
**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

Desarrollo de un prototipo de trampa para uredosporas de roya del cafeto bajo los principios de impactación, deposición y escurrimiento

Versión 15 de junio de 2013

➤ **LANREF - Colegio de Postgraduados:**

1. Dr. Gustavo Mora Aguilera, Profesor-Investigador.
2. MC. Santiago Domínguez Monge
3. Ing. Gerardo Acevedo Sánchez
4. MC. Jorge Flores Sánchez

➤ **Dirección General de Sanidad Vegetal:**

1. Ing. Rigoberto González Gómez, Coordinador Operativo del SINAVEF.
2. MC. Martín Ramírez, Jefe de Departamento de Campañas.
3. Dr. Moisés Roberto Vallejo Pérez, Especialista en Análisis Epidemiológico de Plagas Reglamentadas.



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

Introducción

A partir de 2013, como parte integral de la estrategia nacional contra la roya del café, se realizan acciones de vigilancia epidemiológica fitosanitaria para estimar la condición epidemiológica de la roya del café en las principales zonas cafetaleras de México. Adicionalmente, el objetivo es desarrollar un sistema de manejo fitosanitario con énfasis en la prevención y las condiciones regionales del cultivo del café. Guatemala y Colombia fundamentan el manejo del hongo *Hemileia vastatrix* mediante criterios fenológicos y/o del comportamiento de la curva epidémica (Calderón, G. 2012. Comunicación personal; Cárdenas, J. 2013. Comunicación personal).

Recientemente, LANREF-CP y ANACAFE-Guatemala han iniciado estudios para el desarrollo de modelos de pronóstico de aplicación regional y subregional con el fin de establecer alertas oportunas para apoyar programas de control químico y fortalecer estrategias de manejo integrado de la enfermedad. Resultados preliminares muestran la viabilidad del empleo de variables asociados a la patogénesis, en particular la germinación y penetración del hongo en los tejidos vegetales. Esto implica estimar la carga de inóculo en planta y en el ambiente para el desarrollo de modelos de pronóstico con énfasis en la prevención. En este contexto, en colaboración con ANACAFÉ, Guatemala se ha empleado la fase de germinación e infección del proceso de patogénesis para el desarrollo de modelos regionales de pronóstico. La cuantificación de esporas podría contribuir a la confirmación y explicación del rol de estos eventos en la ocurrencia de la roya (Figura 1). La cuantificación dinámica del inóculo, sin embargo, debe asociarse a la dispersión, patogénesis (con énfasis en germinación y penetración) y sobrevivencia. Estos dos últimos procesos están íntimamente ligados a la planta y pueden ser estimados mediante número y edad de lesiones, número de hojas con roya defoliación e incidencia y severidad.

En lo que concierne a la dispersión, diversos reportes sugieren la implicación del viento y precipitación (Ávila *et. al.*, 2001; Noriega *et. al.*, 1999) aunque a escalas espaciales no claramente establecidas. La tipología de producción en México, basada en el uso de plantas-sombra, presupone un reducido efecto del viento en la movilización de altas cargas de inóculo con un efecto mayor a nivel local o parcelario. Por otro lado, se ha observado que la lluvia tiene un efecto en el lavado de esporas con la consecuente pérdida de inóculo. Un efecto similar puede ocurrir con la deposición. La pérdida de inóculo por deriva, lavado o deposición la cual puede ser importante considerando la



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

relación alta de esporulación con respecto al número de lesiones observadas. La estimación de cantidad de inóculo efectivo en relación al clima y fenología de la planta es fundamental. En consecuencia, la cuantificación de inóculo debe evaluar el efecto de deriva, lavado y deposición con el fin de entender el rol del inóculo en los procesos de patogénesis (Reyes *et al.*, 2002; Mora-Aguilera, 2000). Este trabajo se enfoca al desarrollo de un prototipo de una trampa pasiva de esporas de *H. vastatrix* con base en los principios de impactación, deposición y escurrimiento y apta para su aplicación intensiva con un bajo costo, fácil operación y simplicidad en la colecta de las muestras y que permita apoyar el desarrollo de modelos de pronóstico en soporte a un sistema de control de la roya del café.

