos de producción se elevarían, y las pérdidas serían cuantiosas debido a que el área sembrado sería reducido.

INTRODUCCION

Colletotrichum pertenece taxonómicamente al Orden Melanconiales de los hongos Imperfectos (Romero, 1988). El estado perfecto de algunas de las especies de Colletotrichum ha sido el ascomycete Glomerella cingulata (Stonem) Spauld. & H. Schrenk (Alexopoulos y Mims, 1985). Estos hongos son generalmente polífagos y pocos tipos patogénicos tienen hospedero específico p. e, Colletotrichum musae (Berk & Curt.) Arx en banano, Colletotrichum lindemuthianum (Jacc. & Magn.) Bri & Cau en frijol y Colletotrichum coffeanum Noack en café.

Según Hindorf (1972, 1975) entre las especies de Colletotrichum que invaden las diferentes partes del café al este y centro de Africa, están Colletotrichum coffeanum Noack variedad virulans (Rayner, 1948) causante del coffee berry disease (CBD) o enfermedad de las cerezas verdes y Colletotrichum acutatum Simmonds que existe saprofiticamente en café de elevadas altitudes en Kenia (Muling, 1971) usualmente asociado al patógeno del CBD. La especie más común es Colletotrichum gloeosporioides Penz con tres formas de crecimiento conocidas como **ccm** (micelio de crecimiento rápido) Gibbs (1969), **cca** (micelio de crecimiento moderadamente rápido) Gibbs (1969) y **Vermeulen** (micelio de color verde claro) Vermeulen (1970), el cual produce la muerte regresiva de las ramas, antracnosis de las hojas, y tizón marrón en las cerezas maduras.

El coffee berry disease (CBD) es la enfermedad fungosa más seria del café, confinada a países del continente africano. Ha sido reportado en Tanzania, Angola, Ruanda, Zaire, República Central Africana, Etiopía, Uganda, Camerún y Kenia (Kranz, 1977). Para el año de 1967, Griffiths (1968) reportó pérdidas en Kiambú (Kenia) de hasta un 70%, en lugares que no fueron tratados con ningún fungicida. Al parecer, la alta precipitación pluvial en Kenia, para el año de 1977, incrementó la incidencia de esta enfermedad y los técnicos de la fundación de investigación del café reportaron pérdidas de 60% - 90% (Coffee Research Station, 1978). Según Hindorf (1972) y Vargas (1977) el CBD no puede ocurrir en América (Hindorf y Muthappa, 1974) debido a que su incidencia disminuye conforme decrete la altura. Después de 1961, el CBD en Kenia se difundió explosivamente en todas las áreas por debajo de 1900 m de altura (Brows y Cocheme, 1969), aunque también se ha confirmado que en Angola a 1300 m de altitud, la antracnosis comienza a ser un problema (Mendes da Ponte citado por Alves y Martins, 1978).

Por otro lado, en América solo se reportan otras enfermedades menores del café incitadas por Colletotrichum spp. tal como la muerte descendente de los brotes en Colombia y Costa Rica (Castaño, 1956 a y b; Fernández, 1961; Gutiérrez, 1954). La antracnosis en Guatemala (Schieber et al. 1970) y Venezuela (Martínez y Zambrano, s.f.) y el brown blight (tizón marrón) en Colombia, considerada una enfermedad rara en las cerezas maduras del cafeto (Van der Vossen, 1975).

Sin embargo, en 1975, Van der Vossen planteó la suposición de que la composición poblacional de Colletotrichum en Coffea arabica al centro y sur América era cualitativamente similar a Coffea arabica en Kenia, pero que las condiciones ambientales locales en la mayoría de los casos no eran favorables para el desarrollo epidémico de la enfermedad de las cerezas verdes (CBD). El uso intensificado de pesticidas como programa de control de enfermedades fungosas, tales como la roya en Brasil y Cercospora coffeicola en Colombia y Costa Rica, podrían alterar el balance natural de la población Colletotrichum. El CBD podría aparecer siempre y cuando C. coffeanum esté formando parte del complejo y las condiciones climáticas le sean favorables.

Esta suposición se afirma con un reporte de OIRSA publicado en 1979:

Según informes extraoficiales, el coffee berry disease ha sido detectado en cafetales de Brasil a finales de 1978 convirtiéndose en una amenaza para los países del área de OIRSA, debido a que la caficultura regional se vería afectada y los costos de producción se elevarían enormemente" (Hernández, 1979).

En la zona norte y pacífico de Nicaragua, la antracnosis del café causado por Colletotrichum spp. ha sido reportado como una enfermedad importante en los últimos años y a esta fecha no se tienen datos precisos sobre su comportamiento, ni el efecto sobre el rendimiento (Mejía, 1990).

Otro reporte afirma que en Nicaragua, bajo condiciones propias de clima, la enfermedad presenta una alta incidencia al iniciar la época lluviosa y aún cuando no se han determinado las razas que prevalecen en el medio, se han observado severos daños en la zona norte, pero no se tiene hasta la fecha un estimado real de las pérdidas, por lo que se realizó un estudio preliminar sobre la incidencia de la enfermedad en el Centro Experimental de Bonetillo (Matagalpa) logrando estimar pérdidas de 46.36 % (Centro Nacional de Investigación del Café, citado por Góngora, 1991).

Góngora (1991), en su estudio sobre el reconocimiento de las principales enfermedades fungosas que atacan al café, encontró a tres especies del hongo, Colletotrichum acutatum Simmonds o ccp de Gibbs (1969), Colletotrichum coffeanum Noack y Colletotrichum gloeosporioides Penz. La especie C. acutatum fue encontrada parasitando cerezas verdes. Este resultado ha causado alarma entre los caficultores de la IV y VI Región del país puesto que no se tiene la certeza de la ausencia del CBD o de cualquier otra raza virulenta asociada al sistema. Tampoco se conocen las especies actuales de Colletotrichum ni los síntomas causados por la enfermedad.

Con la problemática expuesta, se plantea la necesidad de estudiar intensivamente a la población Colletotrichum en café de la IV y VI Región, mediante el reconocimiento y comparación de los aislados con la descripción de especies y formas del mismo hongo aislado en Kenia, utilizando las características morfológicas in vitro y pruebas de patogenicidad para verificar la presencia del CBD.

OBJETIVOS

Conocer las especies de *Colletotrichum* asociadas al sistema en Nicaragua.

Conocer los síntomas causados por cada una de las especies de *Colletotrichum*

Determinar la presencia o ausencia del hongo causante del CBD a cualquier otra variante virulenta

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA) durante el período comprendido de Agosto 1991-Agosto 1992. El estudio del hongo se basó en la descripción de síntomas y aislamiento, características en medio de cultivo, y pruebas de patogenicidad, considerados los más importantes para caracterizarlo.

1. DESCRIPCION DE SINTOMAS Y AISLAMIENTO

Las muestras se recolectaron en fincas de la IV y VI Región ubicadas a diferentes alturas y manejo agronómico (Cuadro 1). Las muestras consistieron en hojas, frutos verdes, frutos maduros y ramas. Los síntomas observados se describieron antes de realizar el aislamiento simultáneamente con el diagnóstico preliminar. Este procedimiento consistió en revisar cortes muy pequeños del tejido infectado en montajes de agua destilada y lactofenol con ayuda de un estereoscopio y microscopio marca Zeiss, en aumento 10x y 40x, con el objetivo de verificar la presencia de estructuras formadas por el hongo.

CUADRO 1. Fincas de muestreo.

FINCAS	UBICACION	ALTURA (msnm)
SAN JUAN	IV REGION	440
ASILO	IV REGION	650
LAGUNA	VI REGION	850
BOSQUE	VI REGION	950
ASTURIAS	VI REGION	900
PINTADA	VI REGION	1050
FUNDADORA	VI REGION	1200

De acuerdo a las recomendaciones planteadas por Gibbs (1969) y Hindorf (1970,1972) se procedió a desinfectar las muestras en hipoclorito de sodio al 14% y 5%, variando el tiempo de exposición de 1 a 3 minutos, respectivamente (Lehmann, 1987). Luego, fueron puestos a esporular en cajas de petri estériles durante 48 horas a una temperatura de 22 °C, humedad relativa de 100% y completa oscuridad. Obtenida la esporulación, se adicionó a cada plato 20 ml de agua destilada estéril, agitando cada uno por 5 minutos. Luego, se extrajo 2 ml de suspensión de cada muestra para realizar la siembra del hongo inicialmente en papa-dextrosa-agar y luego en extracto de malta agar más 0.02% de estreptomicina para ser caracterizado. Los platos fueron incubados a temperatura de 22 °C, pH6.0 y completa oscuridad.

La pureza de las cepas se logró mediante la técnica de cultivos monospóricos¹ previamente diluída (10^3 esporas por mililitro). El objetivo de diluir es para inocular la menor cantidad de esporas posible, al centro de la caja de petri. Obtenida la suspensión, la muestra fue colocada en un porta objeto estéril para ser vista al microscopio en aumento 10x. Los conidios se tomaron con un asa de aguja plana estéril inoculados en el medio de cultivo en una cámara de transferencia.

2. CARACTERISTICAS EN EL MEDIO ARTIFICIAL EXTRACTO DE MALTA AGAR

MAS 0.02% DE ESTREPTOMICINE

El reconocimiento de los diferentes grupos encontrados se realizó después de 10 días, mediante el crecimiento micelial y su capacidad esporulativa, las características morfológicas y cuantitativas de la colonia, después de diez días de crecimiento. El crecimiento del micelio se evaluó cada 48 horas midiendo el diámetro de las colonias y restando el diámetro del disco inoculado como lo proponen García y Lemma (1988).

¹ Raoul, A.Muller. 1992. Técnica de cultivos monospóricos. Francia. IRCC, Esta técnica, consiste en preparar una suspensión previamente diluída para ser inoculada en medio artificial a fin de obtener cultivos puros.

La capacidad de esporulación se midió a través del conteo directo de conidios en un hemacitómetro. A cada plato se adicionó 20 ml de agua y con ayuda de un pincel las esporas fueron removidas suavemente. Luego, las suspensiones fueron colocadas en el hemacitómetro con ayuda de una micropipeta de drigalsky estéril. En total se hicieron 25 lecturas a fin de calcular un promedio general por cada grupo.

2.1. Características morfológicas de la colonia

Con la aparición de la enfermedad de las cerezas verdes en Africa surgieron varios intentos de clasificación del complejo entero. Gibbs (1969) separó al complejo en cuatro grupos ccm, ccp, cca, y CBD a la cepa patogénica. Hindorf (1970) propuso otra clave, basándose en la clasificación taxonómica de Von arx (1970) en el que solo las cepas del hongo causante del CBD (que en medio de cultivo producen sus conidios en hifas solitarias y el estado perfecto nunca ha sido observado) debían ser reconocidas con el nombre binomial C. coffeanum y las cepas del ccp como C. acutatum. Las cepas las de ccm, cca, y otra forma rara de micelio verde denominada Vermeulem debían ser reconocidas como C. gloeosporioides Penz.

En el estudio se describen las características generales y variaciones para cada uno de los grupos respecto a la tonalidad de colonia, distribución de las estructuras fungosas y morfología de estructuras asexuales como hifas del micelio, conidios, conidióforos, acérvulos, basados en la descripción para Colletotrichum propuesta por Hindorf (1972) (Anexo 1). Las

estructuras sexuales como peritecios o ascocarpos, y ascosporas se reconocieron mediante la descripción para Glomerella cingulata propuesta por Hanlin (1990) (Anexo 2), a los diez días de crecimiento.

Varias semanas después, en las mismas colonias de Colletotrichum, se verificó la formación de estructuras correspondientes a la fase sexual del hongo (Glomerella cingulata) específicamente en aquellos grupos que no logran formarlas a los diez días de crecimiento.

El proceso de germinación en conidios es otra característica microbiológica del hongo importante, debido a que parece ser la fase infectiva del ciclo y puede ser utilizada en el reconocimiento del organismo a nivel de género. también para comprobar la viabilidad de las cepas en posteriores inoculaciones. El proceso se observó en todos los grupos durante 48 horas en agua destilada estéril, temperatura de 22 °C, HR de 100% y completa oscuridad.

2.2. Características cuantitativas de la colonia

En cada uno de los grupos, se describió cuantitativamente el tamaño de conidios (ancho por largo), la presencia de acérvulos y tamaño de setas, la presencia y tamaño de ascocarpos de peritecios y ascosporas, para reforzar su identidad y facilitar el reconocimiento. Primero, se procedió a calibrar el micrómetro ocular del microscopio con el micrómetro de objeto (Mollring, s.f.). Después, se escogieron 2 ó 3 cepas del cultivo puro de cada aislado para medir 50 individuos de cada estructura, de los cuales se calcularon las medias y sus respectivas desviaciones para proponer los intervalos

de 95% de confianza para cada grupo encontrado. Con los intervalos obtenidos se realizó la prueba de "t" a fin de investigar la similitud estadística de cada grupo en el que se tomó como patrón de comparación a Colletotrichum coffeanum.

3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Estas pruebas se realizaron con el objetivo de verificar la patogenicidad de las cepas que comúnmente se aislaron de cerezas verdes y en especial de Colletotrichum coffeanum. Dicha evaluación, se llevó a cabo en cerezas verdes, en radículas y en plántulas con dos hojas cotiledonales.

3.1. Evaluación en cerezas verdes

En la evaluación con cerezas verdes, se tomaron como base dos tipos de inoculaciones. El primer tipo consistió en provocar heridas en un borde de la cereza y el segundo en no provocarlas. Las cerezas usadas en dicha evaluación se recolectaron en la finca la Pintada (VI Región), las cuales se desinfectaron en alcohol al 70% por 5 minutos. Luego, se eliminaron los residuos de alcohol a través de dos enjuagues con agua destilada estéril. Los aislados de cereza verde y madura se evaluaron en 10 frutos con cada tipo de inoculación y los aislados de hoja y corteza en 5 cerezas, respectivamente. La suspensión inoculada fue de 10^6 conidios por ml de acuerdo a la recomendación de Nutman y Roberts (1960, 1970), Nutman (1970) y Cooke (1971, 1974). Previo a la inoculación, se verificó la germinación de espора que no debía ser menor del 80%. Después de la inoculación, las cerezas fueron incubadas en cajas plásticas

estériles a temperatura de 22 °C, humedad relativa de 100% y completa oscuridad, durante 48 horas.

3.2. Evaluación en radículas (6 semanas después de la siembra)

Para la realización de esta prueba se utilizó semilla de café Catuaí amarillo y suelo del Jardín Botánico (ubicado en la IV Región de Nicaragua). La semilla estaba sana. El suelo fue esterilizado a 400 °C durante 4 horas. Previo a la siembra el pergamino fue separado de la semilla para facilitar la germinación. Se asignaron 30 semillas por bandeja y una bandeja por cepa. A las 6 semanas de la siembra, las radículas comenzaron a emerger, momento en que se realizó la inoculación con ayuda de un aspersor a presión. Inmediatamente después, las bandejas se taparon con bolsas de polietileno bajo una temperatura de 22-25 °C y humedad relativa de 100%. Cuatro días después las bandejas se dejaron expuestas a luz normal y temperatura de 22-25 °C.

3.3. Evaluación en plántulas de dos hojas cotiledonales (4 semanas después de la germinación)

Para esta evaluación, se tomaron únicamente las cepas de *C. coffeanum* y *C. gloeosporioides* Vermeulen aisladas a partir de cerezas verdes. El ensayo se preparó de igual manera que en el caso anterior y la inoculación se realizó después que aparecieron las 2 hojas cotiledonales (aproximadamente 4 semanas después de la germinación). Cada cepa se evaluó en una bandeja con 20 posturas y antes de inocular se verificó la germinación de espora (que no debía

ser menor del 80%). Realizada la aspersión, las bandejas se taparon con bolsas de polietileno, bajo una temperatura de 22-25 °C y HR de 100%. Después de 4 días, las bandejas se destaparon y quedaron expuestas a las mismas condiciones de humedad y temperatura.

La patogenicidad de las cepas inoculadas se verificó a través de la manifestación de síntomas y el reaislamiento del hongo inoculado en medio de cultivo, utilizando el mismo procedimiento ya descrito al comienzo. En la prueba con cerezas verdes la revisión se hizo a través de montajes de tejido infectado por el hongo en agua destilada y lactofenol, en aumento 40x.

