

Artículo II, Efecto de la sombra del café sobre la dispersión en seco de esporas de *Hemileia vastatrix*, y su relación con el viento, precipitación y humedad relativa

Resumen

La sombra es una opción para enfrentar el cambio climático. Se tienen evidencias empíricas de que la epidemia del 2012 tuvo menores impactos en los cultivos bajo sombra. Una hipótesis que se plantea es que los eventos de dispersión del patógeno son menos intensos bajo sombra. Se conoce poco sobre la dispersión de la roya, y nunca se ha generado información sobre este tema en condiciones de sombra.

El presente estudio pretende explicar la dispersión de uredosporas en seco, bajo ambiente de sombra densa, con dos especies de sombra (*Abarema idiopoda/Chloroleucon eurycyclum* y *Erythrina poeppigiana*) y pleno sol, y su relación con variables meteorológicas: viento, lluvia. El ensayo se estableció en Turrialba, Costa Rica a 600 msnm. Se realizaron capturas de esporas en 72 horas por semana, en 35 semanas, desde tercera semana de agosto del 2013 hasta la primera semana de julio del 2014 empleando trampas Burkard, en dos de los tratamientos del ensayo de larga duración establecido por el CATIE en 2000 donde se comparan diferentes sistemas agroforestales.

La sombra en presencia de mucha lluvia favorece la dispersión en seco de las esporas de roya, hasta 3.7 veces más que a pleno sol. La sombra posiblemente intercepte la lluvia, contribuya a formar gotas gordas, las cuales impactan fuertemente el café y liberan las esporas. Esto se da seguramente porque la sombra estudiada tiene una altura a la intercepción de la copa, comprendida entre 13 a 15 metros, lo que permite que las gotas adquieran energía cinética importante. En tiempos posteriores y cercanos a una lluvia, se observa mayor dispersión (0.17 veces más) bajo sombra que a pleno sol, posiblemente porque las esporas fueron lavadas por la lluvia al pleno sol. Cuando aumenta el tiempo (horas) sin lluvia, este efecto se invierte, siendo mayor la dispersión al sol 0.17 veces más. La sombra intercepta el viento en ausencia de lluvia, por lo que desfavorece la dispersión comparado con el pleno sol. La dispersión en seco, cuando no llueve, a través del viento, es limitada comparada con la dispersión derivada de los impactos de las gotas de lluvia, 0.4 y 3.3 esporas por m⁻³ de aire respectivamente.

Por lo tanto, al contrario de lo esperado, la sombra puede contribuir a mejorar la dispersión cuando llueve. Sin embargo, cuando no llueve, sucede lo contrario. Periodos secos intercalados en la época de lluvias podrían favorecer la dispersión a pleno sol y explicar en parte la epidemia continental que hubo en 2012. El efecto de la sombra depende de las variables meteorológicas. Debido a las variaciones interanuales e intraanuales del clima, puede haber diferentes tipos de sombras óptimas. Puede haber más dispersión en sombra en épocas lluviosas o durante La Niña, y por lo contrario, puede haber más dispersión a pleno sol en épocas secas o años secos.

En este trabajo se generó conocimiento sobre la dispersión en seco, pero no sabemos el destino de las esporas, por lo cual es importante abrir líneas de investigación para conocer más sobre el lavado de esporas, depositación de esporas sobre las hojas y su nivel de viabilidad bajo condiciones de sombra y pleno sol.

1. Introducción

La dispersión es un proceso esencial para el desarrollo de la epidemia. Permite su crecimiento en el espacio y el tiempo. Los patógenos se dispersan por varias formas. Algunos producen propágulas que se desplazan activamente en el agua. Los patógenos también pueden dispersarse activamente a través del crecimiento túlico. Algunos se desplazan pasivamente a través de vectores que pueden ser humanos, animales, insectos o prácticas agronómicas como el riego; otros de forma más activa por medio de esporas, a través del viento, la lluvia, y el hombre.

A continuación se describe un ejemplo por cada tipo de dispersión:

La bacteria *Xylella fastidiosa* responsable de la “clorosis variegada” de los cítricos (Redak *et al.* 2004); también afecta al café y ocasiona crespera (hojas encrespadas), chamuscado de las hojas (Beretta *et al.* 1996; De Lima *et al.* 1998; Redak *et al.* 2004) y otros cultivos (Redak *et al.* 2004). Es transmitida gracias a un insecto vector, que al alimentarse de la savia del xilema, inocula a *X. fastidiosa* (Yamamoto y Gravena 2000).

Uno de los patógenos que se disemina por medio del crecimiento micelial es el mal de hilachas en café, causada por *Corticium Koleroga* (Cadena 1987). Este invade el tejido al formar una red de micelios de color blanco grisáceo, que al extenderse invade otros tejidos de la planta y al estar en contacto con otras plantas, también se infectan.

La *Phytophthora palmivora* es responsable de la mazorca negra en cacao (Oudemans y Coffey 1991; Flament *et al.* 2001). Su reproducción es a partir de las clamidosporas (estructuras asexuales) u oosporas (estructura sexual), que son esporas usadas por el hongo para sobrevivir por largos periodos sin el hospedero. Estas producen esporangios, los que contienen esporangiosporas y principalmente zoosporas, que son una estructura reproductiva con movimiento propio, a través de sus flagelos y sobre una película de agua (Porras y Sánchez 1991; Agrios 1998). Su diseminación es a partir de estructuras de esporangios que se encuentran en raíces infectadas y son dispersados por el salpique del goteo de agua, el viento o por hormigas (Bowers *et al.* 2001). Una vez que infectan las mazorcas u hojas, se produce una dispersión vertical, que ocurre al descender el agua, lo que permite el movimiento y arrastre de zoosporas, horizontalmente, son diseminadas por el viento (Porras y Sánchez 1991).

La diseminación de roya del trigo causada por *Puccinia graminis* (Campos *et al.* 2008) es favorecida por acción del viento. Cuando las teliosporas germinan y expulsan basidiosporas a la atmosfera, son arrastradas a cientos de metros hasta depositarse sobre un hospedante alternativo, plantas de agracejo (*Berberis vulgaris*). De estas plantas por algunos procesos dan origen a las aeciosporas que son llevadas por el viento hasta las plantas de trigo y producen infecciones. El viento es un factor importante en la diseminación de esporas. Las corrientes de aire pueden dispersar las esporas en sentido ascendente u horizontal transportarlas a distancias de uno o varios kilómetros (Agrios 1998). Sobre este caso, Watson y De Sousa (1983) indican que uredosporas de *P. graminis* fueron dispersadas por el viento desde África hasta llegar a Australia, y Singh *et al.* (2008) afirman que las corrientes de vientos son responsables de la dispersión hacia el norte de

África, Oriente Medio y Asia Sur-Occidental. Aunque ciertas esporas dispersas en el aire no sobreviven a períodos largos, una parte pueden morir por deshidratación y bajas temperaturas (Agrios 1998). Cuando se encuentran en alturas muy elevadas pueden ser arrastradas por gotas de lluvia hacia la superficie, y cuando el clima es favorable pueden ocasionar epidemias (Agrios 1998).

La antracnosis del banano (*Colletotrichum* spp) es la responsable del deterioro de la calidad de la fruta en procesos de poscosechas (Peres *et al.* 2002; Salazar *et al.* 2012). Tienen esporas asexuales en acérvulos (Agrios 1998). Su fuente de inóculo crece en las plantas de banano, se disemina pasivamente por medio de las gotas de agua que producen el salpique y el movimiento del patógeno hacia los frutos de banano o por el escurrimiento del agua (Salazar *et al.* 2012). También en tejidos secos producen acérvulos que contienen conidios, los cuales al secarse son dispersados por el viento.