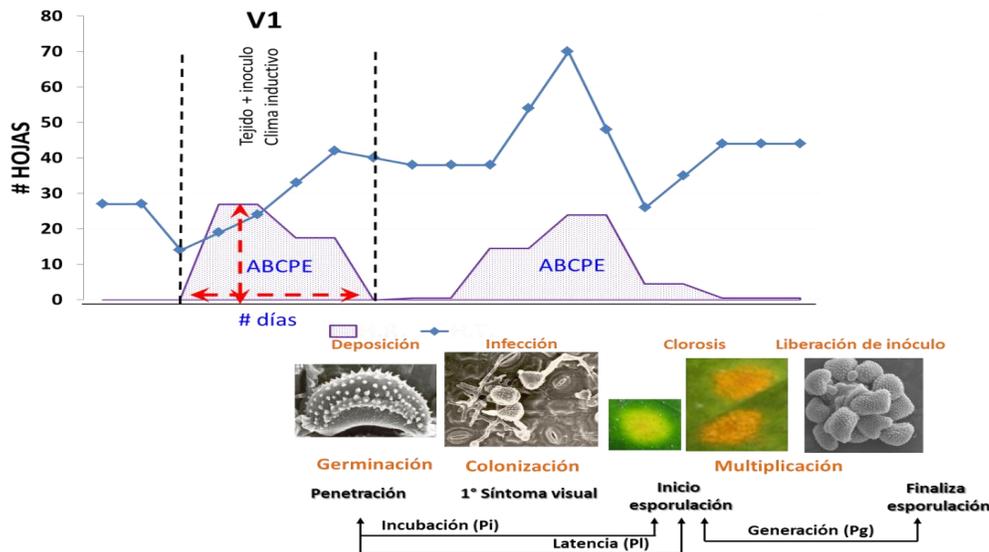


Figura 1. Variabilidad temporal del número de hojas de café con roya y el proceso de patogénesis en la producción de uredias. Datos: G. Calderón 2012.

Criterios para el diseño de la trampa

En epidemiología, el uso de trampas se ha usado en diferentes patosistemas. Se han desarrollado diversos tipos de trampas en función a la biología del organismo y al objetivo epidemiológico (Kerssies, *et al.*, 1998; Fitt, 1983; Hunter, *et al.*, 1973; Edmonds, *et al.*, 1974; Sutton, *et al.*, 1975; van der Zwet y Lewis, 1963 y Hopkins, 1959). En el Colegio de Postgraduados se ha trabajado con la captura de esporas desde la década de los 90's (Noriega *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2003; Reyes *et al.*, 2002;). Inclusive se diseñó una trampa volumétrica con la cual inicio el proceso de patentado (Mora



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

et al., 2000). Esta trampa volumétrica se ha seguido perfeccionando empleándose recientemente en modelos de pronóstico para sigatoka negra del banano (Bolaños, 2013. Datos no publicados). Esta experiencia permitió la transferencia metodológica aplicada al desarrollo de modelos de pronóstico a EMBRAPA en el nordeste de Brasil (D. López y G. Mora. Datos no publicados). Con esta base, se reconoce la viabilidad del uso de trampas de esporas pero con fundamentos en un objetivo epidemiológico claro. En el caso de la Roya del Café, el propósito sería con fines de pronóstico y alerta temprana en el contexto del manejo de la enfermedad.

En general, las trampas pueden ser activas, las cuales generalmente aplican el concepto volumétrico de succión del aire, o pasivas, sí emplean el movimiento natural del inóculo. Por su economía y operatividad las trampas pasivas pueden ser implementadas en monitoreos intensivos con similares resultados a trampas activas. Por otro lado, ambas trampas producen estimaciones relativas, es decir, la cuantificación de inóculo está en relación a los atributos de la trampa y no en atributos estadísticos de muestreo. En Costa Rica, se han usado trampas horizontales para cuantificar la deposición de las uredosporas en el desarrollo de modelos de pronóstico (Rayner, *et al.*, 1972). Para el diseño de trampas de esporas por escurrimiento de lluvia se han empleado recipientes con forma de botella, las cuales tienen como principio la captación de gotas de lluvia con presencia de esporas (Roelfs, 1970). Finalmente, otro tipo de trampas se exponen a la dirección del viento para la captación de esporas por impactación en portaobjetos con vaselina u otras sustancias usadas como adherentes. Este tipo de trampas se ha empleado para estudios epidemiológicos de la roya de la soya (Peterson, 1959) o malformación de mango (Noriega *et al.*, 1999).