RESULTADOS

Se aislaron dos especies del hongo Colletotrichum coffeanum y Colletotrichum gloeosporioides con tres formas de crecimiento cca, ccm y Vermeulen. Las cepas caracterizadas tienen diferente distribución en el sistema y causaron diferentes síntomas de la enfermedad. Presentaron características muy particulares en medio de cultivo y capacidad patogénica. No se encontró a la especie C. acutatum reportado por Góngora (1991) en la VI Región de Nicaragua ni como parásito ni como saprófito. Tampoco se encontró a Glomerella cingulata como agente causal.

1 . SINTOMAS DE LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR Colletotrichum spp EN CAFE

En cada grupo se estudiaron las características generales del síntoma y sus respectivas variaciones de acuerdo al órgano atacado.

Colletotrichum gloeosporioides cca

Este grupo causa la antracnosis en las hojas y las cerezas, y muerte regresiva en las ramas. En las hojas, las lesiones aparecieron como puntos de color rosado conforme crecían el centro se volvía más claro con algunos puntitos negros (acérvulos). Finalmente, las lesiones adquieren forma redonda, color crema con abundantes acérvulos de color negro, que aparecen como pequeñas pústulas, para después dar salida a setas y conidióforos con conidios (ver Lámina 1A). En estas manchas fue común la presencia de un halo que varió de tonalidad naranja a marrón, poco visible. Conforme avanza la

infección, el tejido se deshidrata y se rompe con facilidad. Esta es la razón por la que en el campo es frecuente encontrar lesiones con partes incompletas. Algunas veces este síntoma puede variar a una forma irregular pero su coloración continua siendo crema con abundantes acérvulos.

En las ramas, el daño más visible de la enfermedad fue la defoliación total. La manifestación de lesiones en todo el órgano varió de un color marrón a crema, pero en general los primeros tres entrenudos presentaron tonalidad café oscura y en las partes más claras de las lesiones los acérvulos eran fácilmente diferenciables. Estas lesiones eran de consistencia dura y tostada a la vez, fácilmente diferenciables. También causó la momificación de las cerezas que aún estaban unidas al pedúnculo, las cuales estaban completamente negras, endurecidas (al igual que el pedúnculo) y el pericarpio adherido totalmente a la semilla. La cantidad de acérvulos fue más frecuente y numerosa en las lesiones cercanas al tejido verde, cerca del tallo (ver ilustración del síntoma en la Lámina 1B y 1C).

La antracnosis de las cerezas, varió de acuerdo al grado de madurez en el grano. Las cerezas verdes presentaron lesiones necróticas de color negro, hundidas, totalmente endurecidas. La infección avanzó del ápice al pedicelo de la cereza (Lámina 1D). Las cerezas maduras presentaban lesiones de color marrón a café oscuro, de forma redonda, hundidas, de consistencia dura. En ambos casos no se observaron estructuras del hongo, pero el aislamiento fue efectivo.

Colletotrichum gloeosporioides ccm

El daño de la enfermedad causada por este grupo se observó únicamente en las hojas. En forma de lesiones irregulares color crema oscuro, rodeadas de un fino halo marrón en el haz de la hoja y naranja en el envés. Los acérvulos solo se observaron en el haz de las hojas como puntos de color negro, que inicialmente carecían de setas semejando pústulas de color negro (Lámina 2A). En las ramas y las cerezas el hongo fue aislado ocasionalmente en asocio con C. coffeanum

Colletotrichum gloeosporioides Vermeulen

La enfermedad atacó únicamente los frutos. En las cerezas verdes las manchas iniciaron como puntos hundidos de color marrón que finalmente adquieren forma redonda y consistencia dura. En las cerezas maduras las lesiones tuvieron la misma tendencia, solo que la tonalidad varió de café oscuro a negro en las que se formó micelio y conidios del hongo (Lámina 2B y 2C).

Colletotrichum coffeanum Noack

Los síntomas de la enfermedad se presentaron en frutos, hojas y ramas. En las hojas las lesiones se iniciaron generalmente en los bordes con forma irregular y de color café cenizo oscuro, que luego cambiaron a un color negro. Los acérvulos de estas manchas estaban algunas veces abiertos y sus setas eran muy visibles (Lámina 2D). Otro tipo de síntoma fue la formación de lesiones redondas con halo naranja, rodeado por otro halo de color amarillo y centro de color crema oscuro con muchos acérvulos con apariencia de puntos negros

en el haz y necróticas en el envés (Lámina 3A).

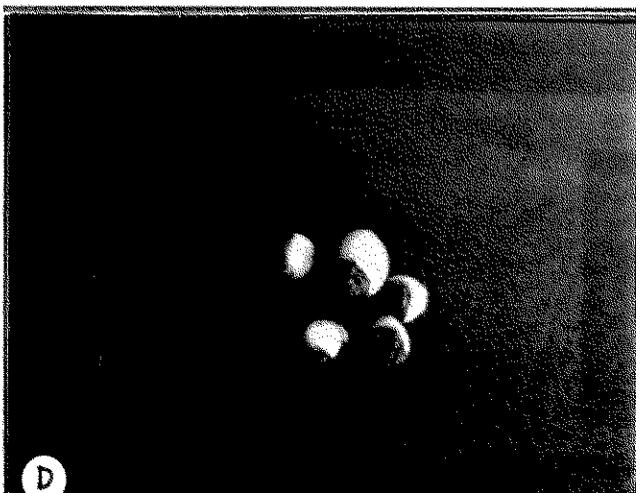
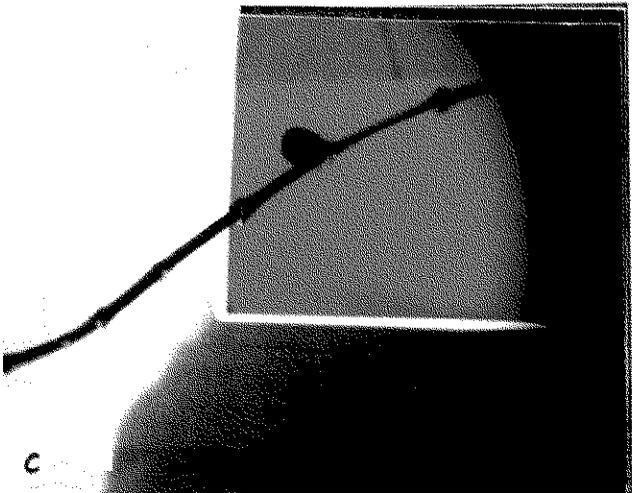
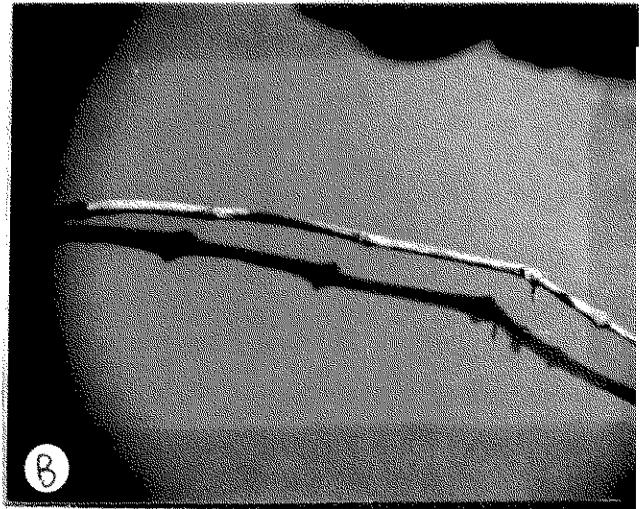
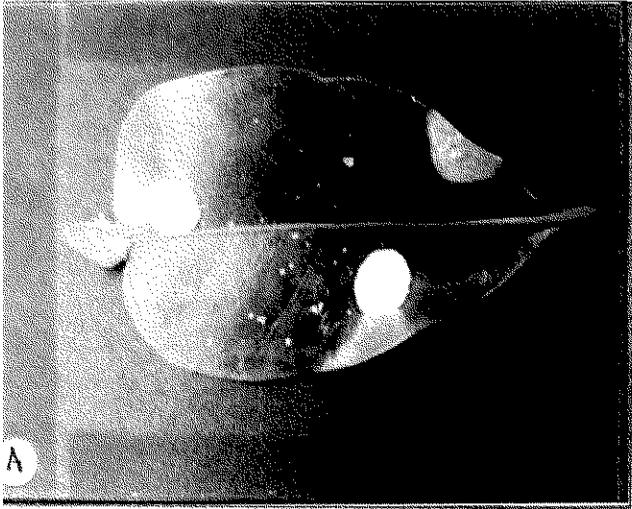
En las ramas el efecto del hongo fue más notable. Las hojas cayeron y en toda la rama aparecieron lesiones hundidas, irregulares color café rojizo-café oscuro y crema (Lámina 3B). Solo los tres primeros entrenudos mostraron manchas café oscuro. Los acérvulos mostraban setas y se observaban como puntos de color negro, de mayor abundancia en los entrenudos más cercanos al tallo (Lámina 3C).

Las cerezas que aún estaban adheridas a la rama estaban momificadas y cubiertas de manchas negras; sin embargo algunas de ellas habían caído, quedando el pedicelo adherido al vegetal. Este tipo de lesiones causó la muerte de las ramas y las cerezas, lo cual concuerda con resultados obtenidos por Hindorf (1972). En términos generales las ramas severamente atacadas se vuelven tostadas y pálidas.

Los síntomas en los frutos se manifestaron como pequeñas lesiones hundidas de color marrón a café oscuro, que finalmente se volvieron redondas, negras y endurecidas; la infección se inició en los bordes de la cereza y en el extremo opuesto al pedicelo. En las cerezas verdes el color marrón de las lesiones se observó más claro; sin embargo, no se formaron estructuras fructíferas del patógeno. En términos generales el daño causado en los frutos por el patógeno difieren de Cercospora spp en que los frutos atacados por este último se manifiestan en una podredumbre húmeda del pericarpio de la cereza y a veces total del fruto; en las cerezas maduras las lesiones estaban cubiertas por un moho blanco que no eran más que

conidios hialinos de Cercospora spp. en esporodoquio.

En las hojas con lesiones viejas fue muy común encontrar partes caídas a consecuencia de la deshidratación total del tejido (Lámina 3D).



La mina 1. Sintomas causados por *colletotrichum gloesporioides* +seca en café de la IV y VI región de Nicaragua. A. Mancha foliares. B. Muerte regresiva. C. Defoliación y momificación de la cereza. D. antacnosis en cereza verde, las manchas negras cubren el apice del fruto.

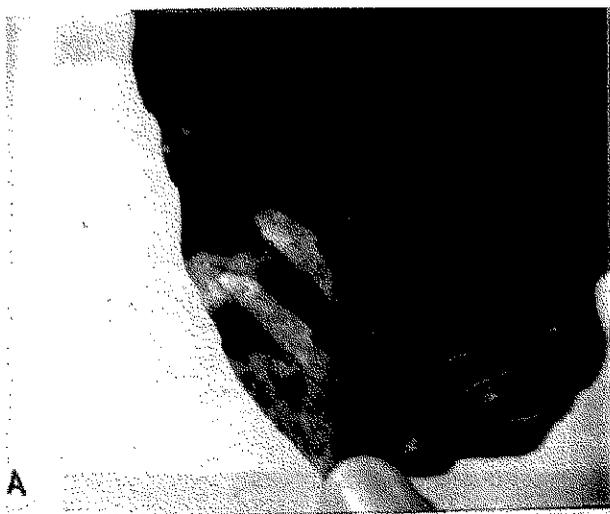
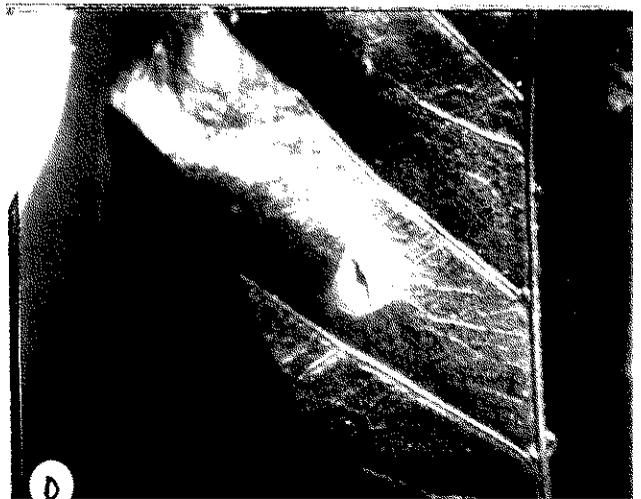
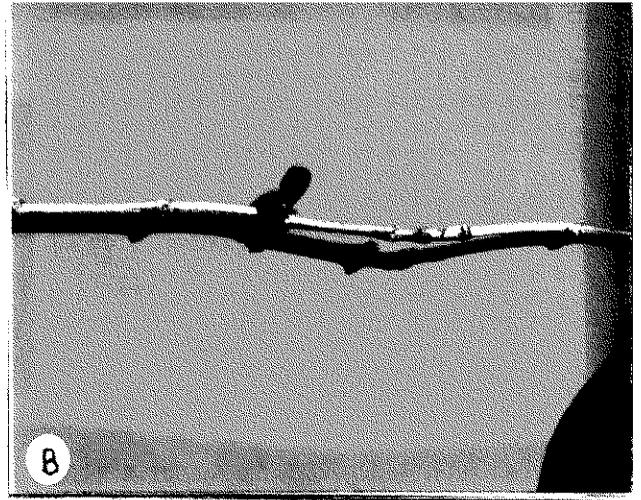


Lámina 2. A. Mancha foliar causada por Colletotrichum gloeosporioides com. B. Antracnosis en cereza verde causada por Colletotrichum gloeosporioides Vermeulen. C. Microfotografía de conidios y micelio de Colletotrichum gloeosporioides Vermeulen. D. Lesión foliar causada por Colletotrichum coffeanum en café de la VI Región de Nicaragua.



Lamina 3. Sintomas causados por *colletotrichum coffeanum* en café de la IV y VI Region de Nicaragua. A Sintoma poco común, que tiende a confundirse con el causado por *cescospora* ssp. en café. B. Muerte regresiva en rama y momificación de la cereza. C. Apareriencia de los acervulos en la corteza. D. Deshidratacion y rompimiento de l tejido de una lesion vieja.

2. CARACTERISTICAS EN EL MEDIO ARTIFICIAL EXTRACTO DE MALTA AGAR MAS 0.02% DE ESTREPTOMICINE

El mayor crecimiento micelial lo obtuvo el grupo cca, le sigue C. coffeanum, ccm y el más lento el grupo Vermeulen. En la capacidad de esporulación también el cca fue el que tuvo la mayor cantidad de conidios formados en 10 días le sigue, en segunda instancia el grupo Vermeulen, ccm y el que produjo menor cantidad de conidios fue C. coffeanum (ver Cuadro 3).

2.1 Características morfológicas de la colonia Colletotrichum gloeosporioides cca

Inicialmente, el micelio es blanco, abundante, que finalmente se vuelve escaso y aéreo. Los acérvulos aparecieron aproximadamente a las 48 horas de crecimiento como puntos de color negro acompañados comúnmente por conidios en masas de color naranja.

En su centro se describieron muchos anillos concéntricos de color naranja constituidos por masas de conidios. Las hifas del micelio eran septadas y hialinas. Los conidios eran hialinos con un borde truncado y otro romo, los cuales tuvieron origen en conidióforos solitarios (Lámina 10C) y en acérvulos (Lámina 4C). Los conidióforos solitarios sostenían una espora en el ápice, de color hialino, alargados, los cuales sobresalían en el medio de cultivo.

Generalmente, se observaron acérvulos de dos tipos: con setas y sin setas, distribuidos en anillos y en forma dispersa. Los acérvulos con setas son raros y el número setas es también escaso. Los acérvulos carentes de setas mostraban forma redonda en los que eran visibles los conidióforos cortos con sus conidios. La colonia presenta tonalidad naranja pero al reverso solo se diferencian los anillos concéntricos que describen los acérvulos. Después de varias semanas la colonia se volvió gris y aparecieron los peritecios de Glomerella cinoulata (Lámina 4).