Algunos nemátodos asociados al café y a otros cultivos como el *Meloidogyne* spp y *Pratylenchus* spp. son diseminados a cortas distancias por la acción de hombre al realizar prácticas de manejo, como: uso de maquinarias agrícolas, herramientas, y el agua de riego (Gowen *et al.* 2005). A distancias más largas son diseminados en semillas o plantas contaminadas movilizadas por el hombre (Luc *et al.* 2005).

La dispersión de uredosporas en café depende de la cantidad de inóculo, viento o lluvia. La esporulación es un proceso que no ha sido muy estudiado. Se conoce que una lesión puede producir más de 400.000 esporas en tres meses y que una lesión de 50 mm² se puede encontrar hasta 150.000 esporas (Kushalappa y Eskes 1989).

El viento es uno de los principales factores para la dispersión a corta distancia, o varios kilómetros (Becker 1977), e incluso se cree que continentalmente (Bowden *et al.* 1971; Kushalappa y Eskes 1989). Becker (1977) también ha demostrado que la dispersión de uredosporas de roya dentro del cultivo es producida por el goteo del agua, al caer sobre las hojas esporuladas, pero en menor grado que el viento.

La importancia de la sombra, por sus servicios, es una opción para enfrentar el cambio climático. Se piensa que en la pasada epidemia del 2012 que los cultivos bajo sombra fueron menos afectados en la producción (Avelino y Rivas 2013). En la actualidad no se conoce nada sobre la dispersión, mucho menos en condiciones de sombra. Por lo tanto, el presente estudio pretende explicar la dispersión de uredosporas en seco, bajo ambiente de sombra y pleno sol, y explicar la relación con condiciones meteorológicas de viento y lluvia.

2. Materiales y métodos

2.1. Descripción del área de estudio

El presente estudio inició en agosto del 2013 y concluyó en julio del 2014. El trabajo de campo se realizó en el ensayo de sistemas agroforestales a largo plazo de la finca experimental CATIE, que tiene más de 13 años. El trabajo de laboratorio se realizó en el laboratorio de mejoramiento de cacao, y en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Costa Rica (UCR), sede del Atlántico en Turrialba.

El ensayo se ubica entre las coordenadas de 9°53'44'' latitud norte; 83°40'7'' longitud oeste, con una elevación de 600 msnm. En los últimos 10 años⁶ se tuvieron promedios de temperatura anual de 22.4 °C, humedad relativa de 90,6% y radiación solar de 16.6 Mj/m², precipitación de 2928 mm/año. Esta variable en cada año ha venido descendiendo significativamente: en el 2002 cayeron 3527mm, 2012 con 2639 mm y en el 2013 con 1945 mm/año; siendo el 2012 uno de los más irregulares. Los suelos se caracterizan como aluviales mixtos, con texturas entre franco y franco-arcilloso (Virginio Filho *et al.* 2002).

El área total del ensayo es de aproximadamente 9.2 hectáreas. Fue establecido en el año 2000 con café arábica variedad caturra, con distancias de 2.0 m entre hileras y 1.0 m entre planta, con una densidad de 5000 plantas/ha. Las especies de sombra estudiadas son: el poró (*Erythrina poeppigiana*), Amarillón (*Terminalia amazonia*) y cashá (*Abarema idiopoda/Chloroleucon eurycyclum*). El arreglo de estas especies forman seis tipos de sombras en contraste con pleno sol, las cuales en combinación con cuatros niveles de manejo dan origen a 20 tratamientos, dispuestos en tres repeticiones (bloques) (Virginio Filho *et al.* 2002; Hagggar *et al.* 2011).

2.2. Factores en estudio

Se emplearon dos niveles de sombras: **a)** sombra densa (SD) que está conformada por la combinación de la especie cashá (*Abarema idiopoda/Chloroleucon eurycyclum*) más poró (*Erythrina poeppigiana*); **b)** sin sombra (pleno sol). En estos ambientes se aplicó el manejo medio convencional con fungicida. Se consideraron las variables meteorológicas siguientes: ráfagas de viento, la lluvia, el tiempo sin lluvia. También se consideraron la cosecha y la cantidad de inóculo presente en las hojas.

2.3. Característica de la sombra y del manejo agronómico

La sombra densa está conformada por cashá (*C. eurycyclum*) en combinación con el poró (*E. poeppigiana*). El cashá es una planta leguminosa tiene copa alta abierta, su altura hasta a la intersección de la copa varía entre 13 y 15 metros y su altura total entre 22 a 24 metros, y la densidad de 78 árboles por hectárea. Los árboles de poró son leguminosas, tienen una copa regular a una altura de 4 a 5 metros, y producen gran cantidad de biomasa; su densidad en este sistema es de 164 árboles/ha. La cobertura de sombra es medida cada mes, con el uso del densiómetro esférico (Lemmon 1956), los valores registrados varían de 30 a 65% (los valores mínimos se presentan en febrero y marzo y los máximos entre octubre y noviembre). A la especie poró se le aplican podas reguladas a 4.5 m de altura dos veces al año (diciembre y junio).

En el manejo medio convencional, se aplicó fertilizantes sintéticos (fórmula completa 500 kg/ha más 180 kg/ha de fertilizante nitrogenada); se realizó control de plagas (broca) con insecticida de síntesis Solver 48 EC® (Clorpirifos). El control de malezas se hizo mediante un manejo selectivo con prácticas manuales y herbicidas en las calles. Para el control de enfermedades, especialmente roya, se utilizó fungicidas a base de cobre en dosis

⁶ Fuente: Salas, A., 2013. Estación meteorológica de CATIE.

de 1000 g/ha, combinado con un producto sistémico (ciproconazol 10% WG) en dosis de 0.4 litros/ha. En el 2013 se aplicó cobre, en marzo y abril, y ciproconazol en junio. En el 2014 se aplicó cobre en marzo y ciproconazol en enero y junio (Cuadro 14).

Cuadro 14. Aplicaciones de fungicidas para el control de roya en el manejo medio convencional

Nivel de Manejo	2013						2014					
	ene	feb	mar	abr	may	jun	ene	feb	mar	abr	may	jun
Medio convencional con fungicida (MCF)			*	*		☒	☒		*			☒

* Fungicida a base de Cobre
☒ Fungicida sistémico (ciproconazol)

3. Metodologías empleadas para las evaluaciones de campo y laboratorio

3.1. Evaluación de la cantidad de inóculo por rama infectada

En la parcela útil de cada tratamiento, se seleccionaron, cada tres semanas, de forma aleatorizada, seis ramas en seis plantas distintas (dos ramas de la parte alta, dos de la parte media y dos de la parte baja). Se colectaron solo las hojas con infecciones. Estas fueron colocadas en bolsas plásticas debidamente codificadas, y luego llevadas al laboratorio.

Para estimar la cantidad de inóculo se utilizó la metodología empleada por Granados⁷. Esta consiste en tomar hojas infectadas en el campo y en laboratorio mediante un raspado sobre lesiones esporuladas, se recogen las esporas presentes, y luego con el uso de la cámara de Neubauer se cuantifica el número de esporas.

Se hizo el raspado de esporas de roya no parasitadas con cápsulas de gelatina. Para su conservación, estas fueron colocadas en microtubos de 2 mililitros y almacenadas a 8°C, con un 50% de humedad relativa. Posteriormente se colocó el inóculo, almacenado en cada cápsula, en microtubos con 1 ml de agua estéril al 2.5% de Twin 20. Esta solución de esporas fue homogeneizada en el ultrasonificador. Luego se hizo el conteo en la cámara de Neubauer, con el uso del microscopio lente 10X. Se consideró la lectura de cinco cuadros (4 extremos y 1 central), repitiendo tres conteos por muestra (se consideró el promedio de las tres lecturas). Para determinar la cantidad de inóculo por rama se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de esporas} = \frac{\text{total esporas contada}}{\text{N}^\circ \text{ de cuadros}} \times 10000$$

3.2. Registro de datos meteorológicos

Los datos de pluviometría fueron tomados de la Estación climática del CATIE. Los datos de ráfagas (máximas) de viento y humedad relativa, se registraron en microestaciones climáticas Hobo, instaladas en sombra densa y pleno sol. En cada parcela se instaló un data logger (Hobo weather station), 2 sensores de temperatura de aire (Bit temperature smart

⁷ Granados, E., comunicación personal (2013).

sensor S – TMB - MOXX), y 1 sensor mixto que mide temperatura y humedad relativa (Temperature/RH smart sensor S – THB - M00x). También se ubicó un anemómetro para medir las ráfagas viento, este se situó por encima de la copa de las plantas de café. El data logger (Hobo weather station) fue programado para realizar una lectura cada 30 segundos y registrar un promedio cada 15 minutos. Para la recopilación de la información se utilizó el programa Hobo Ware, y se salvó los datos cada 15 días.