Considerado la naturaleza de la Campaña Nacional contra la Roya del Café y la amplia participación de personal de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal (CESV) se planteó el diseño de un prototipo de bajo costo, practicidad operativa y fácil reproducción local con materiales accesibles. Adicionalmente, se buscó reducir los riesgos de pérdida de trampas o vandalismo mediante diseños poco atractivos por su valor o con materiales que reduzcan su uso alternativo. Este prototipo debe ser evaluado y adecuado en estudios paralelos a su uso a nivel nacional. Por esta razón, los dispositivos de captura incluidos en la trampa deben ser móviles para ajuste adecuado de altura en función al vigor de las variedades de café y a la actividad de dispersión del hongo. Datos de México sugieren que el nivel de daño como indicador de la variabilidad de la deposición de esporas es mayor en el estrato medio-alto (Figura 2).



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

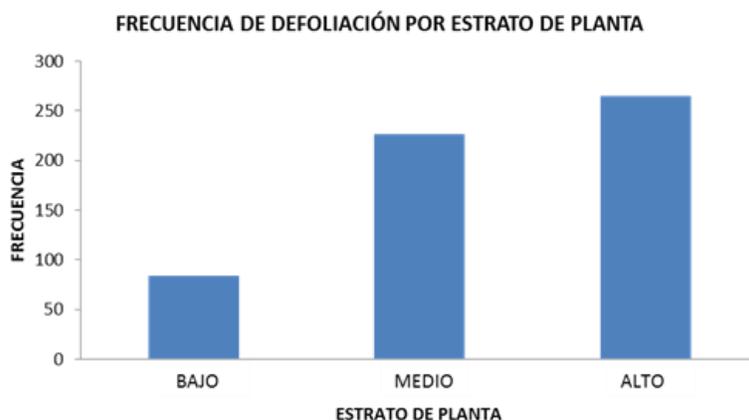


Figura 2. Variabilidad de alturas de deposición de esporas en estratos del dosel de plantas de café. Datos: DGSV, 2012.

Desarrollo del prototipo

Para el diseño del prototipo se consideraron tres elementos importantes relacionados con la dispersión de las esporas de la roya del café:

- 1) Superficie horizontal para captura por deposición
- 2) Colector plástico para escurrimiento pluvial
- 3) Simulador de un mini-túnel de viento para colecta por impacto

Se desarrolló el prototipo integrando los tres principios de captura sobre un eje vertical o soporte. Este eje es rígido para soportar los elementos de captura y para fijarse por presión dentro de la tierra a una profundidad de 50cm (Figura 3).

1. Superficie horizontal para captura por deposición

La captura de esporas por deposición se realizará mediante el uso de placa metálica (solera) de 35cm x 2cm (Figura 3: #9). Esta solera se perforará para insertarse en el soporte, se posiciona a una altura de 50 cm del suelo y se fijará con un par de anillos en la parte inferior y superior ajustados por presión mediante tornillos.

Sobre la solera y en los extremos se colocará un portaobjetos con vaselina u otro adherente. El portaobjetos se fijará dentro de los márgenes de la solera para evitar daño mediante clips metálicos



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

de presión previamente fijados a la solera con soldadura u otro método que cumpla la misma función. En la Figura 3, se emplea un sujetador de hojas utilizado frecuentemente en áreas administrativas, que permite fijar cada uno de los portaobjetos y dada su estructura facilita la colecta.

Se evaluará la altura adecuada sobre todo en lo que respecta a la contaminación de la muestra por salpiqueo de residuos sólidos como tierra y material orgánico que dificulten la observación de la muestra directamente sobre el microscopio para el conteo de esporas. La muestra consistirá de portaobjetos los cuales se identificarán al reverso con marcador indeleble con datos de lugar, fecha y colector. Los portaobjetos se reemplazarán al momento de la colecta con un nuevo portaobjetos preparado para ese fin.

2. Colector plástico para escurrimiento pluvial

En este caso se utilizará dos recipientes elaborados mediante el corte parcial de embases de 'refresco' (PET) de 3 litros. El corte parcial permitirá dejar una pared para la impactación que incrementará la captación de agua de lluvia. El dispositivo se colocará invertido conservándose la taparosca para retener y coleccionar la muestra respectiva. Otros dos envases del mismo material se usarán para cortar la parte superior del mismo y obtener un segmento que cumpla la función de embudo. En estos casos se conservará la taparosca sobre la cual se harán orificios que permitan filtrar residuos vegetales y otros sólidos (Apéndice 1 y Figura 3: #3).