En algunos aislados se observó que los anillos concéntricos cambiaron de una tonalidad clara otra más oscura y definida (Lámina 6A), esto en cepas pertenecientes a un mismo aislado. En cepas obtenidas a partir de diferentes aislados, la variación fue más notable. Tal es así, que no parecen colonias de un mismo grupo o género (Lámina 6B). La coloración gris del micelio en el centro de la colonia fue común en los aislados obtenidos a partir de hojas.

En algunos aislados se formaron ascocarpos de peritecio con apariencia de cuerpos globosos, distribuidos en anillos y en forma dispersa que inicialmente mostraban coloración blanca y luego cambiaron a un color negro. Estos ascocarpos estaban provistos de un ostíolo corto, diferenciable en uno de sus extremos. No se formaron ascosporas hasta después de varias semanas.

Colletotrichum gloeosporioides ccm

Es la forma de crecimiento de colonias blanco grisáceo y algunas veces gris. El micelio inicialmente es blanco. Luego, cambió a blanco grisáceo. Los acérvulos aparecieron entre el cuarto o quinto día, como puntos de color negro. El centro de la colonia era negro a causa de la alta producción de ascocarpos. Pocos anillos se describieron en su centro y cada uno de ellos estaba constituido por masas de conidios de todo tamaño. El micelio estaba formado por hifas septadas de dos coloraciones: hialinas y/o grisáceo. Los conidios eran de color verduzco y formas diversas (de bordes romos y finas, con borde romo y otro curvo, deforme) los cuales tuvieron origen en conidióforo solitario y en acérvulo. Los conidióforos eran hialinos, alargados, de forma similar a un hilo, en cuyo ápice tuvo lugar una sola espora.

Los acérvulos aparecieron distribuidos en anillos y en forma dispersa. Las setas eran numerosas, de apariencia corta, negras, y de varios septos. La mayor cantidad de ascocarpos de peritecios nació en el centro de la colonia, pero también se originó en forma dispersa. Los ascocarpos inicialmente eran blancos, de forma globosa y luego cambiaron a una coloración negra. Provistos de un ostíolo corto diferenciable, en uno de sus extremos. Estos cuerpos siempre estaban sumergidos en el medio de cultivo a diferencia de Fusarium cuyos ascocarpos (Gibberella) estaban inmersos en el micelio. Al reverso de la colonia solo se observó el centro negro y un micelio gris (Lámina 5).

En algunos aislados el micelio era escaso. Pero el centro continuaba siendo negro, definido por una alta producción de ascocarpos jóvenes y de coloración clara (Lámina 6D). Otras veces el hongo describió claramente anillos concéntricos con un micelio escaso, pero el centro no era definido. La formación de acérvulos carentes de setas es muy rara. Los ascocarpos no siempre describieron anillos, a veces estaban en forma dispersa (Lámina 6C). No es frecuente la formación de ascocarpos con ascosporas, y tienden a confundirse con las ascocarpos jóvenes debido a que tiene morfología similar. Las ascosporas eran verduzcas, uninucleadas, con bordes puntiagudos y curva, producidas en una cantidad de 8 esporas por asca en la que estaban dispuestas ordenadamente (Lámina 5D).

C. gloeosporioides Vermeulen

El micelio inicialmente es blanco. Aproximadamente al cuarto día cambió a un color verduzco, y finalmente cambió a un color verde-grisáceo, abundante y aéreo, nunca negro. Los acérvulos aparecieron entre el cuarto o quinto día como puntos negros, al centro de la colonia. Los anillos concéntricos eran abundantes, de color naranja los cuales estaban constituidos por masas de conidios de todo tamaño. Las hifas del micelio eran septadas y variaron de un color verduzco a cafezusco. Los conidios presentaron coloración verduzca generalmente de dos formas (un borde romo y otro curvo, deforme), de aspecto fino los cuales tuvieron origen en conidióforos solitarios y en acérvulos.

Los conidióforos solitarios eran hialinos, semejantes a un hilo, en cuyo ápice descansaba una sola espora. Los acérvulos frecuentemente distribuidos en anillos y en forma dispersa, no permitieron el desarrollo de setas, pero continuaban siendo negros y de forma redonda, algunas veces. La formación de tejido estromático fue abundante, sin forma definida. Al reverso de la colonia solo se describieron anillos de color verde que nunca adquirieron la tonalidad oscura típica en el micelio de C. coffeanum (Lámina 7).

En algunas ocasiones el micelio varió a una tonalidad gris (Lámina 9A), acompañado algunas veces de un centro definido por abundante tejido estromático negro (Lámina 9B). Aunque se observaron casos en el que la formación de tejido estromático no tiene lugar.

Colletotrichum coffeanum

Inicialmente el micelio era color blanco. Luego cambió a verde olivo, y finalmente a negro, abundante, profuso. Los primeros acérvulos nacieron al centro del cultivo, como puntos de color negro entre el cuarto o quinto día de crecimiento. Se formaron pocos anillos concéntricos de color negro, rodeados por conidios en masas de color naranja visibles solo al centro de la colonia. Las hifas del micelio eran septadas, color café oscuro. Los conidios eran ligeramente verduzcos, de bordes redondos, cilíndricos, originados en acérvulos y en conidióforos solitarios. Se formaron acérvulos sin setas y con setas. Los del primer caso mostraban forma más o menos redonda, en la que eran visibles conidióforos y conidios. En el segundo caso

las setas de los acérvulos eran alargadas, finas, muy negras, y numerosas. Los conidióforos que nacieron en forma solitaria eran hialinos, finos, semejantes a un hilo en cuyo ápice sostenían una espora, aparentemente de mayor tamaño que la originada en acérvulo. Los peritecios se formaron en masas de color negro, en anillos y en forma dispersa de forma redonda, color negro, con ostíolo corto, semejante a un poro, de color oscuro en uno de sus extremos. Las ascas eran hialinas con 8 esporas, distribuidas ordenadamente dentro de la asca. El color de la ascospora varió de un color verduzco a cafezusco, nunca hialina, uninucleada, con sus bordes agudos y curva del centro. Al reverso de la colonia, solo se observó un micelio de color negro (Lámina 8).

Cuando el micelio varía a un color café claro (este cambio se observó en aislados obtenidos a partir de corteza), los acérvulos y peritecios nacen en forma dispersa y en masas de color negro, sin describir anillo alguno (Lámina 9C). En aislados que presentaron tonalidad oscura, se observó una tendencia acerca de la tonalidad micelio, de un color negro a verde grisáceo. De acuerdo al órgano de donde fue aislado (Lámina 9D). También, puede ocurrir que la fase perfecta se desarrolle varias semanas después y no a los diez días como ocurrió normalmente. En este caso no se observó ninguna tendencia respecto al órgano o lugar geográfico de donde fue aislado el patógeno.

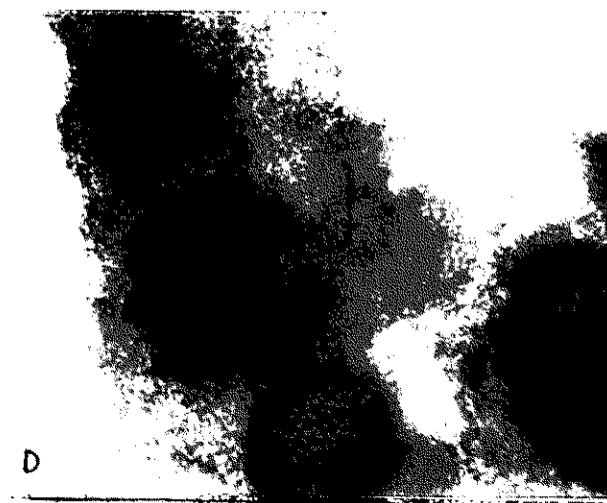
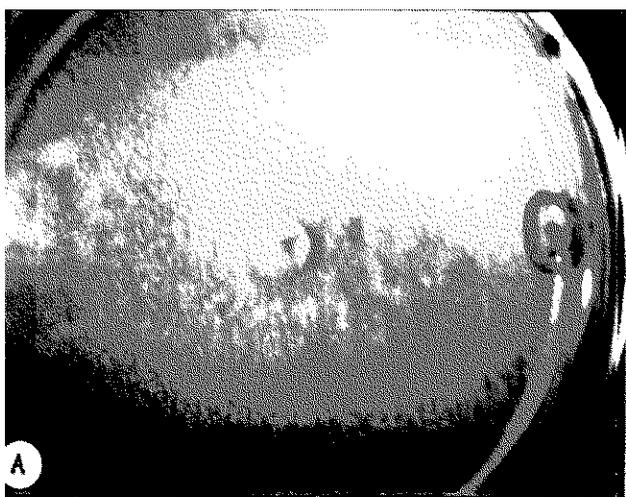


Lámina 4. Colletotrichum gloeosporioides cca. A. En caja de petri. B. Acérvulo con setas (aumento 25x). C. Acérvulo sin seta (40x). D. Peritecios de Glomerella cingulata con cuello ostiolar no desarrollado (25x).

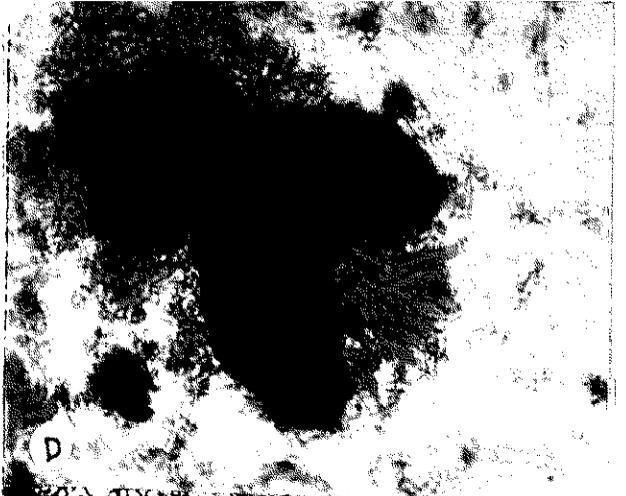
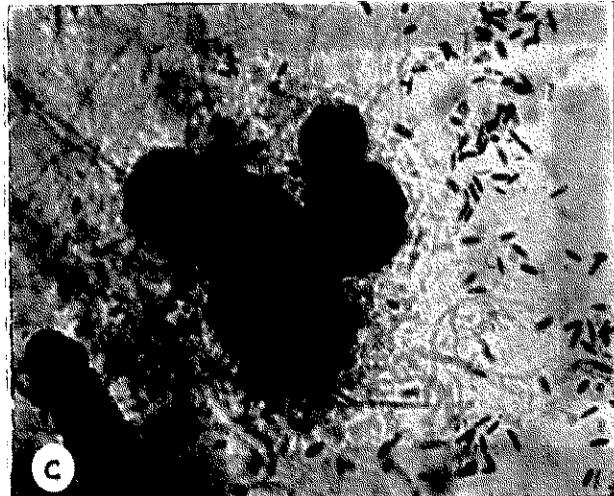
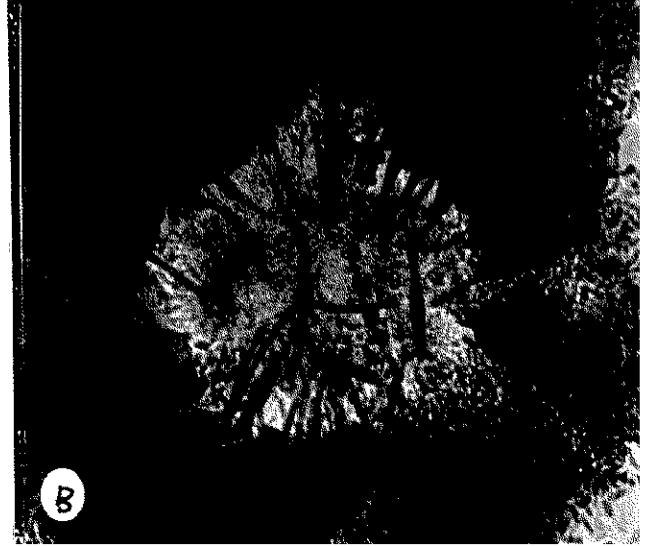


Lámina 5. Colletotrichum gloeosporioides ccm. A. En caja de petri. B. Acérvulos con numerosas setas y abundante tejido estromático (25x). C. Tejido estromático de peritecios (25x). D. Peritecios con ascospora, de cuello ostiolar no desarrollado (40x).

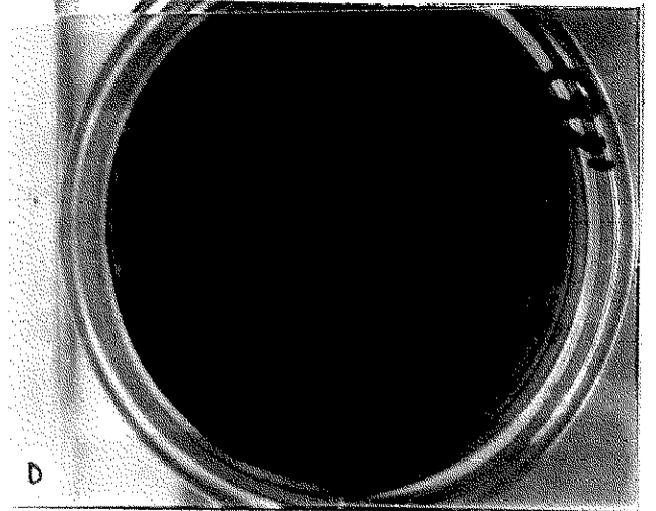
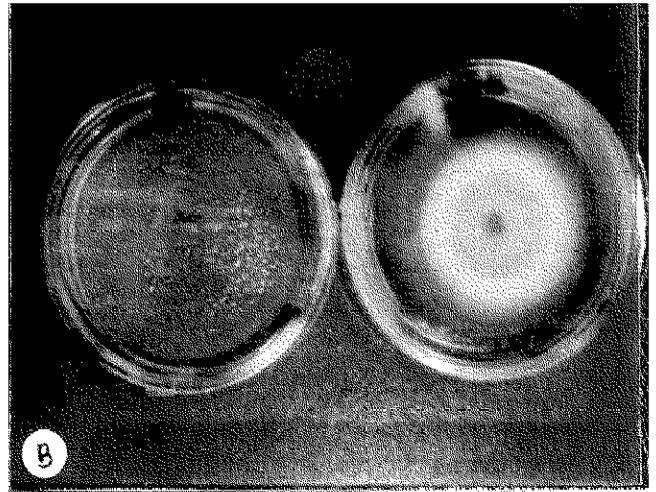
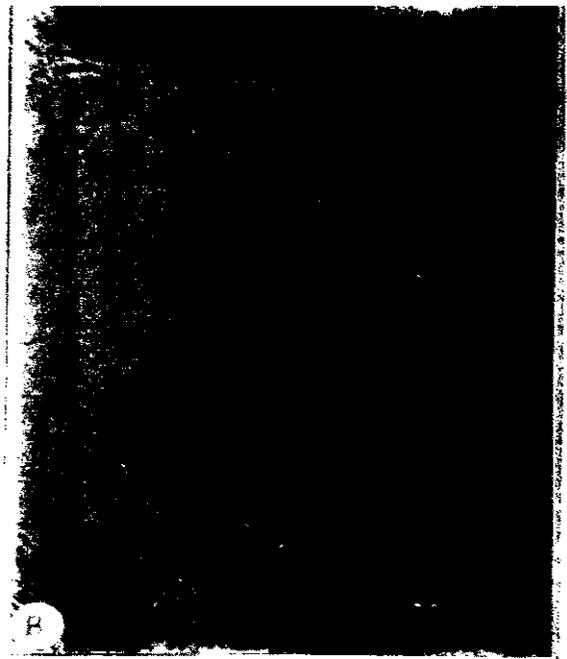


Lámina 6. Variación morfológica de la colonia en el grupo cca. A. Proveniente de un mismo aislado. B. Proveniente de distintos aislados. Variación de la colonia en el grupo com en distintos aislados. C. anillos concéntricos negros con centro no definido. D. Micelio escaso con abundantes masas de acérvulos con setas y peritecios.



Lamina. 7. *Colletotrichum gloeosporoides*. vermeulen. A .Cultivo en caja de petri .
B.acervulos carentes de setas - (aumento 25 x) C. tejido astromatico amorfo
(aumento 25 x) D. Conidios libres (aumento 40 x).