3.3. Evaluación de la dispersión de esporas de *H. vastatrix* en el aire

Se empleó la trampa Burkard, que funciona mediante succión y atrapa esporas suspendidas en el aire, impregnándolas en una cinta adherente fijada a un tambor que gira en función a las manecillas del reloj. Estas trampas funcionan con baterías corrientes de 12 voltios. Las capturas se realizaron por tres días por semana, en el siguiente orden: desde agosto a diciembre del 2013 se hicieron 17 muestreos semanales y desde enero a julio del 2014 se realizaron 18 muestreos, tres por mes.

La trampa se programó para que el tambor cumpliera una rotación completa en cuatro días. Esto se hizo para fines prácticos al momento de hacer las lecturas de las esporas atrapadas. Para el inicio de cada monitoreo, se coordinó para dar funcionamiento a las trampa el lunes a las 8a.m. y hacer corte el jueves a las 8 a.m.

Al disponer de dos trampas en cada semana de muestreo, se instalaron en un solo bloque. El siguiente muestreo se realizó en otro bloque según aleatorización.

3.1.1. Características de las trampas Burkard

La trampa Burkard es eficiente en la captura de esporas en seco. Contiene un motor que permite la aspiración del aire, el que entra por una ranura de succión de 14 mm x 2 mm hasta la cámara en donde gira un tambor. Para calibrar su funcionamiento tiene un panel de controles. En la parte superior está dotada de una lámina horizontal, que protege la ranura para evitar entrada de agua. También tiene una cola metálica de forma vertical, la cual permite la orientación de la ranura según la dirección del viento. El sistema de captura se basa en el uso de una cinta transparente de polietileno que se fija al tambor (Figura 11A y B).

3.1.2. Instalación de trampas para captura de uredosporas de roya

En cada muestreo se inició con la preparación de los dispositivos, lo cual se realiza en condiciones de laboratorio para evitar contaminación. Se ubicó una cinta adhesiva a ambos lados, sobre en el tambor entre los dos puntos de unión (raya verde y negra). Luego se ubica la cinta transparente (dimensiones de 20 x 355 mm), y sobre esta se coloca una película de gel (vaselina sólida-líquida). Para su movilización al campo, los tambores fueron colocados en cajas transportadoras.

En el campo, la trampa se instaló sobre un poste metálico ubicado en el centro del surco, a 1.50 m de altura, y energía abastecida por baterías. Luego el tambor se instaló uniendo los puntos verdes (punto de partida). También se calibró la aspiración de aire en 10 litros

de aire/minuto. Al final se marca la cinta de captura por el orificio de la ranura y se oprime el botón Start para iniciar el funcionamiento (Figura 11).

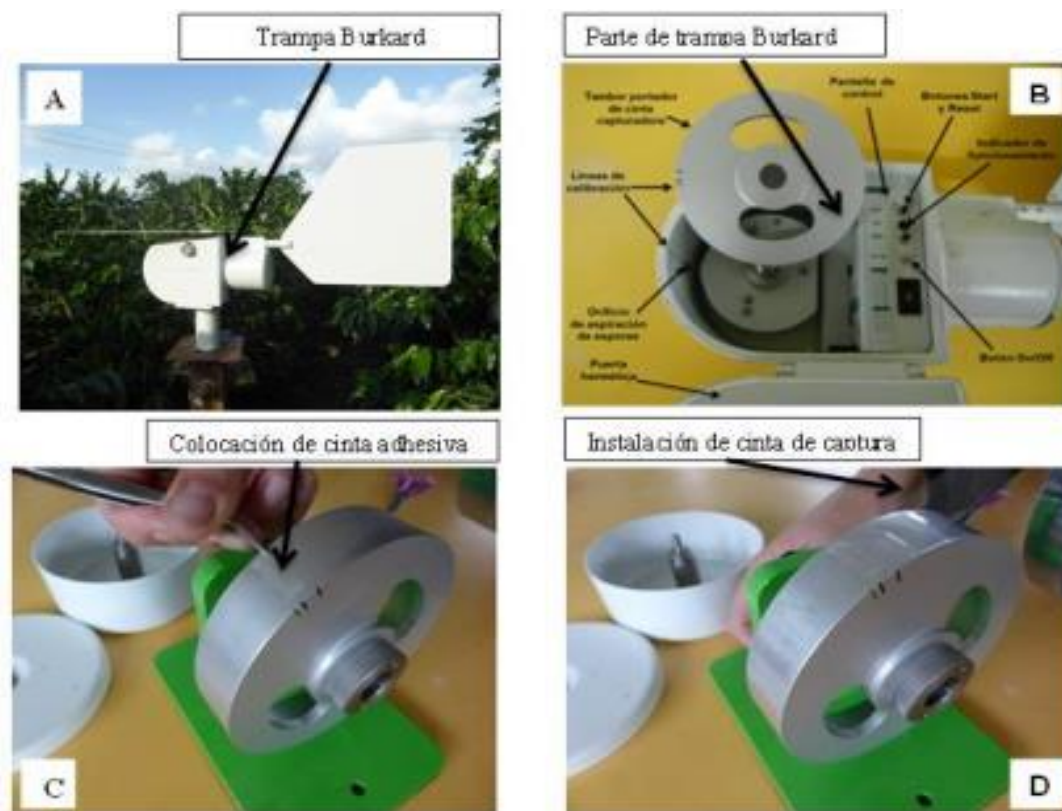


Figura 11. Trampas Burkard empleadas para la captura de uredosporas de roya (A). Partes y piezas de la trampa (B). Instalación de cinta adhesiva en el tambor (C). Instalación de cinta captadora sobre el tambor (D).

3.1.3. Conteo de esporas en laboratorio

Para cada lectura después del desmontaje de las trampas, se tomó la cinta de captura y se ubicó sobre una regla milimétrica, se hicieron seis cortes de 42 mm de largo, denominados bandas, cada banda corresponde a 12 horas. Estas fueron colocadas en porta objetos; con el uso del microscopio lente de 10X se cuantificó el número de esporas y con el apoyo del lente 40X se confirmó, de acuerdo con su forma reniforme y la presencia de crestas. Se consideró 6 campos centrales correspondientes a 12mm, dejando dos campos en la parte inferior y superior de la banda. Se realizó el conteo en cada campo y posteriormente se determinó la ubicación de la espora en cada hora.