Con el propósito de balancear el soporte y tener dos repeticiones por trampa para futuros análisis, los dispositivos se colocarán en forma opuesta y a diferentes alturas (Figura 3). Estos dispositivos se fijan con abrazaderas plásticas en forma de 'U' u otro material que cumpla la función. Para la colecta del líquido almacenado se quitará la tapa rosca de doble mecanismo tipo *Bonafont* ya que éste permite la colecta del líquido de forma controlada al emplear el tapón asociado a la rosca. Por efecto de gravedad se considera que la colecta de 1/3 del líquido almacenado será suficiente para la obtención de las esporas. El líquido se colocará en un frasco de plástico de 2x3cm para su traslado a laboratorio previa identificación con nombre de la parcela, nombre del colector, fecha, etc. Se requieren estudios preliminares si es necesario romper la tensión superficial del líquido previo a la



Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

colecta. Una vez colectado el líquido necesario, se elimina el líquido restante hasta que el recipiente quede vacío, con la tapa rosca debidamente colocada y lista para un nuevo proceso de captación. Adicionalmente, se incorpora a este dispositivo el elemento de medición de agua de lluvia o pluviómetro (Figura 3: #15). Este elemento considera el concepto de captación de agua de lluvia mediante las 2 repeticiones colocadas en la estructura de la trampa con el fin de complementar las variables del subsistema clima (temperatura, humedad relativa y humedad suelo) consideradas para el monitoreo. Para tal fin, se gradúa el dispositivo o botella base, es decir, la primer botella que cumple la función de retención de lluvia. Se propone usar, para la graduación, la conversión basada en que: una superficie de 1 m² capta 1 litro de agua, el cual es igual a 1 mm de lluvia. Considerando que una botella de PET de 3 litros tiene un radio en la parte media de 5.75 cm (área=103.86cm²), la proporción equivalente es una superficie de 103.86 cm² capta 0.104 litros de agua, igual a 0.104 mm.

3. Simulador de un mini-túnel de viento para colecta por impacto

El tubo mini-túnel de viento para colecta de esporas por impacto está elaborado básicamente con material PVC de uso doméstico. Consta de un tubo de 35 cm PVC de 5" cortado en forma trapezoidal con fines aerodinámicos (Figura 3: #2). En uno de los extremos del PVC, un trapecio rectángulo en forma de veleta de 12cm de alto, 17cm de base mayor y 5cm de base menor, se encuentra incrustado al tubo PVC mediante una ranura transversal de 10cm de profundidad y 1cm de ancho (Figura 3: #12). La veleta cumple con una función aerodinámica para ubicar el simulador en dirección del viento, acción que permite la colecta aérea de esporas. Para esta función giratoria el tubo de PVC tendrá un orificio en la parte central para insertarse en el soporte de acero.

Al otro extremo del PVC una laminilla en forma de pinza sujetadora de 2 cm ancho y 4cm de alto se incrusta a presión en la parte inferior del PVC (Figura 3: #11). La posición de esta laminilla es reclinada (45° aproximadamente) en dirección del extremo opuesto ya que la funcionalidad de esta posición tiene un efecto mayor en la captura con respecto a la posición vertical. La muestra contenida en el portaobjetos se retirará para su traslado a laboratorio previa identificación con nombre de la



Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

parcela, nombre del colector, fecha, tipo de adherente, etc. Una vez colectada la muestra, se sustituye el portaobjetos para un nuevo proceso de succión.

El simulador se sitúa a una distancia adecuada en función a la altura de la planta y se fijará por presión en el soporte de acero mediante los anillos metálicos en la parte superior e inferior (Figura 3: #6-7).