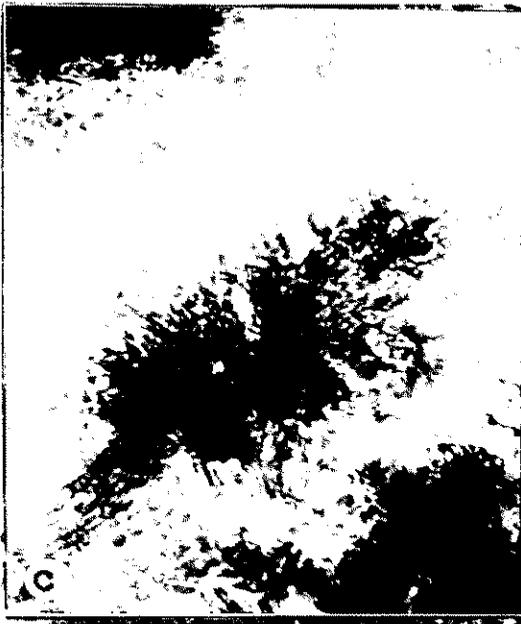
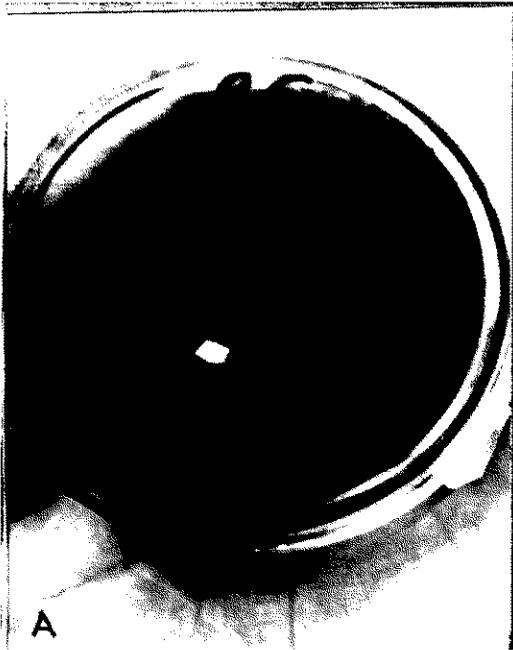
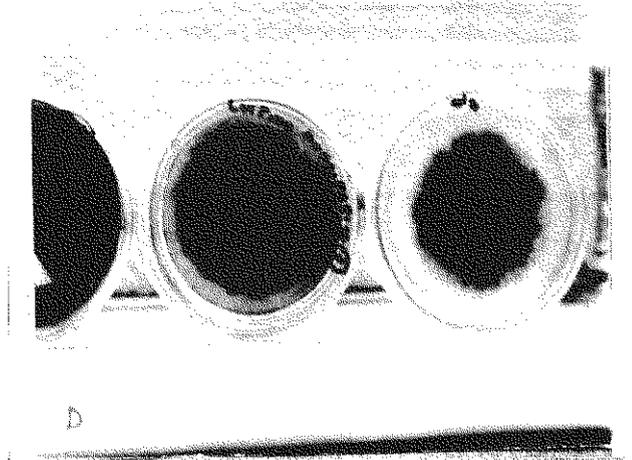
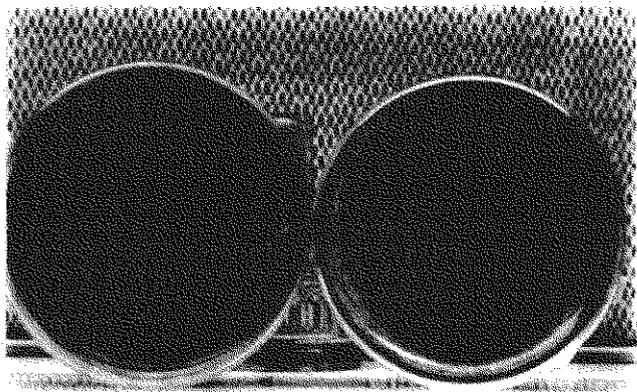


Lámina 8. Colletotrichum coffeanum. A. Colonia en caja de petri. B. Acérvulos con setas (25x). C. Acérvulos carentes de setas (25x). D. Peritecios con ascosporas (aumento 25x).



c

D

Lamina 9. Variacion de colonia en el grupo vermeulen (A YB) . A. Micelio . gris concentrico . B. Micelio gris y abundante tejido estromatico. Notese en ambos casos la variacion del micelio a paratir del aislado inicial . Variacion de colonia en el grupo C . coffeanum (C YD) C. micelio cafe D. Aislados de hoja , corteza y cereza verde; la tonalidad menos oscurase obserba en el asilado de la corteza verde (plato a7).

Desarrollo del estado perfecto después de varias semanas
 Después de varias semanas, algunos de los aislados de las diferentes especies y grupos reconocidas dieron lugar a su fase perfecta: peritecios de Glomerella cingulata, redondos, negros, ostíolos alargados, listos para liberar sus ascósporas (ver Lámina 10A). El número de casos fue más frecuente en las cepas del cca y Vermeulen (Cuadro 2).

CUADRO 2. Aislados en los que se desarrolló Glomerella cingulata después de varias semanas de crecimiento (expresado por el número del cepario).

*cca	ccm	Verm.	<u>C. coffeanum</u>
1.3	2.1	3.1	4.1
1.4	2.3	3.2	4.4
1.7	2.7	3.3	4.14
1.8	2.9	3.4	
1.9		3.6	
1.10		3.7	
1.14		3.8	

* Colletotrichum gloeosporioides cca, ccm, Vermeulen y Colletotrichum coffeanum.

Otra característica microbiológica de Colletotrichum spp. La germinación de la spora se inició con la turgencia del conidio. La spora sufrió un aumento en su tamaño normal. Luego un septo que apareció en su centro dividió a la spora en dos partes y el proceso finalizó cuando emergieron los tubos germinativos en cada uno de sus extremos. Uno de los tubos era corto y presentaba un apresorio de color café oscuro. El otro tubo (el más largo) presentaba septos

similares a una hifa (Lámina 10B).

2.2. Características cuantitativas de la colonia

En el Cuadro 3, se muestran los intervalos de 95 % de confianza para las medias de conidio, setas, ascocarpos o peritecios y ascosporas, en cada uno de los grupos estudiados a los diez días de crecimiento en extracto de malta agar. Como un criterio adicional para el reconocimiento de cada grupo puesto que además de las mediciones, se describe que tipo de estructura puede ser observada en cada grupo en el tiempo descrito.

Con un alfa de 0.5, se puede afirmar que los grupos reconocidos de Colletotrichum spp en café son estadísticamente diferentes excepto el grupo ccm y C. coffeanum, en el que sus ascosporas resultaron ser similares.

Aún falta por estudiar la composición molecular² de los grupos a fin de determinar si estos grupos descritos son individuos diferentes o similares, y la interacción de la especie específica del sistema con el resto que son comunes en otros cultivos (C. gloeosporioides).

² Raoul, A.Müller. 1992. Composición molecular. IRCC. Francia. Se refiere al reordenamiento de las especies-formas del complejo Colletotrichum bajo un nuevo criterio: a escala molecular. Alexopoulos y Mins (1985) han referido que la clasificación de los hongos se ha realizado en medio artificial pero este medio es inestable e inclusive puede contribuir a la variabilidad de algunos hongos en cultivo. Esos cambios son reversibles, pero no se puede afirmar con tanta seguridad los límites de dicha variación.

CUADRO 3. Intervalos para Colletotrichum spp aislado de Coffea arabica en extracto de malta agar despues de días de crecimiento

HONGO	<u>C. gloeosporioides</u> cca.	<u>C. gloeosporioides</u> com	<u>C. gloeosporioides</u> vermeulen	<u>C. coffeaeum</u>
total de aislados	15	12.	8	14
conidios (u)	13.3±.4x4.4±.3	12.9±.4x3.7±.2	16.23±.55x3.13±.2	15.1±.5x4.9±.3
ascosporas (u)	-	13.9±.7x4.8±.3	-	13.2±.5x4.7±.2
acérvulo	+	+	+	+
setas (u)	70.6±4.2x2.5±.2	65.5±4.4x2.3±.2	-	95.9±6.3x3.3±.2
peritecio y/o ascocarpo (u)	64±4.5x558.5±4.3	44.1±4.4x52.8±3.9	-	83.2±5.4x72±4.9
Crec. micelial (mm/24H)	5.7	4.9	3.5	5.3
esporulación (10 ⁶ esporas/ml)	8.9	4.9	8.6	2.0

u = micras

+ = estructura formada

- = estructura no formada

* = montados en lactofenol

3. EVALUACION DE PATOGENICIDAD

3.1 Inoculación de cerezas verdes

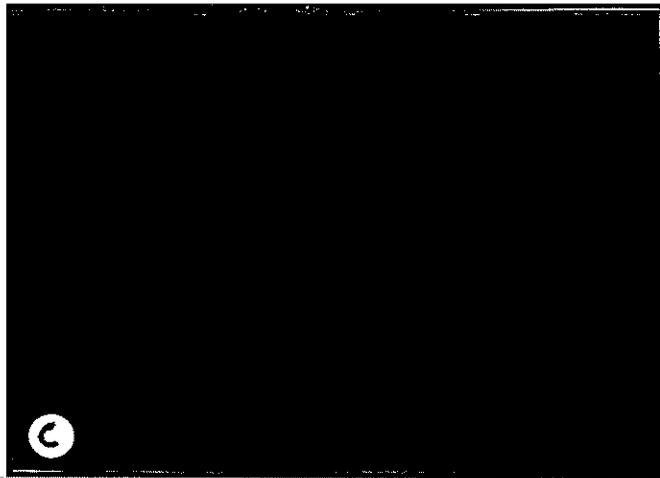
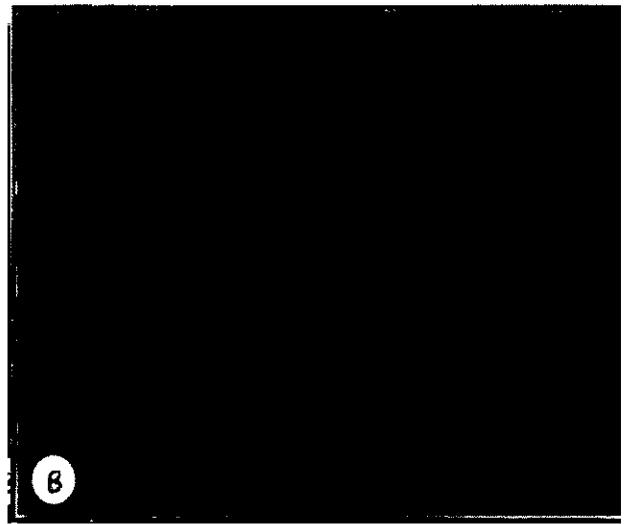
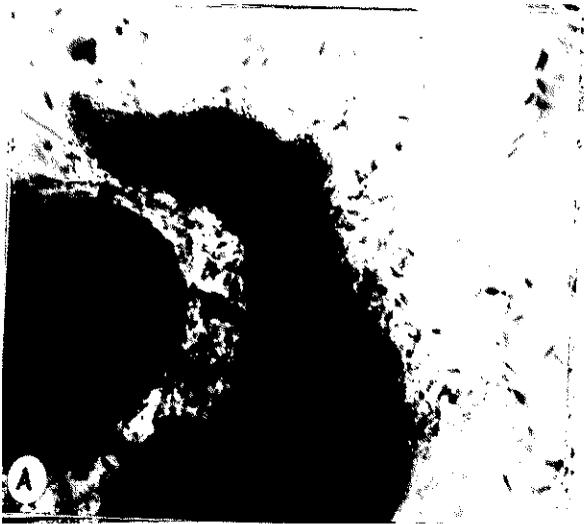
Los síntomas de la enfermedad aparecieron una semana después de la inoculación, como manchas de color marrón y café oscuro acompañadas por un micelio blanco (Lámina 11A). Esta reacción fue igual en todas las cerezas inoculadas con los dos tipos de inoculación en el que no solo se observaron conidios de Colletotrichum sino también de Cephalosporium, Penicillium y Fusarium.

3.2. Inoculación de radículas

Dos semanas después de la inoculación, las radículas estaban necrozadas, con una coloración negra y de consistencia dura y algunas semillas habían muerto. Estos síntomas fueron observados en todas las bandejas inoculadas con cepas de C. coffeanum aislado de hoja, rama, cereza verde y cereza madura.

3.3. Inoculación de plántulas

Dos semanas después de la inoculación, comenzaron a ser visibles los síntomas del daño en las hojas, como manchas cloróticas que luego cambiaron a café oscuro. Finalmente, adquirieron un estado totalmente necrótico y tostado, a causa de la deshidratación. El avance de la enfermedad fue lento, desde las hojas cotiledonales hasta la radícula. El tallo que estaba cubierto de manchas negras sufrió un adelgazamiento y las hojas estaban secas tostadas, y dobladas. La parte superior del hipocótilo también presentaba esta misma condición (Lámina 11B).



Lamina 10. Desarrollo de *Glomerela cingulata* . A. Peritecios con el cuello estoliar desarrollado *Colletotrichum gloeosporioides* cca en EMA . B. conidio germinado con formacion de apresorio color cafe.C. conidio en conidioforo solitario. notes la diferencia entre ambas estructuras , que en el medio del cultivo podrian ser confundidas e inducir a un error al momento de caracterizar.

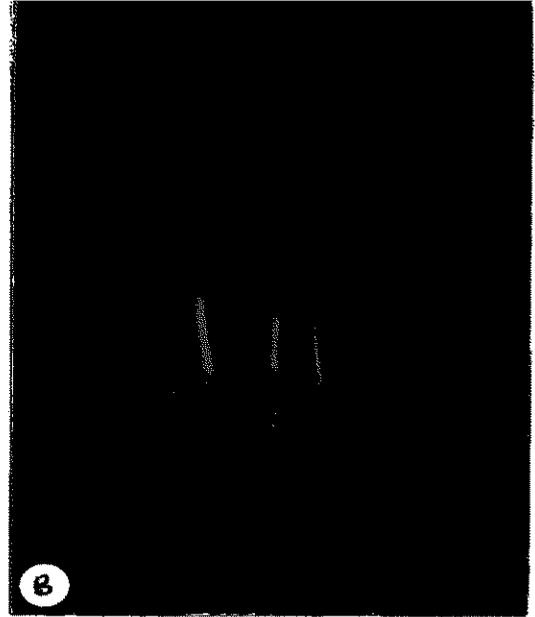
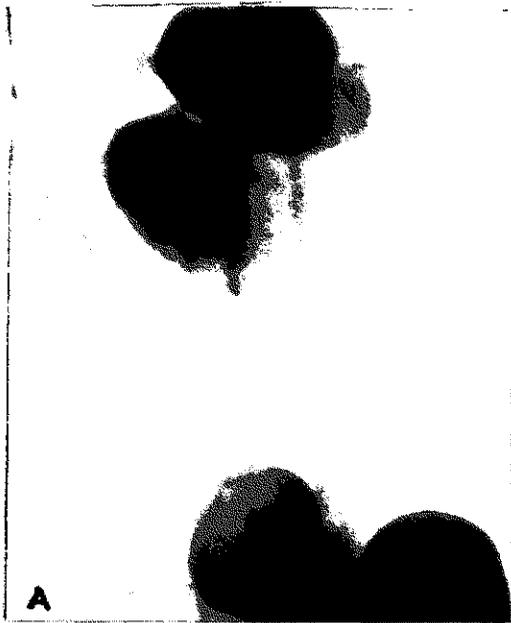


Lámina 11. A. Antracnosis de la cereza causada por C. coffeanum. B. Muerte regresiva de plántulas producida por C. coffeanum y C. gloeosporioides Vermeulen.

DISCUSION

1. SINTOMAS DE LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR Colletotrichum spp. EN CAFE

Colletotrichum gloeosporioides cca

Fue encontrado con mayor frecuencia en café de la IV y VI de Región de Nicaragua (ver Cuadro 4) causando antracnosis en los frutos verdes y maduros, muerte regresiva en ramas, y manchas foliares. Las lesiones de la hoja eran típicamente redondas, con centro de color crema y abundantes acérvulos negros que aparecieron como pústulas de color café y finalmente permitieron la salida de las setas.

setas.

