



Informe de pasantía en el currículo de Ingeniería Agronómica  
en la especialidad Protección de los cultivos

**Efecto de la sombra y del microclima sobre la dispersión de las uredosporas  
de *Hemileia vastatrix* en sistemas agroforestales de café  
(*Coffea arabica* var. Caturra)  
en Turrialba, Costa Rica.**

Elaborado por:

Isabelle Merle

Asesores en CATIE : Jacques Avelino, Philippe Tixier

Turrialba, Costa Rica

Febrero 2014

## Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi tutor de pasantía, Jacques Avelino, por permitirme trabajar sobre un tema que me interesó mucho y en un ámbito que quería conocer, el de los cultivos tropicales. Quiero agradecerle por su ayuda muy importante en el establecimiento del experimento y el gran interés que mostró por los progresos y resultados de mi trabajo a lo largo de mi pasantía.

Un agradecimiento también al CIRAD por financiar a mi pasantía a través el proyecto SAFSE y al CATIE por haberme acogido y proporcionado un marco de vida agradable durante seis meses.

Para terminar me gustaría agradecer a Jimmy Trinidad Pico Rosado y Eduardo Granados Brenes por su apoyo precioso en mi trabajo de campo.

### 1. Introducción

Entre las enfermedades que afectan actualmente a las plantaciones de café en Centroamérica, la roya anaranjada es motivo de creciente preocupación debido a que la epidemia causó una pérdida del 20% de la producción de América Central<sup>1</sup> en el 2012, provocando la declaración de estado de emergencia en Honduras, Guatemala y Costa Rica.

Causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, esta enfermedad afecta a las hojas vivas de café y puede causar defoliación importante dando como resultado una reducción del rendimiento y un debilitamiento de la planta de café. Este debilitamiento causa pérdidas sobre varios años (Avelino et al., 1999).

Después de su llegada en 1976 a Nicaragua, la roya anaranjada alcanzó, a pesar de los planes de erradicación con el control químico, a establecerse definitivamente en toda América Central para 1986 (Avelino et al., 1999), gracias a la gran capacidad de dispersión de sus uredosporas (Bowden et al., 1971). En efecto, aunque *H. vastatrix* puede producir teliosporas y basidiosporas, la principal forma de multiplicación del hongo es la uredospora debido a su morfología más adaptada a la supervivencia, la dispersión y la infección (Fernandes et al., 2009). Una vez establecido, el hongo completa varias veces su ciclo de vida para propagarse más o menos rápidamente según las condiciones ambientales.

Se observó que la simplificación, es decir la reducción de biodiversidad en los sistemas agrícolas, ofrece condiciones favorables a un alto nivel de vulnerabilidad a los patógenos. De esta observación se iniciaron numerosos estudios tratando de determinar los efectos de la biodiversidad sobre la dinámica de las plagas y enfermedades (Ratnadass et al., 2012). Entre esas prácticas, la sombra, proporcionada por los sistemas agroforestales, es un factor cuyos efectos sobre la enfermedad siguen siendo controvertidos. En efecto, algunos estudios demostraron que la sombra favorece la etapa de infección de la roya (Staver et al., 2001), otros que la perturba (Soto-Pinto et al., 2002), pero lo más probable es que la sombra tiene efectos antagonistas sobre las distintas fases de infección por el hongo (Avelino et al., 2004; Lopez-Bravo et al., 2012). Sin embargo, ningún estudio epidemiológico fue realizado sobre el efecto de la sombra sobre la fase de dispersión de *H. vastatrix*, un proceso clave en la propagación de la enfermedad. Trabajos previos de Becker, realizados en 1977 en Kenia (Becker, 1977; Becker y Kranz, 1977), permitieron mejorar los conocimientos sobre los medios de dispersión de la roya. Se observó que el viento y los cosechadores eran los principales vectores de dispersión de la uredosporas de *H. vastatrix*, la lluvia pareció afectarla a menor grado y la dispersión por los insectos no era relevante (Becker, 1977). Los resultados y las alternativas de mejoramiento de estos trabajos nos sirvieron de base para diseñar el experimento y elegir los factores de estudio.

Por lo tanto, en nuestro estudio se propuso evaluar el efecto del microclima, en parcelas con condiciones extremas de exposición al sol (sombra densa y pleno sol), sobre la dispersión

---

<sup>1</sup> <http://www.cirad.fr/actualites/toutes-les-actualites/communiqués-de-presse/2013/rouille-orangee>

de las uredosporas de *H. vastatrix*. El propósito era clarificar la función del sombreado en el manejo integrado de la roya anaranjada del café.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Ubicación y características del área de experimento

El experimento fue realizado en la finca experimental del CATIE, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica, de agosto a diciembre 2013, en el área dedicada al ensayo de sistemas agroforestales con el cultivo de café. Las coordenadas geográficas ubican el ensayo en el paralelo 9°53'44" de latitud norte y el meridiano 83°40'7" de longitud oeste, a una altitud de 685 msnm (Haggar et al., 2011). Entre 2000 y 2011, los datos meteorológicos de la estación del CATIE indican una precipitación promedio anual de 3037 mm, una temperatura promedio de 22°C, humedad relativa promedio de 89.6% y radiación solar promedio de 15.7 Mj/m<sup>2</sup>.

El ensayo fue establecido en el año 2000 y se extiende sobre 9.2 hectáreas. El cultivar de café utilizado fue *Coffea arabica* L. - cv. Caturra, plantado en agosto del mismo año colocando dos arbustos por punto de siembra para a una densidad de siembra de 5000 plantas por hectárea (Haggar et al., 2011). Este sitio se divide en tres bloques incluyendo parcelas principales que cuentan con una distribución de la sombra de diferentes árboles forestales y subparcelas donde se realizan distintos tratamientos en términos de fertilización y control de las malezas y plagas.

### 2.2. Factores en estudio

En este ensayo, se utilizan tres tipos de árboles de sombra: el Poró (*Erythrina poeppigiana*), el Cashá (*Chloroleucon euryciclum*) y el Roble (*Terminalia amazonia*). Tienen características distintas en términos de función y de manejo (Cuadro 1). Actualmente, en los árboles de Poró, se practican dos tipos de poda dependiendo del tratamiento, una poda drástica y una poda regular. La poda regular se efectúa a 4.5 m de altura y se realiza dos veces por año. La poda drástica consiste en la eliminación de la copa a dos metros de altura al inicio del año (diciembre a enero), manteniendo solo 3 ramas (Sánchez, 2011). La presencia de cada una de estas especies, sola o en asociación con otra, ofrece siete distintos niveles de sombreado incluyendo el nivel de sombra cero correspondiente a las parcelas en pleno sol.

**Cuadro 1:** Características de los árboles de sombra del ensayo (Haggar et al., 2011).

Especie	Leguminosa	Copa	Uso
<i>Erythrina poeppigiana</i>	Si	baja	servicio
<i>Chloroleucon euryciclum</i>	Si	alta	madera
<i>Terminalia amazonia</i>	No	alta	madera

Se practican cuatro niveles de manejo agronómico en el ensayo con respeto a la fertilización foliar y del suelo, y el control de plagas y malezas (Cuadro 2).