4. Soporte de acero

Los tres dispositivos mencionados anteriormente se encuentran fijados y ajustados a una varilla de acero de ½” que cumple la función de soporte (Figura 3: #1). La varilla de soporte está dividida en dos tramos de 1.50 mts con la finalidad de ajustar el tamaño de acuerdo a las condiciones de la planta. Ambas varillas se unen mediante abrazaderas metálicas forma de ‘U’ ajustadas con tuercas tipo mariposa (Figura 3: #10). Esta estructura estará fijada por presión dentro de la tierra a una profundidad de 50 cm. Para este fin, el soporte posee una varilla transversal de 20 cm soldada a 50 cm con el fin de ser usado para introducir el soporte en el suelo por golpeo, delimitar la profundidad y dar estabilidad al soporte (Figura 3: #14). Considerando el traslape de varillas y la porción enterrada, la altura máxima de la trampa una vez instalada será de aproximadamente 2 m.



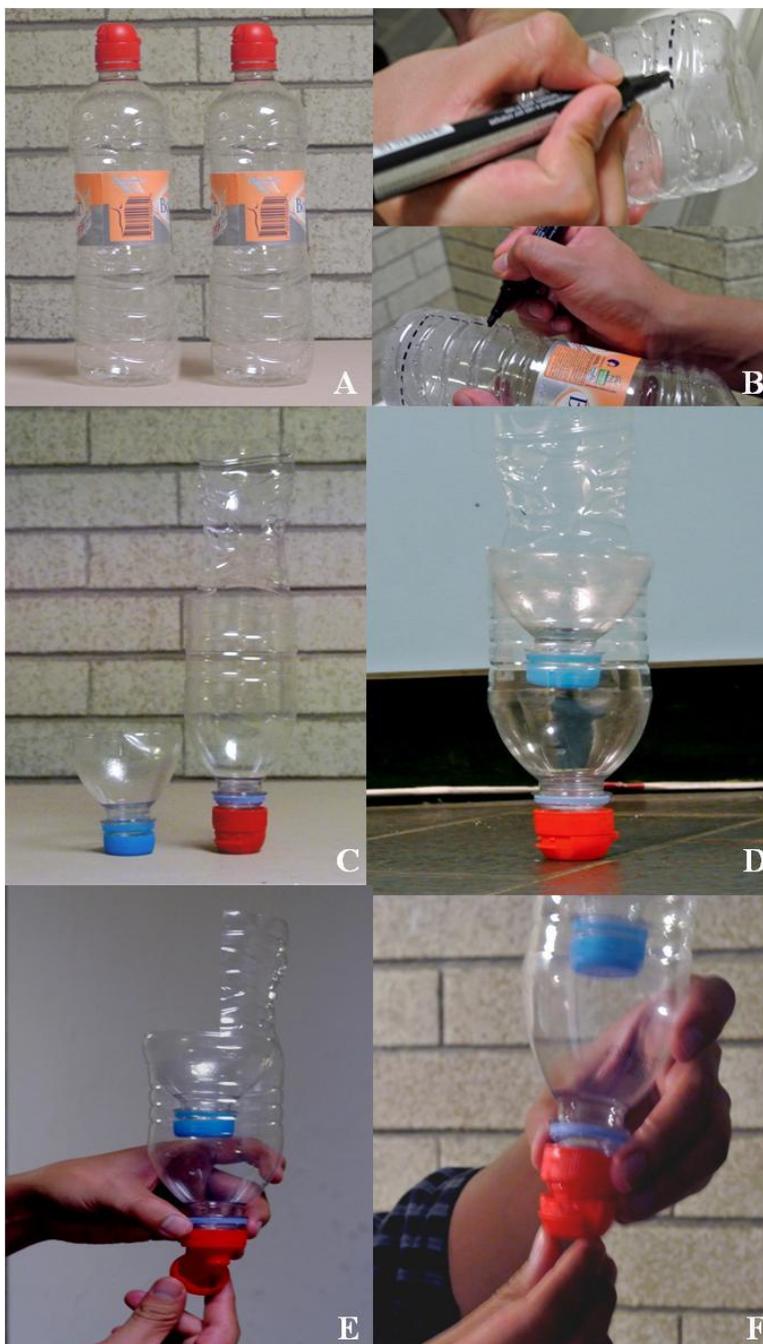
**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**