CUADRO 4. Composición del complejo Colletotrichum en las principales regiones cafetaleras de Nicaragua.

GRUPO	%	REGION
cca	30.6	IV Y VI
ccm	24.5	IV
Vermeulen	16.3	VI
<u>C. coffeanum</u>	28.6	IV Y VI

Este tipo de lesiones tiende a confundirse con las manchas ocasionadas por Mycena citricolor, sin embargo la producción de acérvulos dispersos en la mancha despejó tal incógnita

Durante la etapa preliminar del muestreo se creyó que la forma redonda de la lesión se debía al efecto quemante de gotas de herbicida aplicado normalmente en el café. Sin embargo, se notó cafetos severamente afectados desde el estrato superior hasta el inferior, y en las hojas se encontraron lesiones muy pequeñas de aspecto naranja que se aclaraban al ir aumentando de tamaño, hasta causar la caída de la hoja. En algunas fincas de la IV Región (Asilo y Laguna), se observó que la aplicación del herbicida no se realizaba adecuadamente por lo que se observaba una alta incidencia de la enfermedad en el estrato inferior del vegetal. Colletotrichum es un hongo altamente oportunista y aprovecha cualquier entrada para infectar. Debido a las características propias de la lesión, la infección se inició generalmente en la zona central de la hoja y raras veces en los bordes.

La infección de las cerezas maduras ocurre con mayor frecuencia que en las cerezas verdes. Según Hindorf (1975) C. gloeosporioides (sin especificar la forma de crecimiento) causa una enfermedad poco importante en el café porque solo ataca los frutos maduros debido a que pues su pericarpio es más suave y por ello más susceptible a la infección. Sin embargo las manchas negras en las cerezas verdes recolectadas en este estudio, causaron momificación, y finalmente la caída de las cerezas. En algunas fincas de estudio (Asturias, Bosque, VI Región) se observaron zonas (focos) en las que se había generalizado el ataque de cerezas verdes. El ataque de las cerezas maduras parece ser un problema generalizado. El daño es muy severo, pero los productores no le prestan atención debido a que

suelen asociarlo con el daño causado por Cercospora.

Las lesiones que se desarrollaron en el tallo, también causaron la caída de las hojas y cerezas, y la muerte regresiva en las ramitas. En algunas fincas (La Laguna, La Pintada) se observaron cafetos completamente defoliados. Este tipo de síntoma coincide con lo descrito por Hindorf (1975).

Colletotrichum gloeosporioides ccm

El daño por C. gloeosporioides ccm solo se observó en las hojas. Esta forma parece ser de menor agresividad que la forma cca. En las hojas solo se notaron lesiones irregulares de color crema oscuro, muy frecuente en café de las zonas bajas (Finca San Juan, IV Región). Un resultado similar obtuvo Muling (1971) en Kenia, en el que la incidencia de esta forma ccm aumentaba conforme disminuía la altura. En el tallo y la cereza, el hongo fue encontrado en asociado a C. coffeanum y en otras ocasiones a Fusarium, Botrytis, Penicillium, Mucor, Cladosporium spp. No es posible afirmar que el hongo es saprófito por eso será necesario estimar el nivel de pérdida bajo un estudio epidemiológico.

Colletotrichum gloeosporioides Vermeulen

Esta forma de crecimiento C. gloeosporioides Vermeulen tuvo un comportamiento singular. Atacó únicamente las cerezas del café y solo fue encontrado en la VI Región. De acuerdo al Cuadro 4, fue el de menor frecuencia respecto al resto del complejo. La antracnosis causada a las cerezas frecuentemente verdes y a veces maduras

consistió en lesiones más o menos redondas, hundidos, de color marrón a café oscuro (la mayoría de aislados fueron obtenidas a partir de cerezas verdes). Pero todavía no es un fenómeno generalizado. Es decir, que el número de casos encontrados es relativamente pequeño, respecto al resto del complejo. Las cerezas severamente atacadas presentaron numerosas partes hundidas, causando su deformación y finalmente su momificación

Como se ha expuesto anteriormente no esperaba aislarlo de cerezas verdes puesto que este comportamiento ha sido confinado a C. coffeanum var. virulans causante de la enfermedad de las cerezas verdes (Muthappa 1976), además que ha sido reportado como hongo saprofito (Vermeulen, 1970; Hindorf, 1972). Desde este punto de vista, estos resultados difieren aún más pues el hongo fue aislado directamente de tejido enfermo, que no había dado origen a estructuras sexuales y en el único caso en que se produjeron estructuras fueron conidios y micelio de aspecto similar al aislado en medio de cultivo (Lámina 12A y 12B).

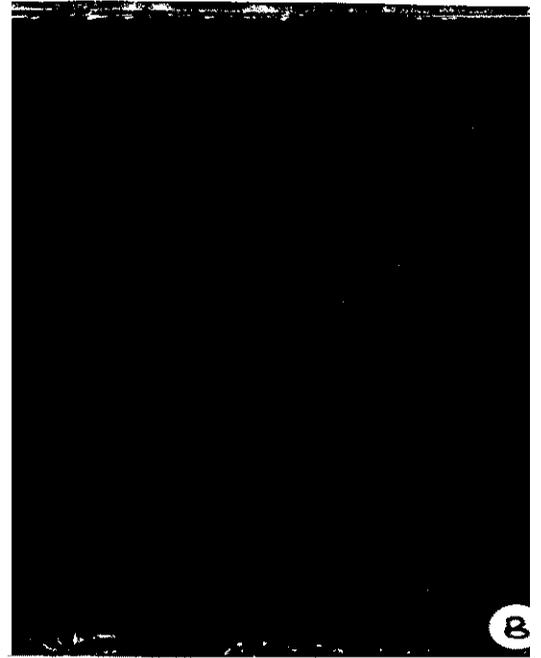
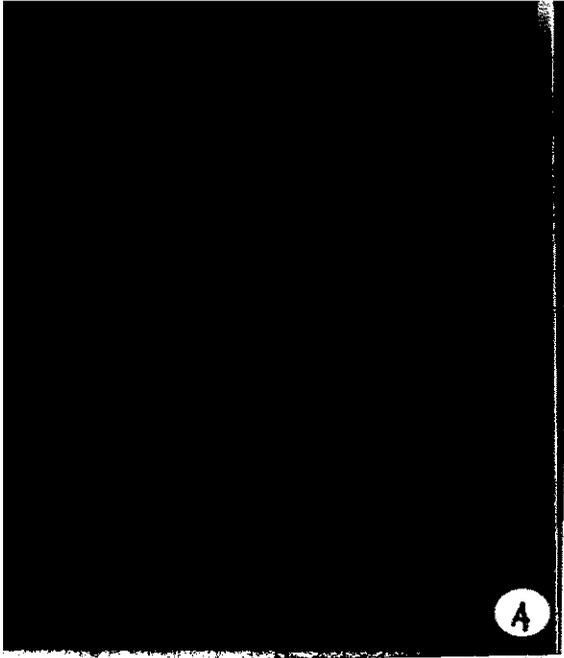


Lámina 12. *C. gloeosporioides* Vermeulen.

A. Conidios y micelio en tejido vivo. B. Conidios y micelio en EMA.

Colletotrichum coffeanum

Ha sido la especie obligada confinada al cultivo. Según el muestreo, fue el mejor distribuido en el sistema, parasitando todos los órganos aéreos del hospedero, causando manchas foliares, antracnosis de los frutos, y muerte regresiva en las ramas.

Los síntomas de la hoja inician en los bordes como manchas irregulares de color cenizo, que luego se extienden hacia la nervadura central causando su caída. Fue común encontrar acérvulos de negros en el haz del tejido enfermo. Este mismo patógeno puede causar otro tipo de manchas, que por lo común son menos frecuentes de encontrar. Estas manchas eran circulares rodeadas por un halo marrón muy fino, que a su vez está circundado por otro halo de color amarillo que tiende a confundirse con las lesiones causadas por Cercospora spp.

En el tallo las lesiones causan la defoliación y muerte regresiva de las ramas de coloración café marrón o crema. También, fue común encontrar los primeros entrenudos cubiertos por manchas café. Este daño es muy similar al causado por C. gloeosporioides cca. Así que no se pueden diferenciar en el campo y por eso será necesario aislarlo en medio de cultivo.

La antracnosis causada en las cerezas verdes, se manifestó como manchas de color marrón a café oscuro. El daño fue menos frecuente en cerezas verdes que en cerezas maduras. También en este caso, los síntomas son muy parecidos a los ocasionados por C.

gloeosporioides Vermeulen y una forma segura de diferenciarlos sería mediante aislamiento en medio de cultivo, aunque es posible separarlos en tejido vivo, puesto que sus conidios son completamente diferentes.

En este mismo tejido, Colletotrichum coffeanum fue encontrado asociado a otro hongo del género Fusarium spp que produjo abundantes microconidios, clamidosporas y esporodoquios en medio artificial. Después de varias semanas fue posible observar peritecios correspondiente a su fase asexual (Gibberella) con pequeñas ascosporas hialinas, dispersos en forma aérea. Según Talbot (1978), los microconidios tienen función de espermacios es decir que nunca llegan a germinar, pero que son muy importantes en la reproducción sexual. Se desconoce el efecto del hongo en el café, y el porqué se aisló reiteradas veces junto a C. coffeanum en las cerezas verdes. No así, en el resto de tejidos afectados por el mismo hongo. Algunos investigadores suponen que este hongo es un saprófito en el sistema. Fusarium es un hongo de alto riesgo en maíz. En café no existe ningún estudio que pueda afirmar o refutar lo contrario. No se puede asegurar que Fusarium se encuentra en el sistema como patógeno o saprófito.

Respecto a los síntomas causados por la enfermedad de las cerezas verdes, Muller (1992) ha referido que se caracteriza por presentar dos tipos de lesiones una "Scab" y otra llamada "activa". En el primer caso, las lesiones son peligrosas porque aparece al inicio del pedúnculo y las manchas son café claro ligeramente deprimidas

y arrugadas las cuales traen como consecuencia el desecamiento del fruto y su caída. La forma activa es por el contrario una podredumbre húmeda de la pulpa, en evolución rápida. Las lesiones son de coloración más pronunciada (gris oscuro hasta café oscuro) que la forma Scab y las fructificaciones del hongo son más abundantes.

En contraste con los resultados, la coloración de las lesiones en los frutos infectados varió de café marrón a café oscuro, y también se observó la infección del pedúnculo de las cerezas por manchas negras no solo por Colletotrichum coffeanum sino también por C. gloeosporioides cca (Lámina 1D).

Quizás se trate de una coincidencia el encontrar lesiones de coloración similar en este reconocimiento, pero no se encontraron fructificaciones del hongo antes de aislar. La semejanza entre el tipo y la manifestación de síntomas en cerezas particularmente verdes de las referidas por Muller a las encontradas en el estudio dan la impresión que se trata del hongo causante del CBD. Esta aseveración no se puede afirmar debido a que las características in vitro de estas cepas no coinciden con las del patógeno del CBD. Tampoco es posible afirmar categóricamente que el CBD no está presente en el sistema a causa de que el número de fincas muestreadas es muy poco, respecto del número total de fincas que representan a las distintas regiones cafetaleras. En el sentido de dar una descripción exacta correspondiente a la distribución de cada una de los grupos por región o departamento (en mapas), de todas las

zonas cafetaleras de Nicaragua. El comportamiento patogénico en los grupos reconocidos no es normal. De acuerdo a la descripción inicial en Africa podría convertirse en un problema serio, puesto que la mayoría de los caficultores, desconocen el problema, y aunque estén viendo el daño en sus campos lo están atribuyendo al hongo Cercospora spp. Orientados por los técnicos que manejan sus fincas, en el que el uso de fungicidas (específicamente), está dirigido a su control conjeturando de que se trata del hongo Cercospora spp.

También, se observó que los cafetos de donde fue aislado este patógeno sufrieron defoliación total y muerte regresiva (fincas San Juan, Pintada, Fundadora y Asilo). Sobre este comportamiento Muller (1992) ha sugerido que en los campos afectados por el CBD el daño se concentra en los frutos verdes y que en el resto de órganos aéreos la afección es casi nula o no se da. Este resultado contrasta con lo observado y reafirma que el patógeno descrito no es el CBD.

Desde un inicio, se utilizó el nombre de C. coffeanum para describir los síntomas de un grupo de crecimiento, que produjo un micelio negro en extracto de malta agar cuyas características son semejantes a la descripción realizada por Noack en 1901, in situ e in vitro. Sin embargo existe divergencia con el uso de este nombre, puesto que un grupo de investigadores (Gibbs, 1969; Hindorf, 1970 y 1972; Waller, 1982) decidieron utilizarlo para reconocer al hongo causante del coffee berry disease (CBD). Hindorf (1972) reordenó la especie descrita por Noack (1901) en la especie Colletotrichum gloeosporioides Penz a causa de que esa forma de micelio negro que

origina estructuras de la fase perfecta nunca fue observada en Kenia, además de argumentar que esa descripción fue realizada en Brasil (América) donde Colletotrichum causa enfermedades de poca importancia y las pérdidas en la producción oscilan entre el 3-4% (Hindorf, 1975).

Otros estudios realizados por MacDonald (1926) y Rayner (1952) han confirmado que el hongo que ataca las cerezas verdes no es el mismo que describió Noack en el Brasil, pero llegaron a la conclusión de que se trataba de una cepa virulenta del mismo hongo y por eso le llamaron C. coffeanum var. virulans. La enfermedad de las cerezas verdes ha sido confinada a los países del este y centro de Africa (Hindorf, 1975) y se ha tratado de demostrar que el hongo solo puede ocurrir en café de elevadas altura, sobre el nivel del mar.

La altura sobre el nivel del mar determina las condiciones climáticas (humedad relativa, temperatura, precipitaciones, intensidad de la radiación, etc) de una región. Las enfermedades no son la excepción. Ellas están regidas principalmente por la temperatura y la humedad relativa. Hindorf (1972) reporta a C. coffeanum (CBD) en cafetales de 1650 hasta 2000m de altura. Otros autores la reportan a más altura, de hasta 5000m (Hindorf y Muthappa, 1974).

En este caso particular no solo se ha encontrado a C. coffeanum sino también a C. gloeosporioides cca y Vermeulen, parasitando las cerezas verdes del cafeto, aunque no con alta frecuencia ni

virulencia, pero ninguna de sus características in vitro, principalmente las de C. coffeanum descrito por Noack (1901) coinciden con las del hongo causante del CBD.

Según Muller (Comunicación personal, 1992) las cepas del CBD producen sus conidios en hifas solitarias, nunca en acérvulos y el estado perfecto nunca ha sido observado. El intento de ordenamiento del complejo entero es afín de reconocer las cepas agresivas del CBD y no de reclasificar o proponer algún nuevo nombre a los grupos reconocidos. Es de mucha importancia dar a conocer las especies actuales del hongo y su efecto en la producción en estos últimos años. Se reportan pérdidas de 46.36 % y una alta incidencia al comenzar la época lluviosa, alcanzando su mayor pico en los meses de Septiembre-Octubre (Centro Nacional de investigación del café citado por Góngora, 1991).

Los hongos reaccionan en diferentes modos a su medio ambiente (Ulloa y Hanlin, 1978). Probablemente las condiciones del café en la IV y VI Región estén presionando al hongo Colletotrichum spp. y ésta sea la causa de su selectividad inicial, en la invasión de cerezas verdes en distintos niveles de crecimiento, y manejo agronómico del cultivo, como una consecuencia del manejo que los técnicos y productores han dado al cultivo en estos últimos años.

En 1966, Twist y Coltman encontraron que la causa de la agresividad de la antracnosis no solo era producto del uso de pesticidas, puesto que la primera vez que fue observada en Kenia (CBD) fue en 1922 y el

uso de pesticidas se generalizó hasta 1945 (DDT, y los insecticidas) sino al manejo de suelo (no mantenimiento del contenido de humus) y el uso desmedido de ayuda sintética de diversa índole.