En el caso de nuestro estudio y debido al limitado número de trampas de esporas disponible, el experimento fue realizado en dos combinaciones de factores, con el propósito de estudiar el efector del factor sombra. Así, se comparó la dispersión entre dos parcelas con el mismo manejo agronómico, medio convencional (MC), y condiciones extremas de exposición al sol: una con sombra densa (SD), es decir la asociación de *Chloroleucon euryciclum* y *Erythrina poeppigiana*, la otra sin sombra (SS).

**Cuadro 2:** Características de los niveles de manejo agronómico del ensayo.

Intensidad de manejo agronómico	Fertilización del suelo	Fertilización foliar	Control de las malezas	Control de las enfermedades
Alto Convencional (AC)	Fertilizante completa (1000 kg/ha) 310 kg N/ha	Minerales (MULTIM, boro, zinc)	Herbicidas	2 aplicaciones de cobre y un fungicida sistémico (CIPROSOL)
Medio Convencional (MC)	Fertilizante completa (500 kg/ha) 180 kg N/ha	Minerales	Herbicidas en carril, chapeas en calle	2 aplicaciones de cobre y un fungicida sistémico (CIPROSOL)
Medio Orgánico (MO)	Gallinaza (10 t/ha) KMAG (100 kg/ha)	Biofermento con minerales	Chapeas selectivas	3 aplicaciones caldo bordelés, 1500g/ha
Bajo Orgánico (BO)	Brosa de café (5 t/ha)	No	Chapeas selectivas	No

### 2.3. Metodología de toma de datos

#### 2.3.1. Datos de micro clima



Anemometro



Sensor de temperatura y de humedad relativa

**Fotografía 1:** Sensores de velocidad del viento y temperatura/humedad relativa que se utilizaron en las estaciones meteorológicas

Se establecieron en dos parcelas con condiciones de sombra extrema (sombra densa y sol) un data logger (Hobo weather station), un anemómetro (HOBO wind Speedy smart sensor), un sensor de temperatura de aire y humedad relativa (Temperature/RH smart sensor S – THB - M00x) (fotografía 1). El último sensor proporcionaba también los valores del punto de rocío.

Los sensores fueron ubicados a la par de las plantas de café, organizados de la misma forma en cada parcela experimental, en cuanto a su ubicación, altura del suelo. Durante todo el estudio se mantuvieron instalados los sensores en los ensayos, dándoles mantenimientos de limpieza y cambio de tutores de cada sensor.

El data logger (Hobo weather station) se programó para realizar una lectura cada 30 segundos y registrar un promedio cada 15 minutos. En el caso del anemómetro, se registran de la misma manera una velocidad promedio cada 15 minutos y una velocidad máxima de ráfagas con lecturas realizadas cada 2 segundos. Para la recopilación de la información que registra el data logger Hobo se utilizó el programa Hobo Ware. Cada 8 a 15 días se recolectaba la información generada por los sensores, durante el tiempo que duraron los ensayos de campo. Se realizó un proceso de calibración de los sensores de humedad relativa.

Los datos de pluviometría se obtuvieron gracias a la estación meteorológica del CATIE. Se utilizaron las medidas de un pluviógrafo mecánico proporcionando datos continuos en milímetros.

### 2.3.2. Datos de dispersión



**Fotografía 2 :** Dispositivo de trampeo (a), trampa Burckard® (b), trampa Rotorod® (c).

Para monitorear la dispersión de las esporas de roya, se instalaron dos tipos de trampas, conocidas como Buckard® y Rotorod® (fotografía 2), en el centro de dos parcelas: el testigo en la parcela sin sombra con manejo medio convencional (SSMC) y el otro en la parcela con sombra densa y manejo medio convencional (SDMC) del mismo bloque. Se cambió de bloque semanalmente.

El establecimiento de los sitios de trampeo, es decir la instalación de poste de metal para colocar las trampas Burkard y de madera para las trampas Rotorod y su timer, se realizó a partir del 12 de agosto 2013. Previo al establecimiento definitivo del experimento se realizaron pruebas, con el propósito de calibrar el funcionamiento de la trampa (movimiento del tambor y aspiración de la trampa Burkard y tiempo de rotación de la trampa Rotorod), así como chequear el rendimiento de las baterías.

Así, el dispositivo, instalado en el centro de la parcela de interés, incluye una caja enganchada al poste de metal, cerrada con un candado para proteger las tres baterías de 12V necesarias, y dos trampas remotas de 1,30 m para que la presencia de la una no influya las medidas de la otra: una trampa Burkard ubicada a una altura de 1,50 m y una trampa Rotorod ubicada a más o menos la mitad de la altura de las plantas de café, es decir 1,20 m de altura.

### **Principio de funcionamiento de las trampas Burkard® y Rotorod®**

La trampa Burkard consiste en un motor, que permite la aspiración del aire en una cámara por una ranura de succión de dimensiones 14 mm x 2 mm. En el estudio, se fijó la aspiración a 10 litros de aire por minuto. En esta cámara gira un tambor con un tiempo de rotación que puede ser de 1 hora hasta 7 días. Este tambor está cubierto con una cinta recubierta con vaselina sólida, lo que permite pegar las partículas suspendidas en el aire que pasan frente a la entrada. Esta trampa funciona en continuo, así se puede calcular la concentración de esporas de roya dispersadas en seco en el tiempo.

La trampa Rotorod consiste en un motor que hace girar una barra metálica donde se colocan dos palitos de poliestireno transparente, de dimensiones 1,52x1,52x32mm. Al girar con una velocidad de 2400 rpm, los palitos se levantan gracias a la fuerza centrífuga y colectan las esporas que se pegan sobre el borde de ataque gracias a una capa de grasa de silicona. Esta trampa funciona la décima parte del tiempo. En efecto, usando un timer, se fija el tiempo de funcionamiento a un minuto para un tiempo de reposo de diez minutos.

### **Procedimiento de trampeo**

El experimento empezó el 26 de agosto de 2013, durante el periodo de cosecha, y se acabó el 16 de diciembre de 2014 (el experimento sigue en el marco de la tesis de maestría de Jimmy Pico). Y cada semana, los dispositivos se ubicaban los días lunes a las 8 a.m. y se retiraban los días jueves a las 8 a.m. para que las baterías no se agoten. Durante los tres días de captura, se trataba de ir tres veces al campo, cada día, para cambiar los palitos de la trampa Rotorod, a las 8:00 a.m., 12:00 a.m. y 4:00 p.m., y verificar cada vez la carga de las baterías y el nivel de la aspiración de la trampa Burkard. También, cada día se contaban las esporas encontradas sobre los palitos recogidos mientras que las cintas de las trampas Burkard fueron analizadas los días de jueves y viernes. Se cambiaba de bloque cada semana.

## Conteos al microscopio óptico

Al laboratorio, se hacían los conteos de uredosporas recogidas por las trampas utilizando un microscopio óptico y con el zoom x10 para un aumento de x100.

De tamaño promedio 23  $\mu\text{m}$ , la uredospora de *H. vastatrix* se reconoce fácilmente gracias a su color amarillo debido a la presencia de pigmentos carotenoides, y a su forma reniforme, equinulada sobre su mitad superior y lisa sobre su parte inferior.

Para realizar los conteos y calcular después las concentraciones de uredosporas, se utilizó el protocolo descrito en anexo.