3.4. Variables estudiadas en el periodo de 2013 y 2014

- Cantidad de inóculo por día por rama infectada

Es la cantidad de inóculo presente por rama infectada. Dado que esta cuantificación se hizo cada 3 semanas, se tuvo que estimar la cantidad de inóculo en cada día de trampeo a través de la ponderación⁸ siguiente:

⁸ Avelino, J., 2014. Comunicación personal.

$$\text{Cantidad de esporas por día} = \frac{(F_2 - f_x) C_1 + (f_x - F_1) C_2}{F_2 - F_1}$$

F_2 = fecha de conteo de inóculo N° 2
 f_x = fecha de trapeo de esporas
 F_1 = fecha de conteo de inóculo N° 1
 C_1 = cantidad de inóculo en fecha N° 1
 C_2 = cantidad de inóculo fecha N° 2

- **Pluviometría por hora**
Es la cantidad de lluvia caída en 1 m² por cada hora. Para registrar este dato se empleó las bandas milimétricas instaladas en el pluviómetro de la estación del CATIE en cada semana de trapeo.
- **Horas con lluvia**
Es la cantidad de horas continuas con lluvia, incluye antes del trapeo, y horas de trapeo.
- **Horas sin lluvia**
Es la cantidad de horas continuas sin lluvia, incluye horas antes del trapeo, y horas de trapeo.
- **Máxima de las ráfagas de viento por hora**
Son los valores máximos de los aumentos repentinos de la velocidad del viento ocurridos duran poco tiempo, medidos en metro/segundo. Debido a la gran variabilidad del viento, en el ensayo se tomó el valor máximo de las dos estaciones.
- **Humedad relativa (%) por hora**
Es la cantidad de agua presente en el aire.
- **Cantidad de esporas por hora/m³ de aire**
Es la concentración de esporas dispersadas en 1 m³ de aire. Para realizar el cálculo de concentración se utilizan los conteos de esporas por hora, con base en la siguiente fórmula⁹:

$$C = \frac{N_c}{L_c} \times \frac{(L_h)}{V_h}$$

C : concentración de esporas por hora (esporas/m³)
 N_c : número de esporas encontradas por hora
 L_c : área de conteo (3.5 x 12 mm)
 L_h : área correspondiente a una hora (3.5 x 14mm)
 V_h : volumen de aire aspirado por hora (10L/min = 0,6 m³/hora)

3.2. Métodos estadísticos

Antes de correr el modelo se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con la finalidad de identificar las variables meteorológicas correlacionadas entre sí. Este procedimiento permitió eliminar variables asociadas. También se optó por emplear valores

⁹ Avelino, J., 2014. Comunicación personal.

de capturas de 7:00 a 19:00 horas, en vista de que las horas no consideradas (20:00 a 23 y 0:00 a 6:00 horas) registran valores cercanos a cero captura.

Se realizó el análisis para ver el efecto de la sombra y de las variables meteorológicas sobre la dispersión, analizando factores individuales e interacciones dobles. No se consideraron las interacciones de variables meteorológicas entre sí. Para estudiar el efecto de los factores de interés sobre la dispersión de uredosporas en seco, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto con una distribución de Poisson, ya que la variable respuesta es el conteo de esporas. Los factores meteorológicos, pluviometría, tiempo sin lluvia, ráfagas, factor sombra y las interacciones dobles, fueron declarados como factores fijos. Para controlar la variabilidad se colocaron como aleatorios los bloques, las semanas y cantidad de inóculo, manteniendo la jerarquía, bloque – semana – cantidad de inóculo.

Tsl y P no son totalmente independientes: cuando $P=0$ Tsl >0 y cuando $P>0$ Tsl $=0$. Sin embargo, estas dos variables se consideraron como importantes ya que se sabe que la lluvia contribuye a la dispersión y que la dispersión por el viento se hace cuando la humedad relativa es baja, es decir en periodos secos (Becker 1979). Por lo anterior se decidió construir dos modelos: uno que incluye la lluvia pero sin Tsl y otro sin la lluvia y con los valores de Tsl >0 . La selección de cada modelo se hizo comparando el modelo completo (con todas las variables e interacciones) con el modelo quitando una variable o interacción de interés.

La significancia de cada variable ($p<0.05$) se evalúa calculando la diferencia de AIC (criterio de explicación del modelo) entre el modelo completo y el modelo excluyendo variable. Una gran diferencia de AIC significa que la variable tiene un gran poder de explicación. El modelo final resulta de la selección de las variables e interacciones significativas. Se verificó la normalidad de los residuos para validar el modelo y comprobar que no había sobredispersión.

4. Resultados

4.1. Comportamiento de la captura de esporas y variables meteorológicas

La mayor captura de esporas en seco coincidió con el periodo de mayor epidemia de roya, época de mayor precipitación. Las capturas máximas fueron registradas bajo sombra en el mes de noviembre del 2013 con 258 esporas capturadas por día (Figura 12A). La dinámica de captura de esporas y variables meteorológicas, en relación con las horas del día, tiene un comportamiento especial: la captura de esporas y ráfagas de viento registran los mayores valores a las 12:00 horas y paulatinamente disminuyen al aproximarse hacia las horas de la madrugada (0:00 - 6:00 horas) y la noche (20:00 - 23:00 horas) (Figura 12B). En el caso de la pluviometría, los mayores promedios son obtenidos entre 15:00 y 16:00 horas y luego desciende en ambos sentidos de horas. La humedad relativa tiene un comportamiento inverso; es decir que entre las 11:00 y 12:00 horas registra los menores porcentajes (Figura 12C). Al observar los datos, se deduce que la mayor actividad de dispersión se produce en la época de lluvia, entre las 7:00 y 19:00 horas, la cual se relaciona a la presencia activa de las variables meteorológicas.