Hasta hoy, la antracnosis no ha tenido la atención adecuada. Se han realizado más estudios en Cercospora coffeicola y en Hemileia vastarix en el que el manejo está dirigido a su control con uso excesivo de fungicidas. Los métodos comúnmente usados contra la antracnosis han sido la poda de limpieza y la fertilización, erróneamente se ha pensado que es una enfermedad de incidencia mayor en cafetos mal manejados, con problemas de fertilización (en este caso se refieren a las aplicaciones temporales de fertilizantes al momento de la floración o de mantenimiento al tejido verde), sequía, sombreo, etc.

De acuerdo a los resultados en las fincas Fundadora, Asilo, Asturias, donde el café no es sombreado y de buena producción se ha encontrado al hongo parasitando todos los órganos aéreos del vegetal inclusive cerezas verdes. El desarrollo de la antracnosis bajo condiciones propias de clima no podría ser frenado con aplicaciones adicionales de fertilizantes y/o realizando podas de limpieza como ha recomendado Coste en 1975 para el control de la enfermedad. Se supone que de ser así hoy el CBD en Africa ya no sería un problema serio y muchos productores no estarían sembrando té en lugar de café (Hindorf, 1975).

Es posible que en un tiempo futuro, la antracnosis pase a ser el principal problema del café. Como ocurrió con la roya por no haber prestado la atención debida en el momento en que pudo ser manejado su establecimiento. Furtado (1969) explica que las aplicaciones de cobre incrementan los niveles de C. coffeanum en cafetales donde antes no se habían hecho aplicaciones. Respecto a este mismo factor, van der Vossen (1975) también ha sugerido que el uso intensivo de fungicidas usados contra mancha de hierro y roya en Brasil, Colombia, y Costa Rica, podrían alterar el balance natural de Colletotrichum spp y el CBD podría ocurrir siempre y cuando C. coffeanum forme parte del complejo.

Se ha dejado entrever que muchos investigadores atribuyen la agresividad del patógeno, al manejo agrónomico del sistema y a la presión de selección que los fungicidas ejercen sobre su población. La presión de selección³ por parte del hospedero es la que podría incrementar la agresividad del patógeno. Es decir que se trata de una relación genética y la probabilidad de que este grupo sea la misma población inicialmente seleccionada por el producto es muy pequeña. Por que se trata de relaciones análogas pero estrictamente diferentes. Es decir dos procesos que no tienen ninguna relación.

El porqué la población de Colletotrichum spp. está desarrollando estos niveles de parasitismo no se pueden explicar sin tratar de integrar todos los factores que están influyendo sobre el desarrollo del vegetal, tales como el pH del suelo, la radiación, la presencia de otros patógenos del suelo como nemátodos, disponibilidad de

nutrientes y el cuidado del pH suelo con encalamiento, etc, pero determinar cual es el factor llevaría un período de investigación prolongado y de hecho no se estaría dando una respuesta a los productores de manera inmediata para disminuir el ataque del patógeno en las ramas, hojas, y lo que es más importante en las cerezas verdes donde el efecto del daño es directo porque las cerezas se momifican. Si la infección solo causara el manchado del pericarpio en los frutos entonces no sería problema puesto que las semillas serían fácilmente separadas del tejido y su calidad no se vería afectada.

³ Jacques, Avelino. 1992. Presión de selección. IRCC. En el sistema los fungicidas y el hospedero ejercen presión, seleccionando los grupos de hongos fitopatógenos más resistentes y con mayor capacidad de supervivencia. La selección en cada uno de los casos ocurre de manera análoga pero no están relacionados entre si. Es decir, que los grupos seleccionados por el fungicida no necesariamente tienen que ser los mismos seleccionados por la susceptibilidad del hospedero.

2. CARACTERÍSTICAS EN EL MEDIO EXTRACTO DE MALTA AGAR.

Crecimiento micelial y capacidad de esporulación.

La clave cca significa micelio de crecimiento moderadamente rápido. De acuerdo a nuestros resultados fueron las de mayor velocidad de crecimiento de todo el complejo (cuadro 3), también su capacidad de esporulación fue la más alta. La clave ccm significa crecimiento micelial rápido, según nuestros resultados tuvo un crecimiento lento y baja capacidad de esporulación. El crecimiento más lento se observó en el grupo Vermeulen pero no se tiene la certeza si este comportamiento está ligado a la naturaleza patógena del hongo o se deba a una característica biológica del grupo no relacionada con su patogenicidad, por otro lado su esporulación fue alta y comparable con la ocurrida en el grupo cca, caso contrario ocurrió con el grupo C. coffeanum en que su micelio creció rápido y su esporulación fue muy baja de 2×10^6 esporas por mililitro (ver cuadro 3).

2.1 Características morfológicas de la colonia

En las cepas aisladas, hemos encontrado a dos especies y tres formas de crecimiento en una de las especies cuyas características son cualitativamente similares a las referidas en las claves (Anexo 1) pero no idénticas.

De todos los órganos aéreos del vegetal se aisló una cepa de micelio negro aéreo, que produjo su fase asexual y sexual al igual que las otras formas la cual reconocimos como C. coffeanum de acuerdo a la clasificación inicial realizada por Noack. Las cepas del grupo restante fueron ordenadas de acuerdo a las claves referidas.

C. gloeosporioides cca

El micelio no fue estéril, la producción de conidios en conidióforos solitarios fue muy frecuente. Según Hindorf (1970 , 1972) y Gibbs (1969) el hongo produce un micelio estéril, y los acérvulos y peritecios aparecen después de varias semanas. Además que expresa que estas características son invariables.

El cca presentó variabilidad en su micelio, en sus acérvulos, en sus peritecios lo cual no es raro. El hongo es un individuo altamente variable (Alexopoulos y Mims, 1985). No obstante, la descripción morfológica del conidio fue exacta, puesto que permitió el reconocimiento de las cepas que no presentaron las características comunes. De un aislado a otro las medias de las diferentes estructuras variaron, razón por la cual hemos calculado intervalos de confianza para cada uno de ellos, presentados en el Cuadro 3.

C. gloeosporioides com

En la mayoría de aislados, este grupo fue el menos variable. La claves describen que el micelio de este patógeno es blanco grisáceo. Los conidios se producen en conidióforos solitarios y en acérvulos, los peritecios de Glomerella cingulata aparecen después de varias semanas y los conidios presentan tamaño y forma variable.

De acuerdo a lo observado, los peritecios o los ascocarpos o tejido estromático de peritecio nacieron a los 10 días de crecimiento y en algunas cepas se observaron ascosporas.

La descripción del conidio fue exacta, solo que el tamaño del resto de estructuras fueron variables y de mayor tamaño respecto a las claves. También en este caso proponemos intervalos de confianza como un criterio adicional para reconocerlo. (ver Cuadro 3).

C. gloeosporioides Vermeulen

Según la descripción de las claves, este grupo origina micelio verde-grisáceo a café-grisáceo. Nunca toma la coloración oscura de C. coffeanum descrito por Noack. Las hifas son hialinas o verduzcas. Los conidios raras veces se producen en conidióforos solitarios y ocurre solo en corteza de café cuando se han originado peritecios de Glomerella cingulata.

De acuerdo a lo observado, la producción conidial se efectuó en conidióforos solitarios y en acérvulos carentes de setas, fue aislado de lesiones que no presentaron estructuras de Glomerella cingulata y lo único que se observó en uno de los casos fueron conidios y micelio. La morfología de los conidios fue similar a la descrita, pero no se observaron conidios con bordes redondos como lo describe Hindorf en la clave.

Su crecimiento micelial fue el más lento de las tres formas de la especie, pero más rápido que el de la clave y su capacidad de esporulación elevada después del cca. Después de varias semanas se observaron peritecios de Glomerella cingulata. Los intervalos de confianza se presentan en el Cuadro 3.

C. coffeanum

Las cepas mostraron una coloración típicamente oscura, aislados de todas partes del cafeto incluyendo cerezas maduras y verdes. La presencia de acérvulos con setas y peritecios han determinado que esta especie es distinta de la variante que causa al CBD. No obstante, la coloración de la colonia y la forma del conidio son muy parecido. Su patogenicidad probada en plántulas de dos hojas cotiledonales y en radículas también es efectiva.

Los subaislados que variaron respecto al aislado inicial, solo fue observada en C. gloeosporioides Vermeulen; los aislados cca y ccm, también varían de su tonalidad inicial a una más oscura o gris, después de varias semanas de crecimiento en la que ninguna de las dos formas de crecimiento es diferenciable.

Desarrollo del estado perfecto después de varias semanas

El mayor número de aislados que dieron origen al estado perfecto: Glomerella cingulata, fueron en los aislados cca y Vermeulen. En los grupos ccm y C. coffeanum el número de casos fue menor, debido a que en la mayoría de sus cepas el estado perfecto se desarrolló después de diez días de crecimiento aunque estos peritecios no habían originado ascosporas. Es decir, que el tejido observado fue un protoperitecio o tejido estromático del ascocarpo, y en algunos casos, si se formaron ascosporas (ver Cuadro 3, donde se muestran valores para ascospora). En la mayoría de aislados las ascosporas aparecieron más tarde. El peritecio desarrollado a los diez días de crecimiento presenta forma globosa y una coloración muy oscura,

pero el ostíolo es corto, pobremente diferenciado. Esto quiere decir que su desarrollo está incompleto. Esta característica puede ser mucha utilidad en la diferenciación de grupos.

Varias semanas después, la formación de peritecios con cuello ostiolar desarrollado, se vuelve una característica general en todos los grupos reconocidos. El ostíolo se diferencia claramente provisto de un cuello que frecuentemente es de tonalidad más clara que el resto del cuerpo. Con ocho ascosporas encerradas en ascas pecioladas de forma clavada y hialinas tal como lo describe Hanlin (1990). No fue posible la observación del resto de estructuras dentro del cuerpo, como las paráfisis, epífisis, debido a la presión y la capacidad del equipo utilizado.

Otra característica microbiológica de Colletotrichum spp. Muthappa (1971), en estudios realizados en la India, encontró que las esporas de Colletotrichum coffeanum var. virulans producen apresorio a una temperatura de 20 - 25 °C, y que fuera de este rango la espora puede germinar pero sin producir apresorio. Esta aseveración concuerda con los resultados descritos, porque el proceso fue observado a temperatura de 22 °C. La germinación de las esporas no solo fue observada en Colletotrichum coffeanum sino también en todas las especies del hongo que fueron encontradas asociadas al sistema.

Agrios (1991) refiere que el hongo germina a través de dos tubos germinativos en el que uno de ellos origina un apresorio, que se

encarga de realizar la infección. Sin embargo no se tiene la certeza si la formación de esta estructura es parte de su biología o está relacionada con la patogenicidad, como lo ha tratado de demostrar Muthappa (1971) para el hongo causante del CBD.

2.2. Características cuantitativas de la colonia.

En este inciso se comparan nuestros resultados con los obtenidos por Hindorf (1972) para demostrar las diferencias entre la población de Colletotrichum spp en Kenia y Nicaragua.

C. gloeosporioides cca

El porcentaje de variación ha definido claramente, que los valores para el cca son mayores que en la población de Kenia, por tanto no solo difieren cualitativamente sino también cuantitativamente. A consecuencia que el autor no publica sus resultados y solo indica con un símbolo la presencia de estructura, no se ha podido comparar más específicamente acerca de los valores, en peritecios y ascosporas, sin embargo en estos mismos casos coincidimos con la información de la clave puesto que no es frecuente la formación de estas estructuras para el grupo.

CUADRO 5. Comparación cuantitativa de las longitudes medias en el grupo cca.

Variables	Nicaragua (América)	Kenia (Africa)	Variación
conidio (u)	13.3±.4x4.4±.3	10.8±.3x4.5±.5	18
seta (u)	70.6±4.2x2.5±.2	57±9.3x3.4±.1	19
peritecio (u)	(64±4.5x58.5±4.3)	(+)	-
ascospora (u)	-	8.112.2x3.4-4.7	-
C. micel mm/24h	5.7	2.5	56

() ocasionalmente presente.

+ = presente

- = ausente

C. gloeosporioides ccm

Este grupo de crecimiento fue más parecido a la población de Kenia que el caso anterior no solo en sus características morfológicas sino también en las medidas de sus estructuras. La variación fue más pequeña en sus conidios que en cualquier otra estructura.

CUADRO 6. Comparación cuantitativa de las longitudes medias en el grupo ccm

Variables	Nicaragua (América)	Kenia (Africa)	Variación
conidio (u)	12.9±4x3.7±.2	12.8±.7x3.7±.3	0.8
seta (u)	65.5±4x2.3±.2	96.2±17.5x3.1±.4	32
peritecio (u)	44.1±4.4x52.8±3.9	+	-
ascospora (u)	13.9±7x4.8±.3	10.8±16.2x2.7±.1	22
Gmicel mm/ 24h	4.9	4.4	10

+ = presente

- = ausente

C. gloeosporioides Vermeulen

Sin duda este grupo de crecimiento es extraordinariamente parecido al grupo de Kenia. Las cepas fueron aisladas exclusivamente de cerezas verdes, y resultaron ser infecciosas en la prueba de patogenicidad. Realizada en hojas cotiledonales distintamente al grupo de Kenia en que las pruebas fueron realizadas en hipocotilos de 3-5 centímetros de altura y resultaron ser saprófitas aisladas únicamente de corteza de cafetos viejos cuando los peritecios de Glomerella se habían desarrollado.

CUADRO 7. Comparación cuantitativa de las longitudes medias en el grupo Vermeulen

Variables	Nicaragua (América)	Kenia (Africa)	Variación
conidio (u)	16.23±.5x3.13± 2	14.0x4.1	13.7
seta (u)	-	-	-
peritecio (u)	-	-	-
ascospora (u)	-	-	-
Cmicel mm/ 24h	3.5	2.5	28.5

u = micra

- = ausente

C. coffeanum

La comparación de Colletotrichum coffeanum con C. coffeanum var. virulans, la es conveniente para establecer comparaciones entre las características del hongo causante del CBD y el grupo reconocido. La variación entre uno y otro grupo fue muy pequeña. A rasgos generales, los valores obtenidos para cada una de las estructuras de C. coffeanum incluyendo el crecimiento micelial fueron mayores que las del hongo causante del CBD. La diferencia más marcada se observó en la producción de peritecios, no reportado para el hongo causante del CBD. En la descripción de Kenia, el autor describe el tamaño y forma de ascospora. Además, de presentar intervalos para el tamaño de setas. Según Ulloa y Hanlin (1978), la producción de setas solo tiene lugar en acérvulos. El autor de esta misma clave describe que los conidios se producen en conidióforos solitarios y nunca en acérvulos.

En este caso, únicamente la comparación molecular podría despejar la incognita de que si este grupo es el mismo causante del CBD en Kenia. A causa de que el C. coffeanum reconocido en este estudio produce estructuras sexuales no se debería usar el nombre binomial propuesto para el hongo del CBD⁴.

⁴Raoul, A.Muller. 1992. IRCC. El nombre C. coffeanum debe ser utilizado solo para identificar las cepas del hongo cusante del CBD. En este estudio se ha observado la producción de un micelio negro en el que se describen estructuras sexuales. Estas cepas deben ser incluidas en el estudio molecular a llevarse a cabo por el IRCC, para lograr su correcta agrupación debido a que es diferente del CBD y de las formas de C. gloeosporioides.

CUADRO 8. Comparación cuantitativa de las longitudes medias en el grupo C. coffeaanum.

Variables	Nicaragua (América)	Kenia (Africa)	Variación
conidio (u)	15.1±.5x4.9±.3	13.1±.6x3.8±.2	13
seta (u)	95.9±6.3x3.3±.2	91.8x2.7	4
peritecio (u)	83.2±5.4x72±4.9	-	-
ascospora (u)	13.2±.5x4.7±.2	10.8-23x3.4-4.7	18
Cmicel mm/ 24h	5.3	1.9	64

u = micra

- = ausente

El uso de una metodología ya probada ha permitido establecer comparaciones entre la población de Nicaragua (América) y Kenia (Africa). Se descarta que la variación reflejada en los diversos aspectos estudiados se deba al cambio de los diversos equipos o reactivos utilizados para estudiar al hongo in vitro además que se tomaron todas las medidas necesarias para crear condiciones estériles.