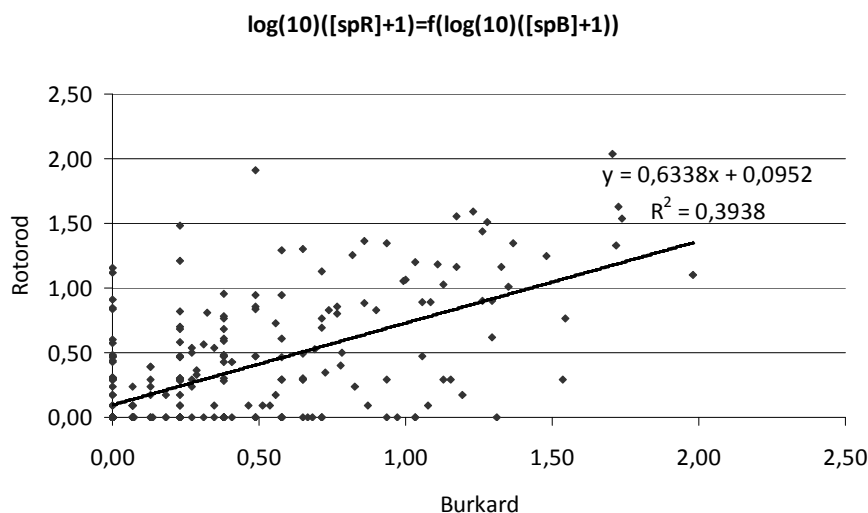
### 2.3.3. Variables y análisis estadística

En el estudio, la utilización de dos tipos de trampas incluye una comparación de su eficiencia de captura. Por eso, la variable “[spB]”, concentración de esporas por metro cúbico por hora, calculada con de la trampa Burkard, más precisa, fue transformada al formato de la variable “[spR]”, concentración de esporas por metro cúbico por periodo de captura, calculada con la trampa Rotorod. Así, se pudo hacer una regresión lineal entre los datos proporcionados por las dos trampas.

Con el fin de elaborar un modelo de dispersión de las uredosporas de roya anaranjada, se analizó el efecto de cada uno de los factores del clima (excepto mojadura) y del factor sombra, así como de las interacciones dobles sobre la variable “spB”, es decir el numero de esporas contadas por hora. Las variables de clima explicativas fueron las variables “Raf” (ráfaga máxima por hora en metros por segundo), “P” (pluviometría por hora en milímetros), “HR” (humedad relativa por hora en %) y “tsl” (tiempo sin lluvia, es decir número de horas desde el fin de la última lluvia). La variable respuesta, “spB”, es una variable de conteo, entonces se utilizó la ley estadística de Poisson en un modelo de tipo modelo lineal generalizado mixto (GLMR). Los factores climáticos y el factor sombra fueron considerados como factores fijos. Los bloques “bloc”, “sem” (número de semana desde el inicio del experimento) y “cosecha” (cosecha o no en el bloque de interés) fueron integrados como variables aleatorias para tener en cuenta su influencia sin estudiar su efecto.

## 3. Resultados

### 3.1. Comparación de eficiencia entre la trampa Burkard y la trampa Rotorod



**Gráfico 1 :** Regresión lineal entre las variables [spB] y [spR] transformadas ( $P < 0.001$ )

Existe una relación significativa entre la concentración de esporas capturadas por la trampa Burkard y la trampa Rotorod (gráfico 1) aunque no se instalaron a las misma altura. Sin embargo, el análisis muestra que la trampa Burkard ofrece una eficiencia más importante

a bajas concentraciones de esporas en el aire. En efecto, cuando se calculaba una concentración cero de esporas con la trampa Rotorod, en 43.6% de los casos la trampa Burkard lograba capturar esporas, mientras sólo se encontró 23.6% en el caso contrario.

### 3.2. Efecto del microclima y de la sombra sobre la dispersión de las uredosporas

#### 3.2.1. Modelo lineal generalizado mixto (glmr)

En esta parte, se utilizaron únicamente los datos proporcionados por la trampa Burkard, porque se podía tener datos por hora en vez de periodos de cuatro o dieciséis horas con la trampa Rotorod. Por lo tanto, en los siguientes análisis, se estudió únicamente la dispersión en seco de la uredosporas de *H. vastatrix*. El modelo lineal generalizado mixto nos permitió estudiar el efecto de los factores de interés, solos o en interacciones dobles, sobre la dispersión en seco de las uredosporas. Antes de empezar el análisis, se trató de eliminar las interacciones cuyos factores estaban demasiado vinculados. Así, no se incluyeron en el modelo la interacción entre la pluviometría (P) y la humedad relativa y la interacción entre la humedad relativa (HR) y el tiempo sin lluvia (tsl). Además, para aumentar la precisión estadística de los resultados, se decidió no tener en cuenta los datos de trampeo entre las 10pm y las 7am porque de noche siempre se observaba una dispersión en seco cerca de cero.

Se nota que son más las interacciones entre factores que los mismos factores las cuales tienen un efecto sobre la dispersión en seco de las uredosporas (cuadro 3a). En efecto, en comparación con las interacciones, los factores climáticos P, tsl, HR y Raf tienen un efecto mínimo sobre la dispersión en seco de las uredosporas. El modelo definitivo de previsión de la dispersión en seco fue el siguiente :

**m0<-glmer(spB~sombra +sombra :P+ sombra :tsl+sombra :HR+P :Raf+tsl :Raf+HR :Raf+(1|bloc)+(1|sem)+ (1|cosecha), family="poisson", data=t)**

**Cuadro 3:** Significancia de los efectos de todos los factores, solos o en interacción doble (a) significancia de los efectos de los factores de interés, solos o en interacción (b) (\*\*\*, P<0.001; \*\*, P<0.01; \*, P<0.05)

(a)	Dif(AIC)	P-value
sombra	22,3	8,13E-9***
P	0	1
tsl	0	1
HR	0	1
Raf	0	1
sombra : P	10,1	0,00052***
sombra : tsl	132,4	2,2 <sup>E</sup> -16***
sombra : HR	24,7	2,4 <sup>E</sup> -7***
sombra : Raf	-2	0.96
P : tsl	0,2	0.135
P : Raf	24,9	2,13E-7***
tsl : Raf	35	1,17E-9***
HR : Raf	33,2	3,06E-9***

(b)	Dif(AIC)	P-value
sombra	68,2	2,2E-16***
sombra : P	90,9	2,2E-16***
sombra : tsl	221,8	2,2E-16***
sombra : HR	59,3	1,8E-14***
P : Raf	27,8	4,7E-8***
tsl : Raf	22,5	7,6E-6***
HR : Raf	111,9	2,2E-16***