Figura 3. Prototipo de trampa de impacto-deposición-escurrimiento para colecta pasiva de esporas de roya del café: A). Prototipo general de la trampa usado en práctica de campo en Coatepec, Veracruz; y B). Estructura integrada de la trampa caza-esporas: 1) Varilla de acero 1/2" 2 tramos de 1.50 mts, 2) Tuvo PVC 5", 3) Botellas plástica de 3 lts con taparrosca (4), 4) Portaobjetos (3), 5) Sujetador de hojas (2), 6) Abrazaderas metálicas de 3/4" (4), 7) Rondana de 3/4" (1), 8) Cinchos sujetadores (4) o alambre requemado (1 m), 9) Solera de 35cm x 2 cm (1), 10) Abrazadera metálica en forma de 'U' (1) con tuercas tipo mariposa (2), 11) Soporte de lámina (1), 12) Veleta de plástico o cartón plastificado (1), 13) Adherente (vaselina o stick), 14) Varilla de 40 cm para soporte a una altura de 40cm, 15) Botella de doble propósito: trampa y pluviómetro.

Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Apéndice 1. Proceso para elaborar colector de esporas por escurrimiento de agua de lluvia: A) Botellas de PET (BONAFONT) con taparosca de doble propósito, B) Delimitación de área de corte, C) Elementos después del corte, D) Montado de los dos elementos con conforman el colector, E) Ejemplo de forma de toma de muestra y F) Sellado para nueva muestra.



**Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria**

Literatura Citada

- Edmonds, R. L. and Driver, C. H. 1974. Dispersion and deposition of spores of *Fomesannosus* and fluorescent particles. *Phytopathology* 64: 1313-1321.
- Fitt, B. D. L. 1983. Evaluation of samplers for splash-dispersed fungus spores. *EPPO Buil* 13(2):57-61).
- Hopkins, J. C. 1959. A spore trap of the vaseline slide type. *Can. J. Botany* 37:1277-1278.
- Hunter, J. E. and Kunimoto, R. K. 1973. Dispersal of *Phytophthora palmivora* sporangia by wind-blown rain. *Phytopathology* 64: 202-206.
- Kerssies, A., Bosker-van Zessen, A. I. and Frinking, H. D. 1998. Impaction of conidia of *Botrytis cinerea* in glasshouses on different spore trap orientations. *Crop Protection* 17(2):181-183.
- Mora-Aguilera, A., Noriega-Cantú, D. H., Téliz-Ortíz, D. y Mora-Aguilera, G. 2000. Diseño de una trampa volumétrica de esporas de cloruro de polivinilo (PVC) con tambor giratorio a 7 días. XXVII Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puerto Vallarta, Jalisco. 9-13 Julio. L-65.
- Mora-Aguilera, J. A. 2000. Patogénesis y epidemiología de la "escoba de bruja" (*Fusarium subglutinans* (Wollemewb & Reinking) y *F. oxysporum* (Schlecht)) del mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. Tesis Doctorado CP Montecillo, Mexico.
- Mora-Aguilera, A. A., Teliz, O.D., Mora-Aguilera, G., Sánchez, G. P., Javier, M.J. 2003. Progreso temporal de la escoba de bruja" (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:1-12.
- Noriega, C. D. H., Mora-Aguilera, G., Rodríguez, A. J., Zavaleta, M.E., Otero, C. G., and Campbell, C. L. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, México, with traditional and Integrated Management. *Plant Dis.* 83: 223-228.
- Peterson, A. 1959. *Entomological Techniques How to Work with Insects*. The Ohio State University, Columbus, Ohio. Ed. Edwards brothers Inc. Michigan, USA. 435 p.
- Rayner, R. W. y Hons, B. A. 1972. *Micología, historia y biología de la roya del cafeto*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. Centro Tropical de Enseñanza e Investigación. Turrialba, Costa Rica.



Dirección General de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

- Reyes-González, B., Mora-Aguilera, G., Osada-Kawasoe, S. y Téliz-Ortiz, D. 2002. Etiología y epidemiología de caída prematura de frutos (*Colletotrichum acutatum*) en el norte de Veracruz, México. Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Monterrey, Nuevo León, México. F-144.
- Roelfs, A. P., Rowell, J. B. and Roming, R. W. 1970. Sampler for monitoring cereal rust uredospores in rain. *Phytopathology* 60(1):187-188.
- Sutton, T. B. and Jones, A. L. 1975. Evaluation of four sporetraps for monitoring discharge of ascospores of *Venturiainaequalis*. *Phytopathology* 66: 453-456.
- Van der Zwet, T. and Lewis, W. A. 1963. Simple technique for studying dispersal pattern of ascospores of *Mycosphaella aleuriditidis*. *Phytopathology* 53:734-735.