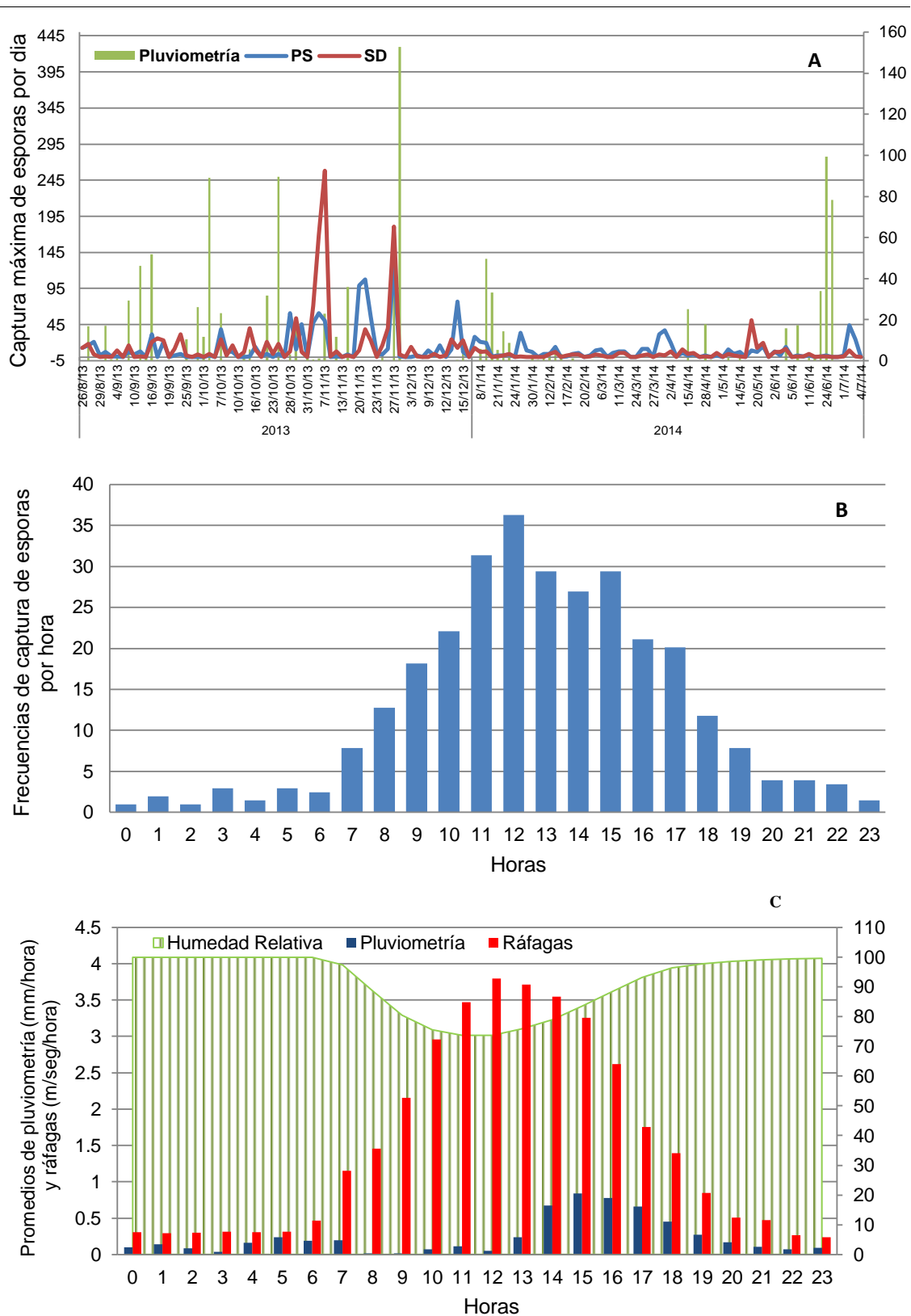


Figura 12. Comportamiento de la captura de uredosporas dispersadas en seco y variables meteorológicas: total de esporas capturadas por día (A); frecuencia de capturas por hora, datos de sol y sombra juntos (B); promedios por hora de precipitación, ráfagas y porcentaje de humedad relativa por hora, datos promedios de las dos estaciones (C), desde agosto del 2013 a julio del 2014.

4.2. Relaciones entre variables meteorológicas y selección de predictores meteorológicos de la roya

En la Figura 13A se observan los ejes 1 y 2 del ACP con las variables meteorológicas. Existe una correlación positiva entre pluviometría y tiempo con lluvia. También muestra la relación negativa entre ráfagas y humedad relativa. En el caso de la pluviometría y tiempo sin lluvia, en esta primera representación no muestra una relación fuerte, aunque se conoce que puede existir. En la Figura 13B, con los ejes 1 y 3 del ACP, se conservan las mismas correlaciones. El tiempo sin lluvia está bien representado, pero la pluviometría no. Se seleccionaron las variables independientes siguientes: pluviometría, ráfagas y tiempo sin lluvia, para emplear en el modelo de dispersión.

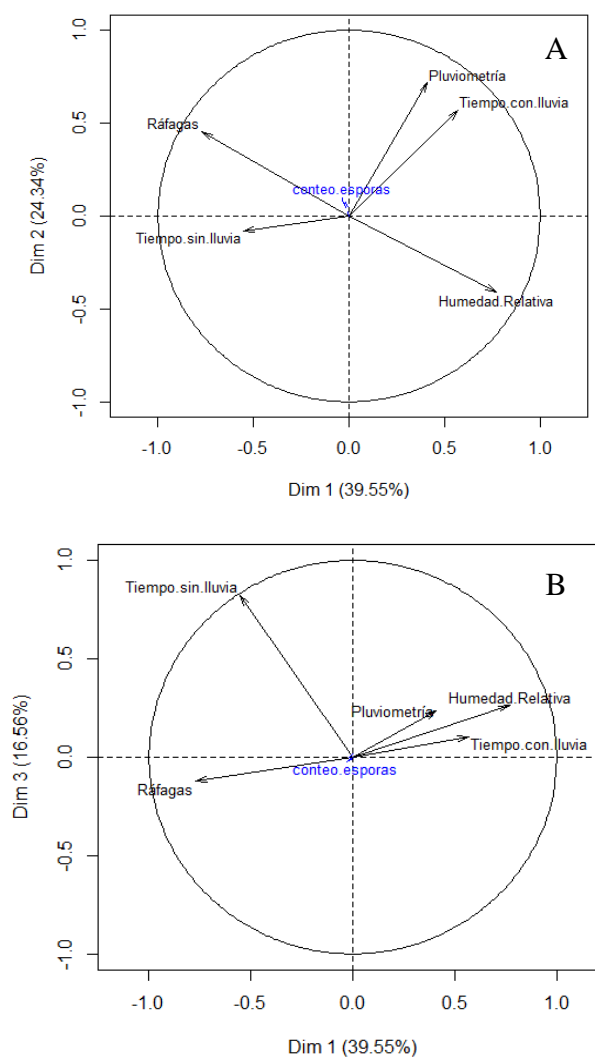


Figura 13 Análisis en componentes principales (ACP) de las variables meteorológicas: representación de los ejes 1 y 2 (A) y ejes 1 y 3 (B)

4.3. Efecto de la sombra y factores meteorológicos sobre la dispersión en seco de esporas de roya, modelo 1

En el modelo 1 (Cuadro 15A) se incluye la variable pluviometría, y se elimina la variable tiempo sin lluvia (Tsl). La comparación del modelo completo con los modelos excluyendo una de las variables o una de sus interacciones, indica que solo la pluviometría, ráfaga y la

interacción sombra y pluviometría tienen efectos significativos (Cuadro 15A). Esto se verifica en el modelo final (Cuadro 15B). El modelo definitivo de predicción de la dispersión fue el siguiente:

M1: GLMER (spB~P+Raf+sombra:P+(1|bloc/sem)+(1|inoc),family=poisson,data=spores)

Cuadro 15. Significancia del factor sombra y variables meteorológicas modelo 1 (sin la variable tiempo sin lluvia): comparación del modelo completo con los modelos excluyendo una de las variables (A); modelo final con sus factores individuales e interacciones significativos (B).

(A)	Diferencia (AIC)	p<0.05	(B)	Diferencia (AIC)	p<0.05
Sombra	1.2	0.2252	Pluviometría	0	<2.2E16***
Pluviometría	0	<2.2 E16***	Ráfagas	402.2	<2.2 E16***
Ráfagas	0	<2.2 E16***	Sombra:Pluviometría	63.4	6 E16***
Sombra:Pluviometría	11.2	0.0002665***			
Sombra:Ráfagas	1.5	0.5759			

No se observan diferencias de dispersión entre sombra y pleno sol con menores lluvias; en cambio a medida que se incrementa la lluvia (20 mm), las diferencias entre sol y sombra aumentan 3.7 veces las concentraciones de esporas en sombra que las obtenidas al sol (Figura 15).

A medida que la velocidad de ráfagas aumenta (de <1 m/s a 6 m/s), la dispersión de esporas en seco aumenta cinco veces más, independientemente de la sombra (Figura 15).

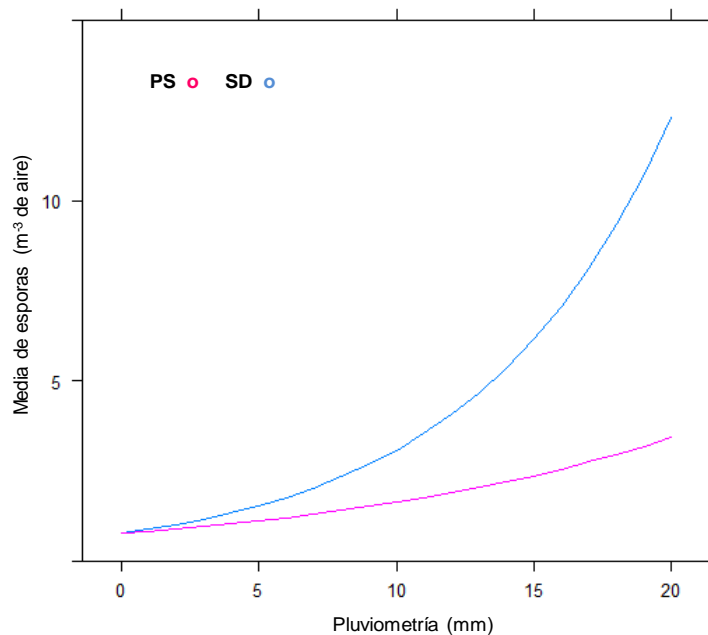


Figura 14. Interacción sombra y pluviometría sobre la dispersión de esporas de roya en seco (salida del modelo 1); PS: pleno sol, SD: sombra densa. PS= pleno sol y SD= sombra densa.