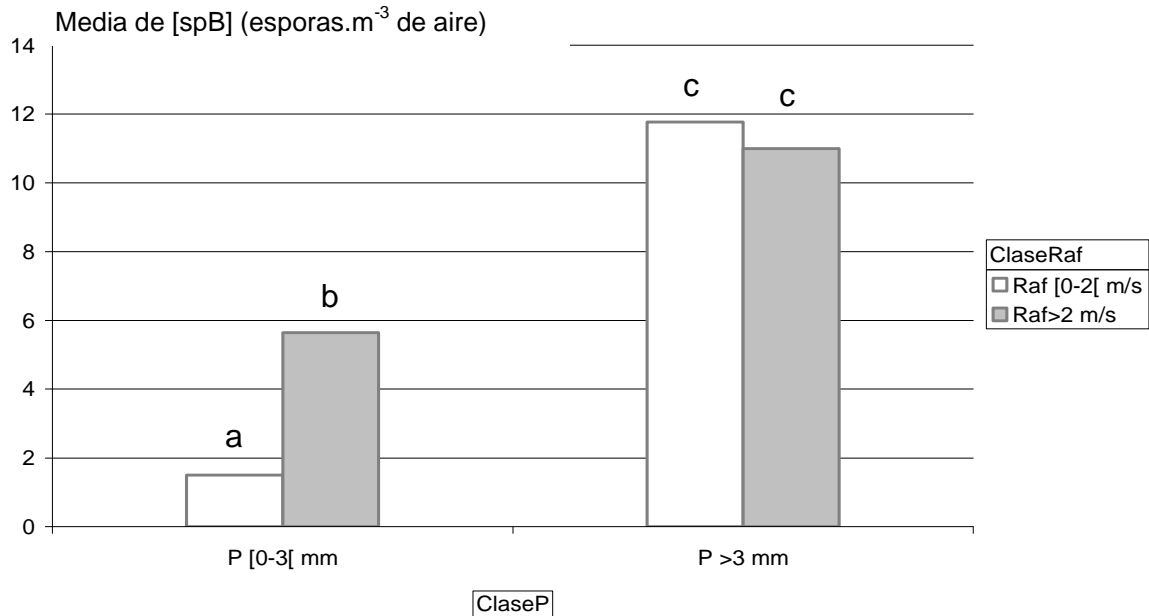
La significancia se evalúa calculando la diferencia de AIC (criterio de explicación del modelo) entre el modelo completo y el modelo excluyendo la variable considerada. Una gran diferencia de AIC significa que la variable tiene un gran poder de explicación.

A través de la significancia de los efectos de los factores de ese modelo definitivo, aparece que la sombra sola influencia menos la dispersión en seco que la sombra en interacción con factores climáticos.



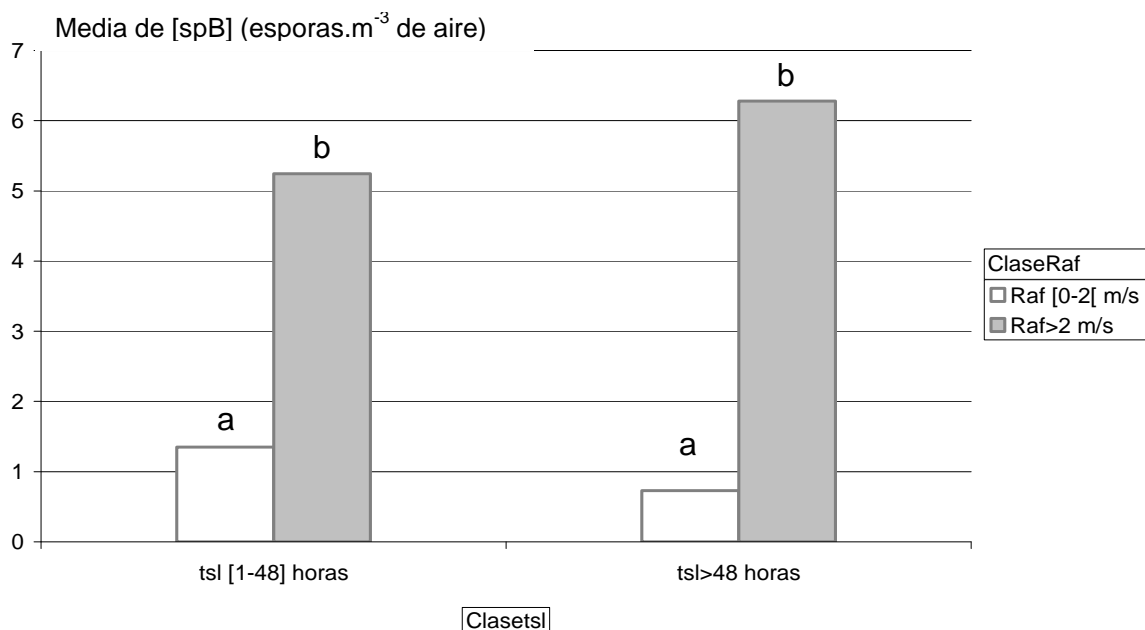
Desgraciadamente, seis meses de toma de datos de dispersión no permitieron tener efectivos bastante importantes en los rangos extremos de combinaciones de los factores. Por eso, no se analizaron las representaciones en tres dimensiones propuestas por el modelo de previsión.

### 3.2.2. Análisis del efecto de las interacciones de interés sobre la dispersión de la roya



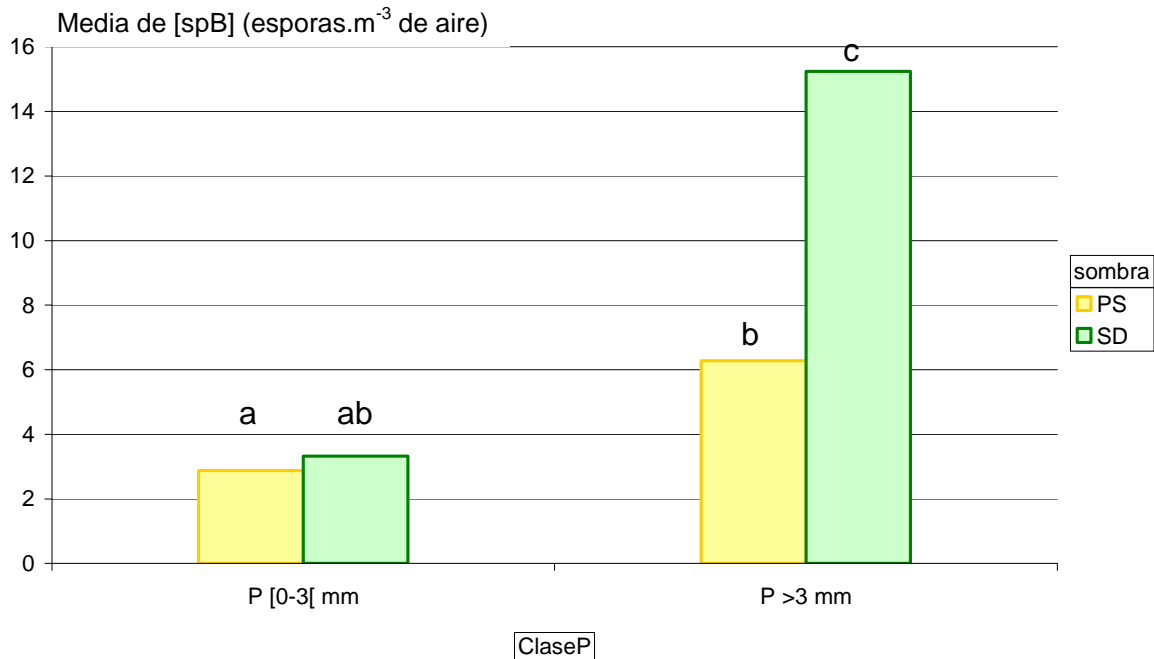
**Gráfico 2 :** Representación del efecto de la interacción de los factores de ráfagas y pluviometría sobre la dispersión en seco de las uredosporas de *H. vastatrix*.

En ausencia de lluvia o con muy bajos valores de pluviometría, la presencia de ráfagas de velocidad superior a 2m.s<sup>-1</sup> permite observar una dispersión en seco de las uredosporas tres veces más importante que en ausencia de ráfagas (gráfico 2). Las ráfagas aparecen como un medio eficiente de dispersión en seco. Sin embargo, a pluviometría más fuerte, la presencia o ausencia de ráfagas no influye de manera significativa en la dispersión en seco, aunque ésta aumentó en ambos casos. La presencia de lluvia neutralizó el efecto de las ráfagas.