De acuerdo a esta prueba, se concluye que existe diferencia significativa entre las longitudes medias de las variables contrastadas, excepto el grupo ccm en el que las ascosporas

resultaron ser similares a las de C. coffeanum (ver Cuadro 9). Anteriormente se ha referido que el grupo ccm fue el único grupo no encontrado en cerezas verdes a diferencia del resto. Sin embargo sus estructuras formadas a los diez días de crecimiento durante la fase conidial difieren totalmente de C. coffeanum; este hecho permite suponer que las longitudes medias de las diferentes estructuras no están relacionadas con el nivel de patogenicidad en la fase conidial.

Por otro lado, la semejanza de las ascosporas y el no aislamiento de la especie como agente causal afirma que la fase perfecta en los distintos grupos es la misma, aunque se hayan encontrado algunas variaciones morfológicas (tonalidad, apariencia, etc.) y por el contrario la fase perfecta, parece no tener importancia fitopatológica, puesto que el hongo fue estudiado en las cepas de Colletotrichum spp como un resultado adicional.

No obstante, la fase perfecta podría tener importancia en el ciclo biológico del hongo como método de sobrevivencia en el mejoramiento genético de las especies debido a la recombinación de genes y su adaptabilidad a las nuevas condiciones ambientales y agronómicas. En el presente estudio este supuesto no se puede afirmar, puesto que el muestreo se realizó durante la estación lluviosa en la que no fue posible observar estructuras de Glomerella cingulata y únicamente tuvo lugar la formación de estructuras asexuales en lesiones de hojas y ramitas.

Queda la duda del porqué no se observaron signos de Glomerella spp. in vivo durante el diagnóstico preliminar, si la fase tiene lugar junto con el estado conidial de Colletotrichum spp in vitro.

CUADRO 9. Análisis de las longitudes medias de los intervalos para Colletotrichum mediante la prueba de "t".

Patrón de comparación	Resto de grupos estudiados					
	cca		ccm		Vermeulen	
C. coffeanum conidios 15.1±5	13.3±4	2.0 10.8*	12.9±4	2.0 12.2*	16.23±5	2.0 5.3*
seta 95.9±6.3	70.6±4	2.1 10.8*	65.5±4.4	2.1 11.1*	-	-
peritecio 83.2±5.4	64±4.5	2.4 5.1*	44.1±4.4	2.3 7.2*	-	-
ascospora 13.2±5	-	-	13.9±7	2.6 1.5+	-	-

* = diferencia estadística.

+ = semejanza estadística

- = estructura no evaluada (estructura no formada)

Otro estudio realizado en las mismas fincas de muestreo a confirmado que el hongo desarrolló diferentes epidemias⁵ durante el período de 1991-92. Este resultado presenta cierta complementariedad con lo observado, puesto que los grupos estudiados además de ser diferentes estadísticamente estaban distribuidos en áreas específicas del sistema. Encontrándose las formas más agresivas en las fincas mejor manejadas, donde los productores no tienen dificultades económicas para su mantenimiento.

3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

3.1. Prueba con cereza verde

De acuerdo a los resultados, esta prueba no puede ser utilizada para evaluar patogenicidad puesto que no se puede garantizar totalmente la esterilidad del material.

Aunque las cerezas estaban aparentemente sanas, y fueron desinfectadas en alcohol, se sospecha que hayan sido infectadas en el campo por dos razones. En primera instancia el haber encontrado conidios de Colletotrichum spp, y otros hongos aparentemente saprófitos como Cephalosporium spp, y Fusarium spp.

⁵ M.Acevedo y E.Marengo. 1992. Epidemias de la antracnosis del café. UNA. En la VI Región la antracnosis del café presenta diversas epidemias. Esto se comprobó mediante la comparación estadística de los intervalos de incidencia y severidad en el que ninguno de ellos se traslapa, es decir que son diferentes.

En segundo lugar la reacción observada en los testigos (frutos no inoculados) que se expresó en manchas más grandes y de coloración similar a los inoculados. Esta reacción se desarrolló en un tiempo más corto por lo que los frutos no fueron tratados ni incubados como el material de prueba.

Nutman y Roberts (1960) también realizaron un estudio similar en el que obtuvieron una elevada esporulación de conidios (en el que el número de conidios era similar al obtenido en medio de cultivo) pero sus resultados carecieron de validez debido a que los cafetales en donde se había recolectado el material de prueba, estaban infectados por el hongo. La utilización de cerezas no parecen dar resultados confiables debido a que es muy difícil garantizar su esterilidad, aunque otros autores como Gibbs (1969), Hindorf (1970), y Avelino (1992) la recomiendan.

3.2 y 3.3. Patogenicidad en radículas y hojas cotiledonales

Las pruebas en radícula y en hojas cotiledonales permitieron verificar la capacidad patogénica de Colletotrichum coffeanum y Colletotrichum gloeosporioides Vermeulen. Se encontró que Colletotrichum coffeanum puede causar ahogamiento en las semillas que han germinado, y que también puede causar infección en plántula. Cook (1971,1974) recomienda la técnica de inoculación de hipocotilos de 3-5 centímetros de altura para verificación de patogenicidad y susceptibilidad de variedades. En el estudio se utilizó la metodología de Cook en dos estados de crecimiento más tempranos de Coffea arabica L. para evaluar posteriormente en

tejido maduro (hojas verdaderas, tallos de posturas) de uno o dos años de edad bajo condiciones controladas de laboratorio y en campo.

Avelino (1992) sugiere que la utilización de plántulas para pruebas de patogenicidad no es recomendable. Las plántulas durante sus primeros días de vida sobreviven del tejido embrionario que le suministran sus cotiledones, y bajo estas condiciones el vegetal es muy susceptible a cualquier daño o a la invasión del hongo. Es probable que esto ocurra, pero no existe hasta este momento un estudio realizado sobre los niveles o la edad a la que el vegetal realmente se vuelve susceptible a la invasión por desbalance nutricional y no por la patogenicidad del parásito. La manifestación de síntomas en plántulas con hojas muy verdes y un talluelo fuerte (ver Lámina 11B) contradice la suposición planteada por Avelino (1992). Además, que fue posible el reaislamiento del hongo en medio de cultivo a partir del tejido inoculado. Este resultado comprueba que el parásito es capaz de desarrollar patogenicidad.

CONCLUSIONES

Colletotrichum spp de Coffea arabica en Nicaragua es cualitativamente similar a Colletotrichum spp en Kenia (Africa) pero no idéntico. El hongo presenta variación en la manifestación de síntomas y en las características en medio de cultivo de acuerdo a nuestras condiciones .

Cada una de las poblaciones encontradas causa diferente síntoma en hojas. En el resto de órganos (frutos y ramitas) es difícil diferenciarlos, puesto que son muy parecidos.

Las cepas de C. coffeanum, C. gloeosporioides cca y Vermeulen fueron aislados apartir de cerezas verdes, excepto C. gloeosporioides ccm.

Las cerezas afectadas finalmente sufren momificación, es decir que la infección tiene lugar en la pulpa de la cereza, y en la semilla.

C. coffeanum y C. gloeosporioides cca fueron aislados de ramas con síntomas de muerte regresiva que a su vez habían perdido el follaje en un 100%.

El hongo Fusarium spp fue aislado de cerezas verdes de café infectadas por C. coffeanum, se desconoce la relación del hongo con C. coffeanum y si realmente es un saprófito en el sistema.

C. gloeosporioides cca y C. coffeanum fueron encontrados en la IV y VI Región.

C. gloeosporioides ccm solo fue encontrado en la IV Región.

C. gloeosporioides Vermeulen solo fue encontrado en la VI Región.

C. coffeanum Noack puede causar ahogamiento en radículas y muerte regresiva en plántulas con dos hojas cotiledonales al igual que C. gloeosporioides Vermeulen.

Aún no se tiene la certeza de la presencia de C. coffeanum var. virulans causante del CBD en Nicaragua.

La forma del conidio fue importante para reconocer a las poblaciones de cada una de las especies del hongo, en medio de cultivo.

RECOMENDACIONES

Debe continuarse investigando sobre las especies actuales de Colletotrichum y los síntomas de la enfermedad a fin de reforzar el estudio realizado. En dicho estudio deben considerarse otros factores que influyen en el sistema, y no limitarse a estudiar únicamente al patógeno-planta. Entre los factores que debían ser incluidos están la fertilidad del suelo, la disponibilidad de nutrientes en el suelo, el balance nutricional del vegetal, la conservación de suelo, y la influencia de otros parásitos sobre el sistema.

Las cepas aisladas comúnmente de cerezas verdes deben ser sometidas a pruebas de patogenicidad en hipocótilo maduros u hojas.

Las cepas de Fusarium que se lograron aislar de cerezas verdes en asocio con C. coffeanum deben ser sometidas a pruebas de patogenicidad, por separado y combinada a fin de determinar el efecto de dicha asociación.

Debe determinarse el comportamiento de cada una de las poblaciones encontradas en el estudio y su efecto en la producción.

Debe realizarse un estudio cartográfico en el que se describa detalladamente la incidencia de todas las formas del complejo Colletotrichum bajo condiciones meteorológicas de cada zona cafetalera a fin de verificar la presencia del hongo hongo causante del CBD

Bibliografía citada .

- AGRIOS G.N. 1991. Fitopatología . 4ª reimpresión. México. Editorial Limusa. 756 p.
- ALEXOPOULOS, C.J. AND MIMS, C.W. 1985. Introducción a la Micología. 3ª.Edición. Barcelona. Editorial Omega. 637p.
- ALVES, P.A. Y MARTINS,C.G. 1978. XV - A Antracnose do Caffeiro. Inf Agropec. Belo Horizonte. 4 (44): 82- 90.
- ARX, J.A.VON. 1970. A revision of the fungus clasified as Gloeosporium Lehne. 203 p.
- BROWS, L. Y COCHEME, J.A. 1969. A cash crops In: A study of Agroclimatology of the highlands of Eastern Africa. Rome, FAO/UNESCO/WNO. 229 - 60
- CASTAÑO, A.J.J. 1956a. Muerte descendente (Die - back en cafetos de toda edad en varias regiones el departamento del Cauca. Revista Cafetalera de Colombia. 12 (128): 4245-4253
- CASTAÑO, A.J.J. 1956b. Muerte descendente (Die - back) en cafetos de toda edad en varias regiones del Cauca. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Chinchina, Colombia. Investigaciones del Café, Chinchina, Colombia.
- COFFEE RESEARCH STATION. 1978. Control of Coffee Berry Disease and Leaf Rust in 1978. Kenya Coffee, February. Technical Circular. (36) 38 - 42
- COSTE, R. 1975. Café. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. 1ª reimpresión. Barcelona. Editorial BLUME. 285 p.
- COOK, R.T.A. 1971/1974. CRS. Annual reports.
- FERNANDEZ, B.O. 1961. Muerte descendente de los brotes del cafeto causadas por especies de Phoma y Colletotrichum. Cenicafe. 12(3) 127 - 146
- FURTADO, I. 1969. Effects of Copper fungicides of the occurence of the pathogenic form of Colletotrichum coffeanum. Trans

- GARCIA, I. Y LEMMA, H. 1988. Aspectos bioecológicos de Colletotrichum coffeanum Noack causante de la antracnosis del café. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana. 15 p.
- GIBBS, J.N. 1969. Inoculum sources for Coffee Berry Disease Ann. Appl. Biol. 64 : 515 - 522.
- GONGORA, G.J.1991. Reconocimiento y distribución de las principales enfermedades fungosas que afectan al cultivo del café (Coffea arabica L.) en el Depto de Matagalpa, Región VI , Nicaragua. Tesis Mag. Sc. Turrialba. Costa Rica. CATIE. 89 p.
- GUTIERREZ, L.H. 1954. Muerte descendente causada por Colletotrichum en las plantas de café en el almácigo y su combate por medio de aspersión en Turrialba y Costa Rica. Turrialba. 4:115 - 123 p
- GRIFFITH, E. 1968. Control of Coffee Berry Disease. Kenya Coffee. 393 - 396. p.
- HANLIN, R. T. 1990. Illustrated Genera of Ascomycete descriptions e illustration of genera. 2ª impresión. United State of America. APS- PRESS. 263 p.
- HERNANDEZ, C.O.V. 1979. Consideraciones básicas sobre el " Coffee Berry Disease"(CBD) del café (Colletotrichum coffeanum Noack. Informe anual del Organismo Internacional de Sanidad Agropecuaria. OIRSA. 9 p
- HINDORF, H. 1970. Colletotrichum spp isolated from Coffea arabica L in Kenya. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten Pfl. Path.Pfl.Schutz. 77: 328 - 338.
- HINDORF, H. 1972. Qualitative und quantitative Unterschiede in Kenya. I Eine Methode zur systematischen Trennung von pincelpopulationen. Phytopath. Z. 77: 216 - 234.
- HINDORF, H. Y MUTHAPPA, B.N. 1974. A comparison of Colletotrichum coffeanum Noack from south India and Kenya.

- HINDORF, H. 1975. Colletotrichum occurring on Coffea arabica L.a review. J. Coffee Res. 5 (3/3) : 43 - 56.
- KRANZ, J. 1977. Colletotrichum coffeanum Noack, In: Disease, pest and weed in tropical crops. Edited by Kranz, Schmutterer and Koch. Verlag and Paul Parey. Berlin. 180 -182.
- LEHMANN, H. 1987. Microbiología fitopatológica. Curso práctico. 4a. Edición. Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz. Georg-August-Universität Göttingen. República Federal de Alemania. 94 - 95 p.
- MACDONALD, J. 1926. A preliminary account of a disease of green coffee berries in Kenya Colony. Trans. Brit. Mycol.Soc. XI. 145 - 154 p..
- MARTINEZ, C.M. Y ZAMBRANO, C. (s.f.). Variantes morfológicas del género Colletotrichum a diferentes pisos altitudinales asociados al cultivo del Café (Coffea arabica L.) en la región centro occidental de Venezuela. (Solo resumen). Fitopatología Venezolana. _____:41-41.
- MEJIA, A.E.J. 1990. Caracterización y evaluación de diferencias en el manejo del café (Coffea arabica L.) en dos municipios de Matagalpa, Nicaragua. Tesis Mag. Sc.Turrialba. Costa Rica. CATIE. 102 p.
- MOLLRING, F.K. (s.f.). La microscopía desde el principio. Zeiss. Oberkochen Alemania Occidental. 66 p.
- MULLER, R.A. 1992. Algunos aspectos de un problema patológico grave que constituye una amenaza para la caficultura latinoamericana. La antracnosis de los frutos del Café arabica (Coffee Berry Disease o CBD). Instituto Francés de Café y Cacao (IRCC). _____:124-132 .
- MULING, S.K. 1971. Effect of altitud on the distribution of the fungus causing coffee berry disease in Kenia. Ann app.Biol. 67:93 - 98..
- MUTHAPPA, B.N. 1971. Studies on Colletotrichum coffeanum in

- India. Cultural studies and the factors affecting spore germination. J. Coffee Res. 1:3-8.
- MUTHAPPA, B.N. 1976. A note on the fungus Colletotrichum on Coffee in South India. Division of Plant Pathology, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station. Chikmagalur Distrito, Karnataka State. Indian Coffee. 68 - 69 p.
- NOACK, D. 1091. Die karankheiten des kaffeebaume in Brasilien Colletotrichum coffeanum n. sp. Z.pflanzenkrankh. 2:196 - 203
- NUTMAN, F.J. 1970. Coffee berry disease. PANS, London. 16(2):277 - 86.
- NUTMAN, F.G. & ROBERTS, F.M. 1960. Some factors affecting germination to disease distribution. Transactions of the British Mycological Society. 43(4):643-59.
- NUTMAN, F.J. Y ROBERTS, F.M. 1970. A Note on posible natural inhibitor of germination in Colletotrichum coffeanum Noack. East African Agricultural and Forestry Journal. ____:229-230.
- RAYNER, R.W. 1948. Latent infection in Coffea arabica L. Nature (Londres), CLXI. 4085:245-246.
- RAYNER, R.W. 1952. Coffee berry disease - a survey of investigations carried out up to East African Agricultural Journal. 17:130 - 58.
- ROMERO, C.S. 1988. Hongos Fitopatógenos . 1ª Edición. Mexico. Dpto. de Publicaciones de la Dirección de difusión. 347p.
- SCHIEBER, E; ZENTMYER, G.A; MITCHELL, D.J. Y ROHEIN, J. 1970. Coffee berry disease necrosis in Guatemala and Costa Rica. Phytopatology. 60(11):1542-1542.
- TALBOT, P.H.B. 1978. Principles of Fungal Taxonomy. 2ª reimpresión. London. The Macmillan. PRESS LTD. 274 p.
- TWIST, T.K. & COLTMAN, W.F. 1966. Organic Matter and Healty Coffee Berry Disease and Quality. Coffee Kenya. (Junio).____7p.
- ULLOA, M. Y HANLIN R. 1978. Atlas de Micología Básica. Editorial

CONCEPTO B.A. 1ª Edición. México. 158 p.