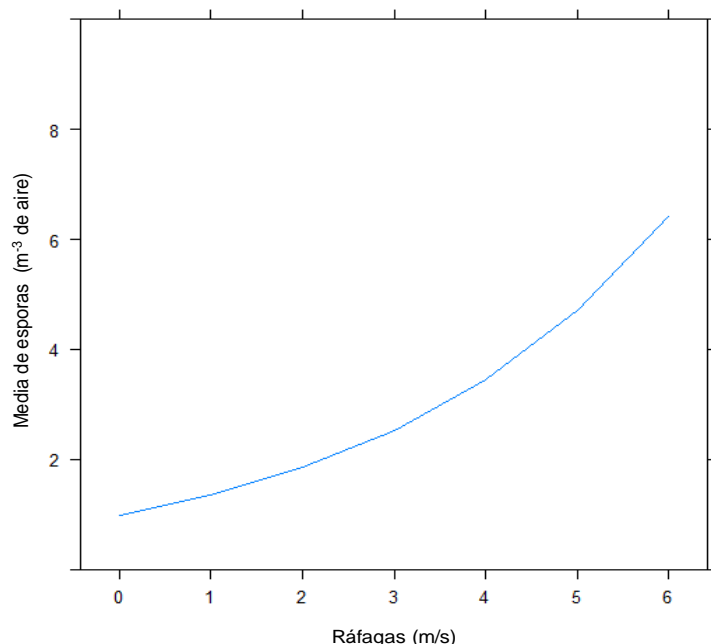


Figura 15. Efecto de las ráfagas sobre la dispersión de espora de roya en seco (salida del modelo 1).

4.4. Efecto de la sombra y factores meteorológicos sobre la dispersión de esporas en seco de roya, modelo 2

En el modelo 2 (Cuadro 16A) se incluye la variable tiempo sin lluvia (Tsl) con los datos >0, por lo tanto se consideran únicamente los periodos sin lluvia. La comparación del modelo completo con los modelos excluyendo una de las variables o una de sus interacciones, indica que solo ráfaga, la interacción sombra con Tsl y sombra con ráfagas tuvieron efectos significativos (Cuadro 16A). Esto se verifica en el modelo final (Cuadro 16B). El modelo definitivo de predicción de la dispersión fue el siguiente:

M2:GLMR(spB~Raf+sombra:tsl+sombra:Raf+(1|bloc/sem)+(1|inoc),family=poisson,data=esporas)

Cuadro 16. Significancia del factor sombra y variables meteorológicas modelo 2 (sin la variable pluviometría): comparación del modelo completo con los modelos excluyendo una de las variables (A); modelo final con sus factores individuales e interacciones significativos (B).

(A)	Diferencia (AIC)	P<0.05	(B)	Diferencia (AIC)	p<0.05
Sombra	0.5	0.4977	Ráfagas (Raf)	0	<2.2 E16***
Tiempo sin lluvia (Tsl)	0	1	Sombra : Tsl	49.4	2.52e-12***
Ráfagas	0	<2.2 E16***	Sombra : Ráfagas	8.4	0.001257***
Sombra : Tsl	16	2.321e-05***			
Sombra : Ráfagas	8.4	0.0009475***			

Con valores de Tsl cerca de cero, hay mayor dispersión bajo sombra que a pleno sol (0.17 veces más). El efecto de la sombra se invierte con valores grandes de Tsl. Los predichos de la interacción sombra Tsl son pequeños en relación con los predichos del modelo 1. Se observa una tendencia general de disminución de la dispersión con mayores valores de Tsl. (Figura 16A).

Al incrementarse la velocidad de las ráfagas se incrementan las diferencias de dispersión entre pleno sol y sombra. La mayor dispersión se produce a pleno sol, pero la dispersión es limitada, es decir que es baja en comparación con lo obtenido con el modelo 1 en presencia de lluvias (Figura 16B). Se observa una tendencia general del incremento de la dispersión con los mayores valores de ráfagas.

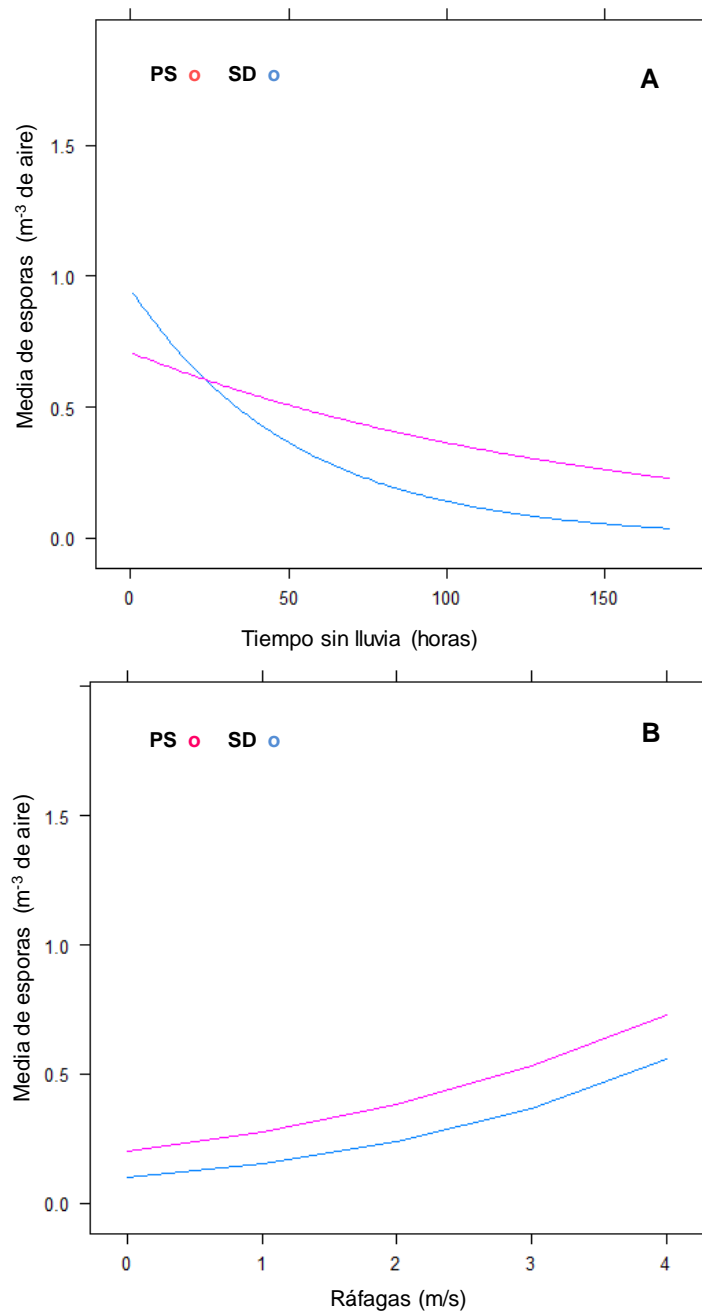


Figura 16. Efecto de las sombras sobre la dispersión de uredosporas en seco de *H. vastatrix*, modelo 2: efecto de la interacción sombra y tiempo sin lluvia (Tsl) (A), efecto de la interacción sombra y ráfagas (m/s) (B). PS= pleno sol y SD= sombra densa.

5. Discusión

Se observó que el efecto de la sombra sobre la dispersión de la roya depende de variables meteorológicas. La sombra interactúa con la lluvia, con el viento y el tiempo sin lluvia (estas dos últimas dos interacciones se encuentran en los periodos sin lluvia). La sombra puede por lo tanto ayudar a manejar la dispersión, pero esto dependerá de las condiciones climáticas, las cuales pueden variar en el año y entre años. A nuestro conocimiento es la primera vez que se demuestran estos efectos de la sombra sobre la dispersión de la roya.