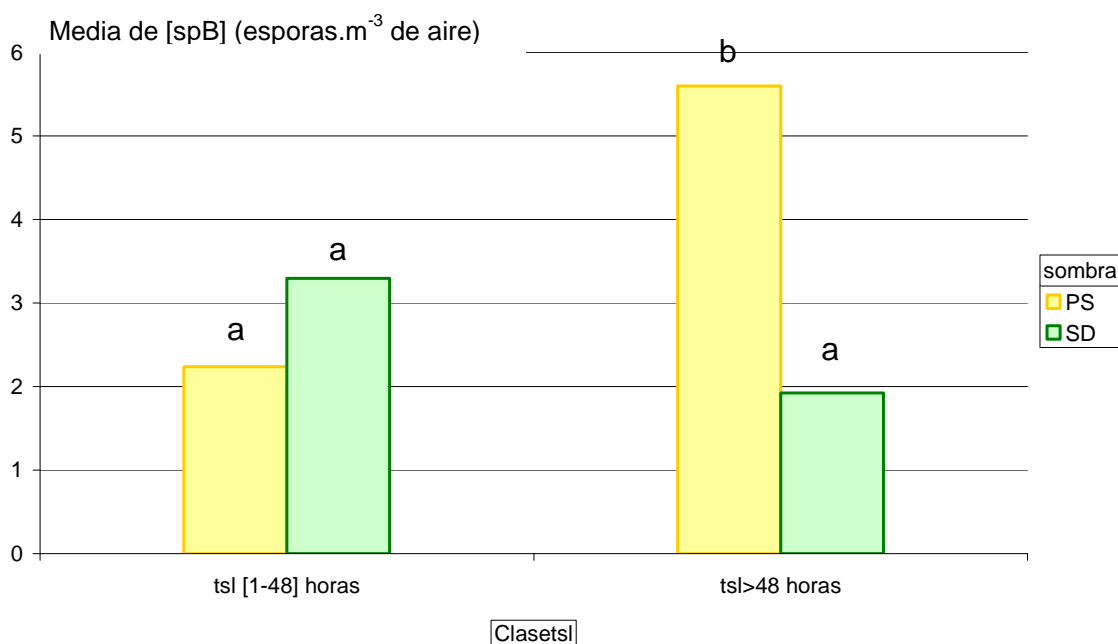
**Gráfico 3 :** Representación del efecto de la interacción de los factores de ráfagas y tiempo sin lluvia sobre la dispersión en seco de las uredosporas de *H. vastatrix*.

La variable “tsl” permite estudiar el efecto de periodos largos sin lluvia sobre la dispersión. En la estación lluviosa, cuando se hizo el experimento, estos periodos eran cortos. Para tener buenos efectivos, se crearon únicamente dos categorías: de una hora a dos días sin lluvia, y más de dos días sin lluvia. En el gráfico 3, como ya se notó en el gráfico 2, se observa que las ráfagas aumentan el fenómeno de dispersión en seco, pero no se observa un efecto significativo de la interacción entre las ráfagas y el tiempo sin lluvia, posiblemente porque esta interacción era la menos significativa de todas.



**Gráfico 4 :** Representación del efecto de la interacción de los factores de sombra y pluviometría sobre la dispersión en seco de las uredosporas de *H. vastatrix*.

A bajo nivel de pluviometría, entre 0mm y 3mm por hora de lluvia, la sombra no tiene un efecto significativo sobre la dispersión en seco (gráfico 4). Cuando aumenta la pluviometría, también aumenta la dispersión en seco en ambos niveles de sombra. Pero el efecto es mucho más importante bajo sombra con una concentración promedia de esporas por metro cúbico de aire alrededor de 15 contra 6 esporas por metros cúbicos de aire en pleno sol.



**Gráfico 5 :** Representación del efecto de la interacción de los factores de sombra y tiempo sin lluvia sobre la dispersión en seco de las uredosporas de *H. vastatrix*.

Con más tiempo seguido sin lluvia, la dispersión en seco sigue igual en presencia de sombra, pero aumenta de manera significativa en pleno sol (gráfico 5). En pleno sol, después de dos días sin lluvia la dispersión en seco aumenta de más del doble hasta una concentración promedio de más de 5 esporas.m<sup>-3</sup> de aire. Pero tampoco alcanza el nivel de dispersión en seco que se puede observar en el gráfico 4, con una concentración promedio de 15 esporas.m<sup>-3</sup> de aire.

#### 4. Discusión

Este experimento primero tenía como objetivo de estudiar el efecto de la sombra y el microclima sobre la dispersión en seco y por la salpicadura de las uredosporas de *H. vastatrix*. Por eso, se había instalado dos tipos de trampas: Burkard para la dispersión en seco y Rotorod para la dispersión en seco y por la salpicadura. Sin embargo, la trampa Burkard apareció más eficiente que la trampa Rotorod. La hipótesis más probable para explicarlo sería la diferencia de funcionamiento de las trampas. En efecto, la trampa Rotorod funciona de manera pasiva mientras que la trampa Burkard, aspirando el aire, funciona de manera activa. Además, la toma de datos con la trampa Rotorod era por periodos de varias horas, mientras la trampa Burkard proporcionaba datos en continuo. Por lo tanto, el análisis se enfocó sobre los datos de la trampa Burkard es decir la dispersión en seco de las uredosporas.

Los factores climáticos en interacciones, pero también el manejo de la sombra en interacción con el clima, tienen un efecto sobre la dispersión en seco de las uredosporas de *H. vastatrix* en sistemas agroforestales de café.