- VARGAS, E. 1977. Estudio sobre la resistencia química la Mancha Mantecosa causada por Colletotrichum spp. Turrialba C.R. 27(4):343 - 351.
- VAN DER VOSSEN, H.A.M. 1975. Pathogenic and Saprophytic Colletotrichum species present on Coffea arabica L. in South y Central América. Coffee Research Station, Ruiru, Kenya. 15 p.
- VERMEULEN, H. 1970. Coffee berry disease in Kenya; II the role of Glomerella cingulata in the Colletotrichum population colonizing the bark of Coffea arabica. Netherlands Journal of Plant Pathology. 76(5):285 - 92.
- WALLER, J.M. 1982. Some mycological aspects of the Coffe Berry Disease pathogen. Proc. 1st Reg. Wakshop "coffee berry disease". Addis Abbaba (July). __:125-130.

Anexo. 1

Colletotrichum SSP. AISLADO DE Coffea arabica L. EN KENIA.

por H. Hindorf

(Tropical institute of the Justus Liebig University, Giessen, Department of Phytopathology and Applied Entomology).

El medio usado fue Extracto de Malta Agar al 2% conteniendo 0.02% de estreptomycin. Las observaciones de los aislados en el medio son dados en la tabla adjunta. Las características en medio de cultivo fueron tomadas después de 10 días de crecimiento de cada aislado.

1. Colletotrichum coffeanum var. virulans

Inicialmente el micelio cambia después de 4-6 días a gris y eventualmente a café oliváceo oscuro. Las hifas son color café oscuro o gris escasamente septadas y normalmente contiene poco guttulae (células : $18,2 \pm 3,7 \times 4,0 \pm 0,5$ u.). Los conidios son siempre producidos en el ápice de hifas solitarias, nunca en acérvulos; su forma y tamaño son variables. El estado perfecto Glomerella cingulata (Stonem) Spauld . & Schrenk, nunca ha sido observado y existe la tendencia de usar el nombre binomial Colletotrichum coffeanum para la forma patogénica de las cerezas verdes, el que quizás es un clon de Glomerella cingulata que no tiene éxito para producir el estado perfecto como ha sugerido Kranz (1967).

La descripción original está basada en cepas del Brasil las cuales fueron definitivamente no patogénica en las cerezas verdes. Nosotros proponemos el nombre Colletotrichum coffeanum para el patógeno solo cuando su estado perfecto no haya sido encontrado. Estas cepas causan la enfermedad de las cerezas verdes (CBD) correspondiente a la variedad virulans de Rayner y a las cepas del CBD ("var. virulans") de Gibbs el cual puede afectar las cerezas en todos los estados de crecimiento especialmente las cerezas verdes que están en pleno desarrollo, botones florales, flores, hojas y en la corteza. El patógeno solo es común en la cerezas verdes pero raro en las otras partes del cafeto.

2. Colletotrichum acutatum Simmonds.

La forma con micelio rosado (ccp de Gibbs) es blanco durante los primeros días de crecimiento, luego cambia a rosado y después en su interior aparece un halo rojo o negro. La hifa es hialina o rosada y abundantemente septada con poco contenido de guttulae (células: $14.6 \pm 1.8 \times 3.4 \pm 0.8$ u). Las masas de los pequeños conidios se producen básicamente en el ápice de hifas solitarias, pero el hongo desarrolla normalmente acérvulos negros y alargados después de algunas semanas, rodeados frecuentemente de un micelio blanco grisáceo. El tamaño y el tipo de conidio son características significativas de esta especie. Colletotrichum acutatum fue separado de C. gloeosporioides Penz en 1965 por Simmonds basándose en lo atenuado de sus conidios.

3. Colletotrichum gloeosporioides

Las características comunes en este hongo (ccm de Gibbs) son la coloración blanco grisáceo del micelio, la producción de conidio en hifa solitaria y en acérvulo, y la capacidad para producir peritecios del estado perfecto Glomerella cingulata después de algunas semanas. Las hifas del micelio son hialinas, escasamente septadas con bajo contenido de guttulae (células: $19,2 \pm 4,1 \times 4,1 \pm 0,4$ u). Los conidios son variables en tamaño y en forma. Las cepas son comunes en hoja y corteza, acasionalmente presentes en cerezas viejas y secas.

4. Colletotrichum gloeosporioides

La forma de micelio verde grisáceo. El hongo fue aislado por Vermeulen (Comunicación personal) a partir de ascosporas de Glomerella cingulata. El micelio inicialmente es blanco y después de algunos días cambia a un color verde grisáceo o café grisáceo. Nunca adquiere el color típicamente oscuro de Colletotrichum coffeanum var. *virulans*. Las hifas pueden ser hialinas o grisáceas regularmente septadas con poco guttulae (células: $15,3 \pm 2,2 \times 3,4 \pm 0,5$ u). Los conidios se producen raras veces en hifas solitarias. Esta raza ocurre ocasionalmente en corteza solo cuando los peritecios de Glomerella cingulata están presente.

5. Colletotrichum gloeosporioides

La colonia de este hongo (cca de Gibbs) produce un micelio blanco aéreo y escaso, que también es estéril; el contenido de guttulae es bajo (células: $13,8 \pm 0,6 \times 5,3 \pm 0,8$ u). Los acérvulos son negros y

alargados y se desarrollan después de varias semanas en el centro de la colonia. Los conidios son distintamente pequeños al resto de formas, son truncados en la base y aguzados en el ápice. Las cepas se encuentran distribuidas solo en la corteza.

6. Glomerella cingulata

Fue aislado ocasionalmente. Su micelio es estéril (células: $15.8 \pm 2 \times 3.1 \pm .4 \mu$). El hongo no produce conidios en hifa solitaria o en acérvulos. Después de 2-3 semanas los peritecios aparecen en pequeños grupos al centro de la colonia. La distribución del hongo está limitada a la corteza y las hojas.

Características en medio de cultivo de *Colletotrichum* spp y *Glomerella cingulata* aislado de *Coffea arabica*.L.

Especies	Tamaño de Conidio o/y ascospora	Forma de Conidio o ascospora.	Acérvulos	Seta	Peritecio	Patogenicidad Colonia.	Crecimiento mm/24h
1 <i>Colletotrichum coffeanum</i>	13.1_0.6x3.8_0.2u (10.8_23x3.4_4.7u)	Cilindrica bordes redondos	- [91.8x2.7u]	-	-	+	1.9/0.5
2 <i>Colletotrichum acutatum</i>	12.1_0.5x3.4_0.2u (9.5_14.9x2.7-4.7)	elisoide o fusiforme alargada con ambos extremos atenuados	[+] 50_14.5	-	-	-	2.5_0.5
3 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	12.8_0.7_3.7_0.3u (10.8-16.2x2.7-4.1)	cilindrica,bordes redondos,a veces atenuados el base	-	96.2_17.5 x3.1_0.4	-	+	4.4_1.2
4 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	[14 x 4.1 u]	cilíndrica,alargada o curvada,bordes redon- dos,a veces atenuado.en el ápice	-	-	-	[+]	2.5_0.2
5 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	10.8_0.3x4.5_1u (8.1-12.2x3.4-4.7)	alargada o redondeadas a menudo truncada en la la base y aguzada en el	+ 57_9.3	-	[+]	-	2.5_0.2
6 <i>Glomerella cingulata</i>	14_0.6x4.4_0.2u (15.5-20.3x4.1-5.4)	curvada.atenuada en ambos extremos	-	-	-	+	3.4_0.5

+ = presente
- = ausente

[] = ocasionalmente presente.

Anexo 2.

Glomerella Spauld. & H. Schrenk por R. Hanlin

Ascoma en peritecio ostiolado, obpyriforme a subgloboso, glabruos o pelo por todos lados del ostiolo, parcialmente o completamente inmerso en el tejido del hospedero, solo y disperso o agregado, algunas veces con clipeo pobremente desarrollado por todos lados del cuello ostiolar; cuello ostiolar inconspicuo o corto, a menudo más pálido que el resto del ascoma, cubierto con perífisis. Pared ascomática pseudoparenquimatosa, células externas de pared gruesa y pigmentado, células internas aplanadas y hialinas. Asca unitunicada, pared fina generalmente cilíndrica o ligeramente clavada o elipsoide con ápice redondo o nonamyloide, césil o con pecíolo corto de 4-6-8 esporas. Ascosporas unicelulares, hialinas en ascas bicariadas, elipsoidal o subcilíndrica, alargada o curvada, a menudo inaequilátera, de longitud inferior que 20 um.

menudo inaequilátera, de longitud inferior que 20 um.

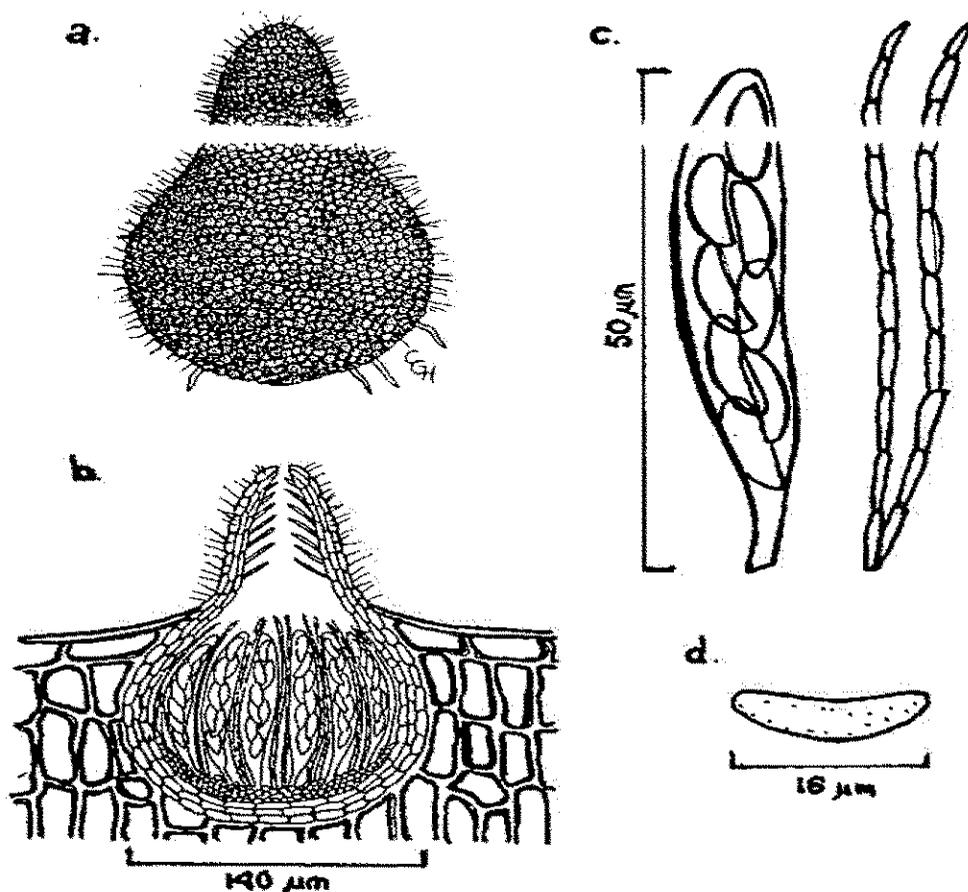
Forma asexual : Colletotrichum

Habitat : Parásito o saprófito en el tejido vascular de las plantas.

Especie representativa : Glomerella cingulata (Stoneman) Spauld . & H. Schrenk , causante de la pudrición amarga de la manzana.

Comentarios : Glomerella se distingue de Physalospora Niessl por el tamaño pequeño del ascomata y ascosporas, por lo general ascas clavadas, y anamórfica.

Referencias : Arx and Muller, 1954; Derris , 1981; Munk, 1957; Viégas,1944; CMI 133, 315.



Glomerella cingulata a. Peritecio maduro b. Sección de peritecios a través de una hoja, con paráfisis, ascas y ascosporas, y cuello ostiolar cubierto con perífisis . c. Paráfisis y ascas con ascosporas d. Ascospora madura.

ANEXO 3

GLOSARIO¹

ACERVULO- cuerpo fructífero asexual, subepidérmico y en forma de plato, que produce conidióforos cortos y conidios.

AGAR- sustancia de consistencia gelatinosa que se obtiene de las algas marinas y que se utiliza para preparar medios de cultivos en los se cultiva y se estudia a los microorganismos.

ANTRACNOSIS- enfermedad caracterizada por la presencia de manchas en hojas y en frutos, ocasionadas por hongos que producen sus esporas asexuales en un acérvulo.

AISLADO- una sola espora o cultivo y los subcultivos que se derivan de ellos. Se utiliza también para indicar las colecciones de un patógeno obtenidos a diferentes tiempos.

AISLAMIENTO- separación de un patógeno de su hospedero en medio nutritivo

ASCOCARPO- cuerpo fructífero que porta o contiene las ascas de los ascomycetos.

ASCA- hifa en forma de saco que contiene ascosporas (por lo común ocho).

ASCOSPORA-espora sexual que se forma en un asca.

ASCOMYCETOS-grupo de hongos que producen sus esporas sexuales o ascosporas, dentro de ascas.

APRESORIO-extremo inchado de una hifa o tubo germinativo que facilita la fijación y penetración de un hongo en su hospedero.

CEPA-progenie de un solo aislamiento.en un cultivo puro.

Este glosario se extrajo del texto de FITOPATOLOGIA escrito por George N. Agrios. 1991. Cuarta reimpression. México, D.F. 756p.

CONCENTRICO-que forma un centro en torno a otro con un centro en comun...

CONIDIO-espora asxual que generalmente se produce sobre la porción terminal o a un lado del conidióforo.

CONIDIOFORO- hifa especializada sobre la cual se forman uno o más conidios.

ESPORA- unidad reproductiva de los hongos, constituida por una o varias células. Es una estructura análoga a la semilla de las plantas verdes.

ESTADO PERFECTO- estado sexual (p.e. los cuerpos fructíferos) del ciclo de la vida del hongo.

ESTERILIZACION- Eliminación de microorganismos mediante calor o sustancias químicas.

HIFA- ramificación individual de un micelio.

HONGO- organismo indiferenciado que carece de clorofila y de tejidos conductores.

HONGO IMPERFECTO- hongo del que se desconoce que se produzca esporas sexuales.

INFECCION- establecimiento de un parásito dentro de una planta hospedera.

HOSPEDERO- planta que es invadida por un parásito y de la cual éste obtiene sus nutrientes.

IN VITRO- en cultivo, fuera del hospedero.

MICELIO - hifas o masas de hifas que constituyen el soma de un hongo.

MUERTE REGRESIVA- muerte progresiva de retoños, ramas, y raíces que por lo general se inicia en las puntas.

OSTIOLO- abertura en forma de poro de los peritecios y picnidios a través de los cuales las esporas salen del cuerpo fructífero.

PARASITO- organismo que vive a expensas de otro.

PATOGENO- entidad que produce enfermedad.

PERITECIO- ascocarpo de los Pirenomyces en forma de botella o globular que tiene una abertura o poro.

PUSTULA- pequeña protuberancia en forma de ampolla que sobresale de la epidermis conforme emergen las esporas.

SAPROFITO - Organismo que obtiene nutrientes a partir de materia orgánica muerta.

SEXUAL- que interviene en la unión de dos núcleos en la que se lleva a cabo la meiosis; producto que forma de esa unión.

SIGNO- patógenos o productos o proporciones de él, que se observan sobre una planta hospedera.

SINTOMA- reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de su enfermedad.

TUBO GERMINATIVO- crecimiento primario del micelio producido por la germinación de una espora

VARIABILIDAD O VARIACION- propiedad o capacidad que tienen los organismos para cambiar sus características de generación en generación.