Hemos determinado que en presencia de mucha lluvia la sombra favorece la dispersión. Esto podría originarse a raíz de la acumulación del agua en la copa de los árboles, que da lugar a un aumento del volumen de las gotas de agua y mayor energía cinética, que al caer producen un mayor impacto. En nuestro estudio los árboles de Cashá, asociados con poró, tienen una copa entre 13 y 15 metros de altura. Algunos autores ya indicaron que las gotas de agua son agentes de dispersión (Rayner 1961; Becker 1977) y que la cobertura de los árboles incrementan la energía cinética de las gotas de agua (Mosley 1982; Vis 1986). En cambio, a pleno sol con lluvias abundantes, se pudo estar produciendo un lavado de esporas (Kushalappa y Eskes 1989). Esto se refleja también cuando el tiempo sin lluvia es cercano a cero, es decir poco tiempo después de una lluvia: la cantidad de esporas dispersadas es menor a pleno sol que bajo sombra en esta condición, posiblemente debido a la disminución de la cantidad de esporas a pleno sol por lavado durante el previo evento lluvioso sol (Kushalappa y Eskes 1989).

En este trabajo pareciera que no hay intercepción del viento por la sombra en presencia de lluvia. Es posible que la lluvia, la cual crea mucha variabilidad de dispersión, haya opacado el efecto de la sombra y por lo tanto no se expresa la interacción sombra y ráfagas. Pero en ausencia de lluvia es significativa la interacción ráfaga y sombra. La sombra densa intercepta el viento, lo cual ha sido demostrado por varios autores (Jaramillo-Robledo y Gómez-Gómez 1989; Muschler 1999). Estos eventos indican que la sombra desfavorece la dispersión de esporas ocasionada por el viento.

Evidentemente a pleno sol la dispersión es mayor a medida que aumenta las ráfagas de viento. Los promedios de dispersión son pequeños porque se consideraron los periodos sin la lluvia. Esto indica que el viento es un factor menos importante comparado con la lluvia en condiciones de Turrialba. La poca dispersión de esporas por el viento posiblemente fue afectada por el área reducida (400 m^2) de las parcelas y por la interacción con las parcelas vecinas, mayormente sombreadas. A nuestro conocimiento, es la primera vez que se reportan efectos de la sombra y sus interacciones con el viento sobre la dispersión esporas de roya, aunque tiene relación con lo indicado por otros autores (Bowden *et al.* 1971; Becker 1977; Kushalappa y Eskes 1989).

Si bien es cierto que en nuestro estudio la lluvia es el factor de mayor efecto sobre la dispersión, hay que considerar que la sombra es el factor que más favorece ese comportamiento. La lluvia puede ser un buen agente dispersor a pequeñas distancias, en donde las gotas de agua juegan un papel importante (Rayner 1961; Becker 1977). Pero Becker (1977) sostiene que el viento es el agente más importante en la dispersión a corta distancia. Otros autores indican que el viento puede transportar esporas a largas distancias,

e incluso se cree que continentalmente (Kushalappa y Eskes 1989; Brown y Hovmøller 2002).

Como lo indicamos anteriormente, poco tiempo después de una lluvia (cuando el tiempo sin lluvia es cercano a cero), se observa una menor dispersión a pleno sol, posiblemente debido al recién lavado de esporas por la lluvia (Kushalappa y Eskes 1989). Conforme aumentan las horas sin lluvia la dispersión es más eficiente a pleno sol. Esto se explica por el hecho de que el viento, en ausencia de lluvia, es más eficiente a pleno sol que bajo sombra. Sin embargo, la tendencia general es que la dispersión disminuye a medida que se alarga el tiempo sin lluvia. Esto podría estar en relación con una disminución de la cantidad de esporas disponibles.

Es posible que en la epidemia del 2012, al tener un comportamiento anormal de las condiciones meteorológicas, y mayor presencia de periodos cortos sin lluvia, pudo conducir a una mayor dispersión especialmente en los cultivos expuestos al sol, que fueron los más afectados por la epidemia en este periodo.

6. Conclusiones

- ❖ La sombra tiene impactos en la dispersión en seco de la roya en interacción con la lluvia, el viento y el tiempo sin lluvia. Cuando llueve, la sombra densa de Cashá y Poró incrementa la dispersión. En periodos secos, la sombra intercepta el viento, y la dispersión se reduce. La sombra puede por lo tanto ayudar a manejar la dispersión de la roya, pero esto depende de variables meteorológicas. En el transcurso de un año o en diferentes años pueden haber diferentes tipos de sombra óptimas.

7. Recomendaciones

- ❖ Se recomienda integrar al café sombra de copa menos abierta y de poca altura para evitar impactos fuertes de las gotas de agua sobre las plantas de café e integrar podas en la época de lluvia.
- ❖ Abrir líneas de investigación para conocer más sobre el destino de las esporas, lavado de esporas, depositación sobre las hojas y su nivel de viabilidad bajo condiciones de sombra y pleno sol.
- ❖ Abrir líneas de investigación para estudiar el efecto de diferentes tipos de sombra (especies, altura, estratos, cobertura) en la dispersión de la roya.

8. Discusión y conclusiones generales

De acuerdo con los resultados del artículo uno, se observa que la sombra densa incrementa la incidencia de la roya (favorece los procesos preinfectivos), severidad (favorece la colonización) y cantidad de inóculo producido y la dispersión cuando la lluvia es intensa (artículo 2). Las condiciones de microclima bajo sombra parecen favorables a la roya, como ya lo expuso López *et al.* (2012): las temperaturas son más cercanas a las óptimas para la germinación, la mojadura de la hoja es más frecuente, y la humedad

relativa más alta. El efecto de la dispersión está en relación con la altura y el tipo de copa, a mayor altura mayor es el impacto de las gotas formadas por la acumulación de agua en la copa, lo que aumenta su energía cinética (Mosley 1982; Vis 1986).

Sin embargo la sombra también favorece el enemigo natural de la roya, *Lecanicillium lecanii*, de acuerdo con el artículo 1, y cuando no llueve la sombra intercepta el viento, se limita así la dispersión en seco de las esporas de roya, según el artículo 2.

Por lo tanto, la sombra densa tiene efectos opuestos sobre la roya: favorece procesos preinfectivos, colonización y esporulación de la roya, pero también regula la carga fructífera, favorece a *Lecanicillium lecanii* y puede reducir la dispersión al interceptar el viento. El balance de esos efectos es difícil de estimar y puede variar en función del clima, del tipo de copa y la altura de la sombra (Figura 17).

De acuerdo con el resultado del artículo 1, los fungicidas controlan la roya al inicio de la epidemia con menor incidencia, severidad y cantidad de inóculo, pero su efecto desaparece al final del año. Por lo contrario, el manejo orgánico no permite controlar la roya al inicio del año pero sí permite su control al final. Este comportamiento se debe al incremento de las poblaciones del hiperparásito *Lecanicillium lecanii*, el mismo que controla la roya.

Se demostró así el efecto de regulación de la roya por su enemigo natural. Este efecto es casi inexistente cuando se aplican fungicidas.

Por lo tanto, el manejo con fungicidas tiene efectos opuestos sobre la roya. Sin embargo no se puede asegurar que el control natural y tardío por *L. lecanii* en el manejo orgánico sea suficiente para evitar pérdidas de la producción (Figura 17).