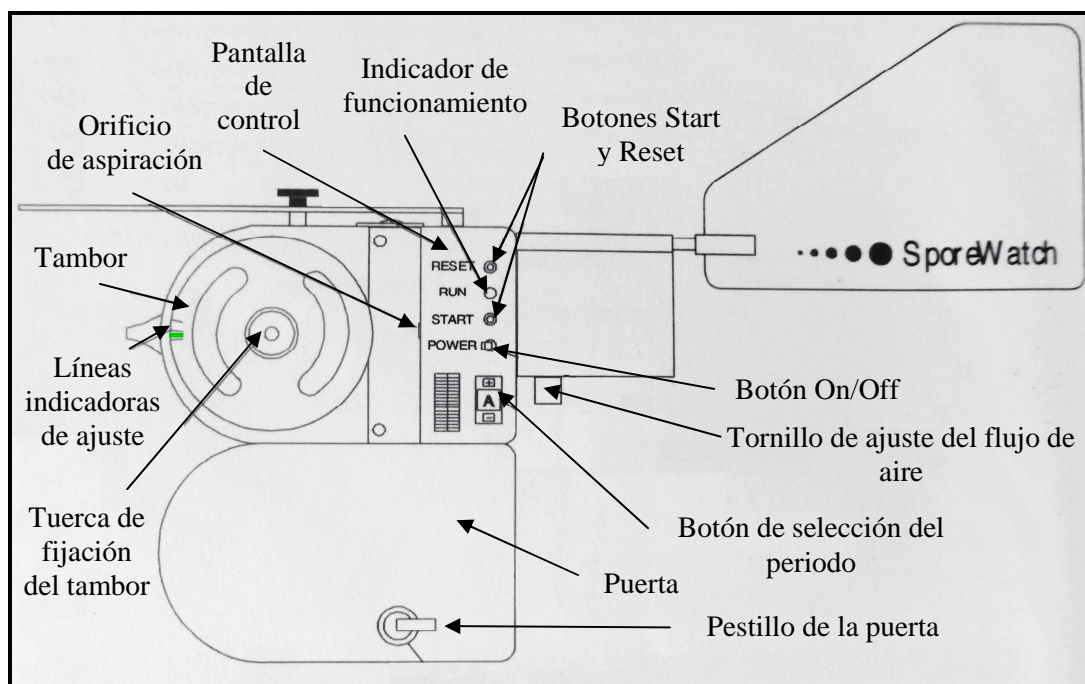
Los dos factores climáticos que influyen más la dispersión en seco de las uredosporas son las ráfagas y la pluviometría. En efecto, al contrario del tiempo sin lluvia, son factores “activos” que provocan movimientos del follaje y entonces la liberación de las uredosporas. En el caso del factor ráfagas, el fenómeno de dispersión en seco es lógico y en el caso de la lluvia, son los impactos de las gotas los que provocan la liberación de las uredosporas. En sistemas agroforestales, los árboles interceptan las gotas pero crean gotas de tamaño más importante, por efecto de canalización. Estas caen después con más o menos velocidad, sobre las hojas de café, en función de la altura de los árboles. En nuestro caso, teníamos sombra de Cashá (en asociación con Poró) de gran tamaño, superior a 15 m, lo cual podría explicar la mayor dispersión observada. Además, los árboles disminuyen el fenómeno de lavado que neutraliza la dispersión en seco en pleno sol.

Después de días seguidos sin lluvia, el efecto de las ráfagas no parece tener más eficiencia sobre la dispersión en seco. Pero se observa un cambio completo de tendencia, la dispersión se vuelve más fuerte en pleno sol. La ausencia de sombra puede provocar un estrés del sistema cafeto/hongo mientras que la sombra permite mantener una humedad relativa más alta. El aumento de dispersión en pleno sol tendría como causa un mecanismo de supervivencia, es decir de producción de uredosporas por del hongo en frente al debilitamiento de su huésped. Para comprobar la realidad de esta hipótesis, sería necesario establecer una relación entre la dispersión y la producción de uredosporas de *H. vastatrix*.

Las conclusiones de este estudio podrían explicar, en parte, la epidemia de 2012. Ese año presentó periodos secos, intercalados con periodos húmedos. Este clima especial pudo favorecer una producción importante de uredosporas durante los periodos secos, uredosporas que se dispersaron sobre todo durante los periodos húmedos.

## Referencias bibliográficas

- Avelino, J., Muller, R.A., Eskes, A., Santacreo, R., y Holguin, F., 1999. *La roya anaranjada del café: mito y realidad*, in: *Desafíos de la caficultura en Centroamérica*, B. Bertrand y B. Rapidel, Editores, IICA: San Jose. p. 194-241.
- Avelino, J., Willocquet, L., y Savary, S., 2004. *Effects of crop management patterns on coffee rust epidemics*. *Plant Pathology*. **53**(5): 541-547.
- Becker, S., 1977. *Diurnal periodicity in spore dispersal of Hemileia vastatrix in relation to weather factors* *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **84**(10): 577-591.
- Becker, S. y Kranz, J., 1977. *Comparative studies on the dispersal of Hemileia vastatrix in Kenya*. *Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. **84**(9): 526-539.
- Bowden, J., Gregory, P.H., y Johnson, C.G., 1971. *Possible wind transport of coffee leaf rust across the Atlantic ocean*. *Nature*. **229**: 500-501.
- Fernandes, R.d.C., Evans, H.C., y Barreto, R.W., 2009. *Confirmation of the occurrence of teliospores of Hemileia vastatrix in Brazil with observations on their mode of germination*. *Tropical Plant Pathology*. **34**(2): 108-113.
- Haggar, J., Barrios, M., Bolaños, M., Merlo, M., Moraga, P., Munguia, R., Ponce, A., Romero, S., Soto, G., Staver, C., y Virginio, E. de M.F., 2011. *Coffee agroecosystem performance under full sun, shade, conventional and organic management regimes in Central America*. *Agroforestry Systems*. **82**: 285-301.
- Lopez-Bravo, D.F., Virginio-Filho, E.D.M., y Avelino, J., 2012. *Shade is conducive to coffee rust as compared to full sun exposure under standardized fruit load conditions*. *Crop Protection*. **38**: 21-29.
- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J., y Habib, R., 2012. *Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review*. *Agronomy for Sustainable Development*. **32**: 273-303.
- Soto-Pinto, L., Perfecto, I., y Caballero-Nieto, J., 2002. *Shade over coffee: its effects on berry borer, leaf rust and spontaneous herbs in Chiapas, Mexico*. *Agroforestry Systems*. **55**(1): 37-45.
- Sánchez, E., 2011. *Efecto de la sombra y del manejo del café sobre la dinámica poblacional de (Hypothenemus hampei Ferrari) en frutos nuevos y remanentes en Turrialba*. MSc tesis, CATIE, Costa Rica.
- Staver, C., Guharay, F., Monterroso, D., y Muschler, R.G., 2001. *Designing pest-suppressive multistrata perennial crop systems: shade-grown coffee in Central America*. *Agroforestry Systems*. **53**: 151-170.



*Figura 1: Esquema técnico de la trampa Burkard*

#### • Preparación y ubicación de la cinta

- Colocar el tambor (Figura 1) en el apoyo proporcionado por Buckard® para instalar la cinta
- Poner un pedazo de cinta adhesiva doble cara al nivel de la raya negra central con el propósito de sujetar la cinta. La anchura de este pedazo no tiene que alcanzar la raya negra de derecha o la raya verde
- Colocar la banda en el tambor, con una pinza limpia, asegurando que se aplica correctamente en su superficie
- Usando una espátula, aplicar la vaselina sólida sobre la banda, en sentido horario
- Refinar la capa de vaselina con un trozo de cinta para facilitar la observación de esporas
- Colocar el tambor en la caja de protección especialmente prevista para transportarlo, evitando tocar los bordes.

#### • Montaje del tambor y puesta en marcha de la trampa

- Una vez en el campo, instalar el tambor en la trampa Burkard colocando la raya verde enfrente de la línea verde en la parte fija de la trampa que indica la posición de la entrada del aire
- Apretar la tuerca (Figura 1) para fijar el tambor en esta posición
- Conectar la trampa a las baterías
- Ajustar el tiempo de rotación a 4 días<sup>2</sup> gracias al botón de selección del periodo (Figura 1)
- Colocar el botón On/Off en posición "On" para iniciar la aspiración

<sup>2</sup> El tiempo de rotación de 4 días permite la división de la cinta en trozos representativos de 12 horas.

- Usando el sensor de flujo de aire Burkard y el tornillo en la parte atrás de la trampa (Figura 1), ajustar el flujo de aire a 10 L/min. La parte superior del indicador debe estar a la altura de la marca 10 L/min
- Pasar una aguja en la parte baja de la ranura de succión de la trampa, para marcar sobre la cinta el inicio de la captura de uredosporas
- Presionar el botón “Start” para iniciar la rotación del tambor
- Cerrar la trampa y aplicar silicona alrededor de la puerta para que sea hermética
- Verificar frecuentemente el nivel de la aspiración que puede disminuir con el nivel de carga de las baterías, que la ranura de succión no sea obstruida y que la trampa pueda girar correctamente.

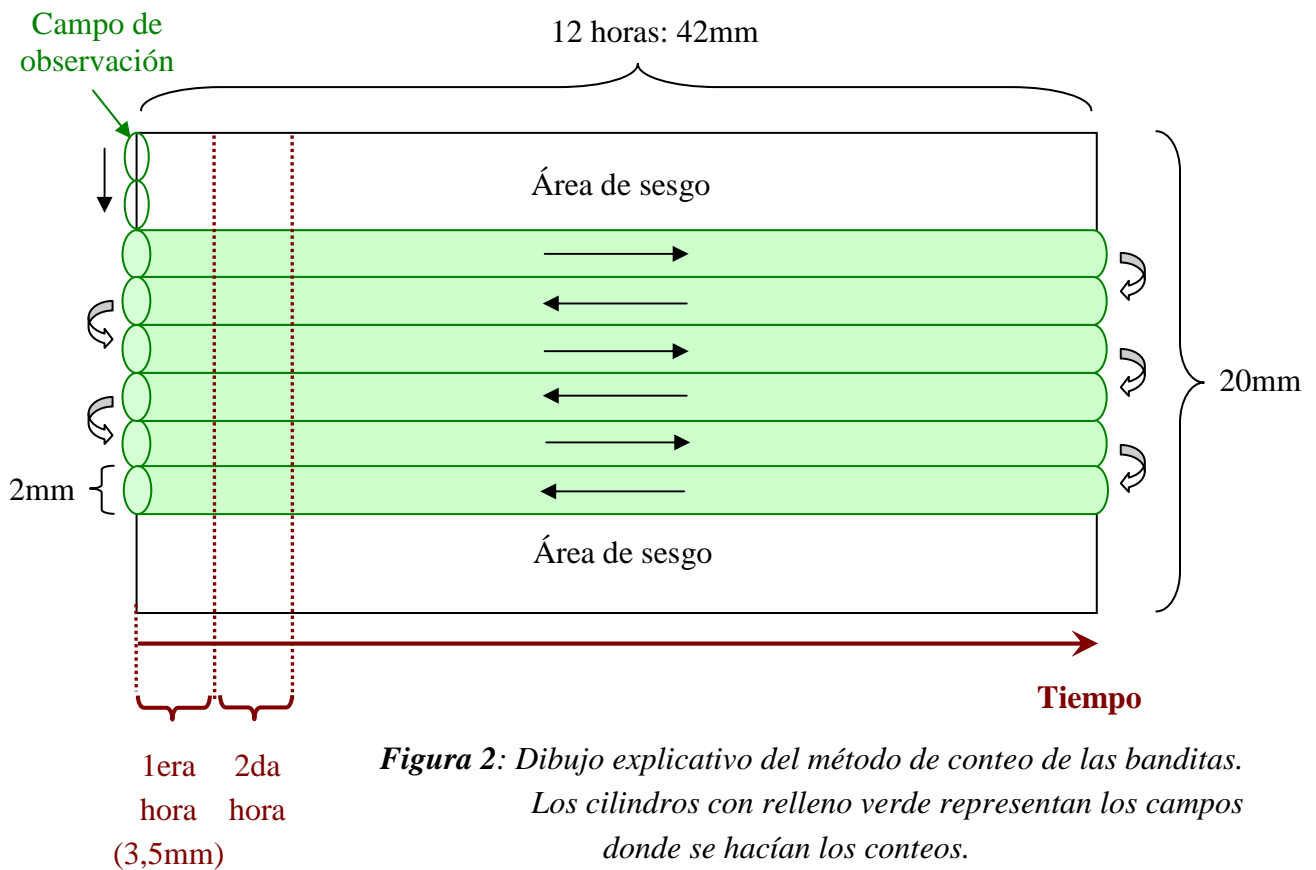
- **Recolección de la cinta y preparación de los portaobjetos**

- El jueves, después de tres días de captura, abrir la trampa para apagarla y recoger el tambor
- De nuevo, colocar el tambor en la caja de protección especialmente prevista para transportarlo, evitando tocar los bordes
- Una vez en el laboratorio, instalar el tambor en el apoyo proporcionado por Buckard®
- Con una pinza limpia, quitar la cinta del tambor en el sentido antihorario y colocarla en la regla medidora de tal manera que la marca hecha con la aguja en la extremidad inicial se encuentre en el nivel de la primera graduación
- Usando las pequeñas graduaciones de la regla y un escalpelo afilado, cortar banditas de 42mm que corresponden a 12 horas de captura (336mm corresponden a 4 días de captura)
- Poner una gota de agua sobre cada uno de los portaobjetos necesarios
- Colocar las 6 banditas obtenidas sobre los portaobjetos (lado de captura por encima), gracias a una pinza (se puede tocar los bordes de la cinta porque no pasan a delante de la ranura de aspiración)
- Mantener cada portaobjetos en una caja de Petri hasta el conteo, asegurando que se puede reconocer el inicio y el fin de cada bandita.

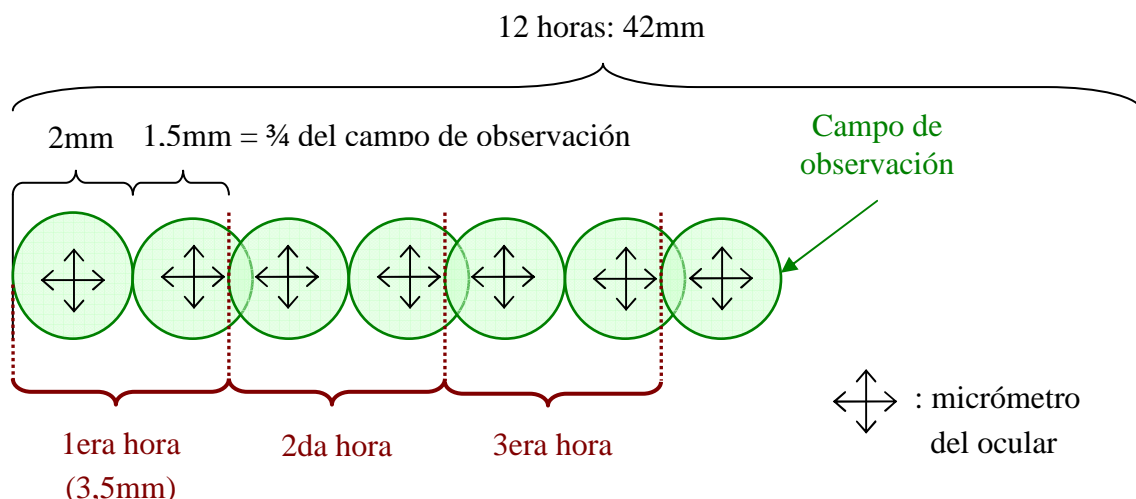
- **Conteos de las uredosporas**

El conteo de las esporas de roya (de tamaño cerca de 25µm) se hacía con el uso del microscopio óptico con el zoom x10, es decir un aumento de 10x10=100, verificando con el zoom x40 en caso de duda. Con el zoom x10, el campo de observación es de 2mm. Observar toda la bandita toma mucho tiempo, entonces la mayoría de los autores sólo leen una porción de las banditas.