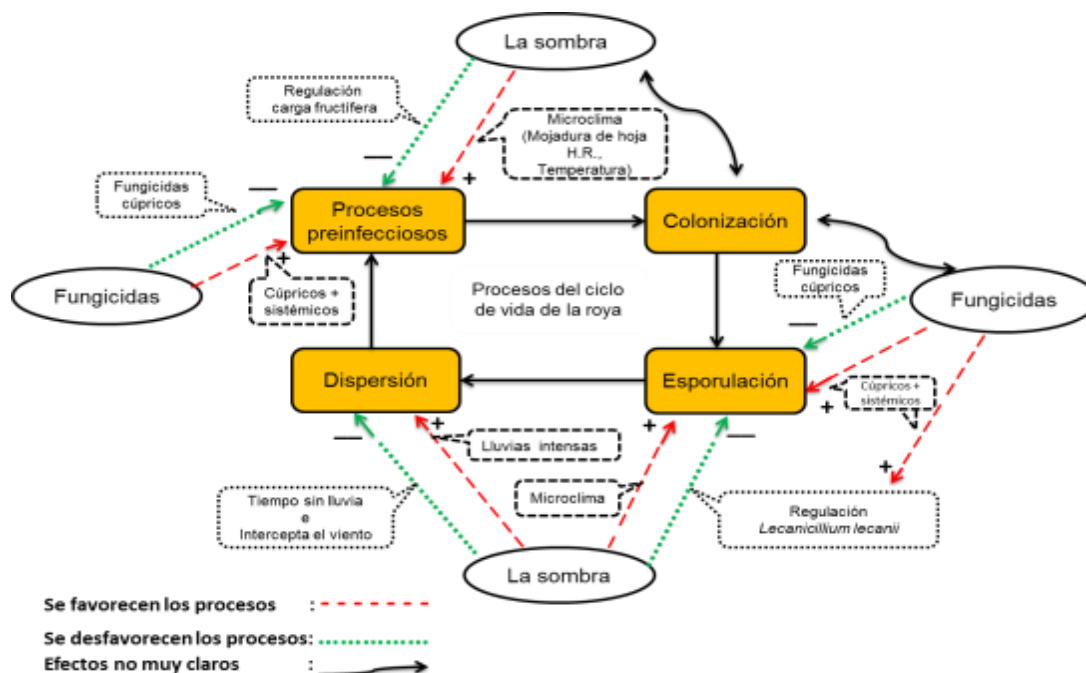


Figura 17. Potenciales efectos favorables y desfavorables de la sombra y del manejo sobre diferentes procesos del ciclo de la roya a través de diferentes mecanismos.

Referencias

- Agrios, G. 1998. Fitopatología. Enfermedades ocasionadas por Basidiomycetes. 2a ed México, DF (México), Limusa. p 413 - 437.
- Avelino, J.; Rivas, G. 2013. La roya anaranjada del cafeto. <http://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01071036>. 1-47.
- Becker, S. 1977. Diurnal periodicity in spore dispersal of *Hemileia vastatrix* in relation to weather factors. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz*: 577-591.
- Beretta, M.; Harakava, R.; Chagas, C.; Derrick, K.; Barthe, G.; Ceccardi, T.; Lee, R.; Paradela, O.; Sugimori, M.; Ribeiro, I. 1996. First report of *Xylella fastidiosa* in coffee. *Plant disease* (7).
- Bowden, J.; Gregory, P.; Johnson, C. 1971. Possible wind transport of coffee leaf rust across the Atlantic Ocean.
- Bowers, J.H.; Bailey, B.A.; Hebbar, P.K.; Sanogo, S.; Lumsden, R.D. 2001. The impact of plant diseases on world chocolate production. *APSnet*.
- Cadena, G. 1987. Enfermedades del cafeto. Editado en: Chinchiná (Colombia), Cenicafé, 1987. p. 157-169.
- Campos, P.E.; López, J.R.; Bordenave, E.E.I. 2008. Caracterización de aislamientos de *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*, agente causal de roya del tallo de trigo y su virulencia sobre cultivares de trigo pan. *In Congreso Nacional de Trigo. 7. Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. 5. Encuentro del Mercosur. 1. 2008 07 02-04, 2 al 4 de julio 2008. Santa Rosa, La Pampa. AR. 2008. p.*
- De Lima, J.; Miranda, V.; Hartung, J.; Brlansky, R.; Coutinho, A.; Roberto, S.; Carlos, E. 1998. Coffee leaf scorch bacterium: axenic culture, pathogenicity, and comparison with *Xylella fastidiosa* of citrus. *Plant disease* (1): 94-97.
- Flament, M.-H.; Kebe, I.; Clement, D.; Pieretti, I.; Risterucci, A.-M.; N'Goran, J.-A.; Cilas, C.; Despreaux, D.; Lanaud, C. 2001. Genetic mapping of resistance factors to *Phytophthora palmivora* in cocoa. *Genome* (1): 79-85.
- Gowen, S.; Quénehervé, P.; Fogain, R.; Luc, M.; Sikora, R.; Bridge, J. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (Ed. 2): 611-643.
- Haggar, J.; Barrios, M.; Bolaños, M.; Merlo, M.; Moraga, P.; Munguia, R.; Ponce, A.; Romero, S.; Soto, G.; Staver, C. 2011. Coffee agroecosystem performance under full sun, shade, conventional and organic management regimes in Central America. *Agroforestry Systems* (3): 285-301.
- Jaramillo-Robledo, A.; Gómez-Gómez, L. 1989. Microclima en cafetales a libre exposición solar y bajo sombrero. *Cenicafé* (3): 65-79.
- Kushalappa, A.C.; Eskes, A.B. 1989. Coffee rust: epidemiology, resistance, and management. CRC Press.
- Lemmon, P.E. 1956. A spherical densiometer for estimating forest overstory density. *Forest Science* (4): 314-320.
- López, B., DF; Virginio, F., E de M; Avelino, J. 2012. Shade is conducive to coffee rust as compared to full sun exposure under standardized fruit load conditions. *Crop Protection*: 21-29.
- Luc, M.; Sikora, R.A.; Bridge, J. 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Cabi.
- Mosley, M. 1982. The effect of a New Zealand beech forest canopy on the kinetic energy of water drops and on surface erosion. *Earth Surface Processes and Landforms* (2): 103-107.
- Muschler, R. 1999. Árboles en cafetales. *Catie*.

- Oudemans, P.; Coffey, M.D. 1991. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycological Research* (9): 1025-1046.
- Peres, N.A.; Kuramae, E.E.; Dias, M.S.; De Souza, N.L. 2002. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. *Journal of Phytopathology* (3): 128-134.
- Porras, V.H.; Sánchez, L. 1991. Enfermedades del cacao. IICA Biblioteca Venezuela.
- Rayner, R. 1961. Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.). *Annals of Applied Biology* (3): 497-505.
- Redak, R.A.; Purcell, A.H.; Lopes, J.R.; Blua, M.J.; Mizell Iii, R.F.; Andersen, P.C. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Reviews in Entomology* (1): 243-270.
- Salazar, E.; Hernández, R.; Tapia, A.; Gómez-Alpizar, L. 2012. Identificación molecular del hongo *Colletotrichum* spp., aislado de banano (*Musa* spp) de la altura en la zona de Turrialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas poscosecha. *Agronomía Costarricense* (1): 53-68.
- Singh, R.P.; Hodson, D.P.; Huerta-Espino, J.; Jin, Y.; Njau, P.; Wanyera, R.; Herrera-Foessel, S.A.; Ward, R.W. 2008. Will stem rust destroy the world's wheat crop? *Advances in agronomy*: 271-309.
- Virginio Filho, E.d.M.; Hagggar, J.; Staver, C. 2002. Sostenibilidad y sinergismo en sistemas agroforestales con café: Estudio de largo plazo de interacciones agroecológicas.
- Vis, M. 1986. Interception, drop size distributions and rainfall kinetic energy in four Colombian forest ecosystems. *Earth Surface Processes and Landforms* (6): 591-603.
- Watson, I.; De Sousa, C. 1983. Long distance transport of spores of *Puccinia graminis tritici* in the southern hemisphere. *In Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* (4) 1983. p. 311-321.
- Yamamoto, P.T.; Gravena, S. 2000. Espécies e abundância de cigarrinhas e psilídeos (Homoptera) em pomares cítricos. *An. Soc. Entomol. Brasil* (1): 169-176.