En nuestro estudio, se observaba la porción central y paralela a la dirección de rotación de la cinta con el fin de tener en cuenta el área de sesgo que no pasa en frente de la ranura de aspiración, pero también evitar de leer solamente un fragmento de cada hora. En efecto, con el método de lectura perpendicular a la dirección de rotación de la cinta, se lee un fragmento de tiempo en cada hora, en general la media hora central, lo cual puede llevar a un sesgo si las capturas de la fracción de hora seleccionada son diferentes de las de la fracción no seleccionada. En cambio, la lectura longitudinal permite tener una lectura continua sobre la banda sin seleccionar fracciones de tiempo. Quedan fuera del conteo las áreas longitudinales extremas de la banda donde las capturas son en principio menores por escape de las esporas hacia fuera de la banda. Este sistema de conteo se describe a continuación:



- Instalar el portaobjeto en la plataforma del microscopio
- Con el zoom x10, buscar la esquina inferior izquierda de la bandita
- Mover de dos campos de observación hacia arriba para empezar la lectura en el tercer campo
- Observar toda la línea (Figura 2)
- Cada vez que se encuentra una espora o un grupo de esporas, anotar en que graduación del microscopio se encontró
- Al final de la observación de la línea, volver al inicio de la banda para determinar las horas de captura con el método presentado en la figura 3.
- Anotar el numero de esporas encontradas y las horas correspondientes
- Seguir el conteo cambiando de línea (Figura 2) hasta la línea sexta



- **Calculo de la concentración**

Para calcular las concentraciones de esporas a partir de los conteos hay que tener en cuenta el tamaño de la porción observada en cada hora sobre las banditas y también el volumen de aire aspirado por la trampa en cada hora.

$N$  : numero de esporas encontradas por hora

$A$  : ancho del área de conteo

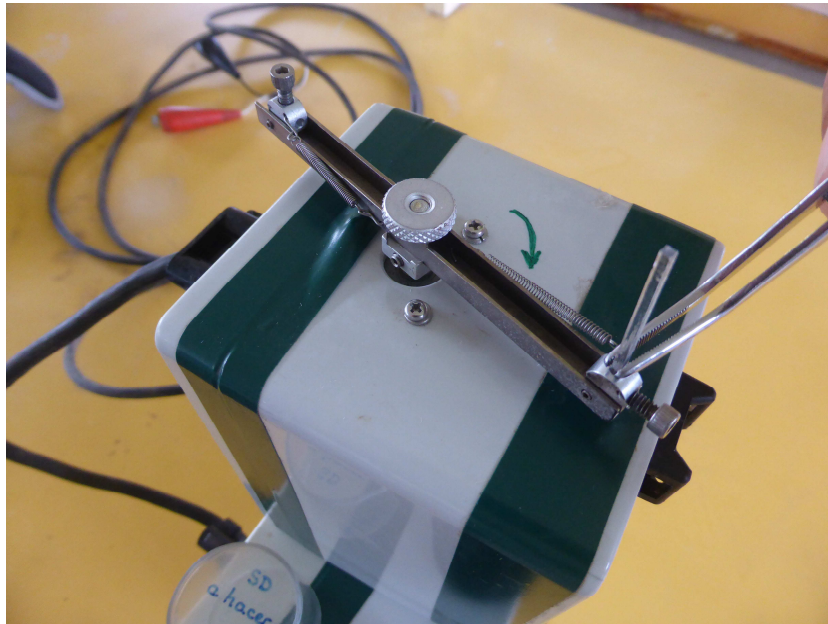
$a$  : ancho del área correspondiente a una hora

$V$  : volumen de aire aspirado por hora (10L/min = 0,6 m<sup>3</sup>/hora)

$C$  : concentración de esporas por hora (esporas/m<sup>3</sup>)

$$C = \frac{NA}{aV}$$

### Protocolo Rotorod



*Figura 4 : Fotografía de trampa Rotorod*

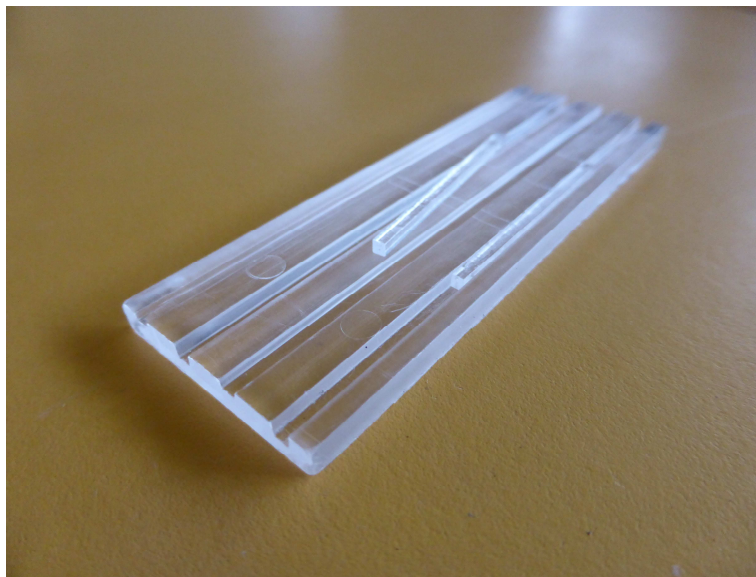
- **Preparación de los palitos y puesta en marcha de la trampa**

- Con la pinza limpia, tomar un palito limpio y, usando un guante de látex, poner una capa fina de grasa de silicona
- Colocar los palitos cubiertos de grasa de silicona en la cajitas de protección especialmente prevista para transportarlos
- En total, preparar por lo menos 12 palitos con este método (solo 12 son necesarios, los otros sirven para substituir a unos que podrían ensuciarse)
- Una vez en el campo, usando una pinza limpia, instalar los dos palitos en los huecos previstos en la trampa Rotorod (Figura 4).



- **Recolección de los palitos y conteos de las esporas**

- Con la pinza limpia, recuperar cada palito y colocarlo en la cajita de protección, borde de ataque orientado hacia el centro de la cajita (eso permite recordar y proteger este borde que es el de captura de las esporas)
- Una vez en el laboratorio, colocar los palitos en el apoyo de lectura (Fotografía 2) borde de ataque hacia arriba
- Con el zoom x10, observar la parte del borde de ataque que quedaba al exterior de la trampa. Es decir un área de 1,52 mm (anchura del palito) de anchura y de largo 2 cm a partir de la extremidad que quedaba al exterior al sistema de fijación.
- Anotar el número de esporas encontradas en cada periodo de captura sumando el número de esporas encontradas en los dos palitos correspondientes.



*Figura 5 : Fotografía del apoyo de lectura de los palitos Rotorod*

- **Calculo de la concentración**

Con esta trampa, solo se puede calcular una concentración de esporas por periodo de captura.

$N$  : Numero de esporas encontradas en el área de conteo

$a$  (área de conteo en  $m^2$ ) = anchura del palito (0.00152 m) \* longitud del palito (0.023 m) \* 2 (ambos palitos)

$D$  : Diámetro del eje de rotación metálico (m)

$v$  : Velocidad de rotacion del eje (Revoluciones Por Minuto)

$t$  : Tiempo de captura (en minutos)

$C$  : Concentración de esporas por periodo de captura

$$C = \frac{N}{a\pi Dvt}$$