

Mal de Viñas del café: ¿biótico o abiótico?¹

Helda Morales², Margarita Palmieri³ y Michael W. Dix⁴

Resumen. El Mal de Viñas (MDV) es una enfermedad que ha provocado graves pérdidas para los caficultores del oriente de Guatemala. A pesar de los esfuerzos realizados por diversas instituciones no se ha determinado cual es su agente causal. La sintomatología del MDV (amarillamiento y defoliación irreversibles, así como pobre desarrollo radicular) sugiere que el agente causal es un patógeno. Por otro lado el suelo de la región afectada por la enfermedad presenta un pH bajo (4.70 menos) asociado a altos niveles de aluminio, sugiriendo que el MDV es una enfermedad de origen abiótico. Para determinar si el MDV es un problema biótico o abiótico se trató de establecer algo en patógeno asociado por medio de examen microscópico de tejidos y fluidos así como por aislamiento de patógenos. También se realizaron ensayos a nivel de invernadero para tratar de reproducir los síntomas de la enfermedad. Los resultados sugieren que el MDV es una enfermedad de etiología compleja, pero principalmente de origen abiótico, en donde la acidez de los suelos, en conjunto con altos niveles de aluminio, parecen jugar un papel importante.

Palabras Clave: Mal de Viñas, decaimiento, patógenos del cafeto, acidez de suelos, factores abióticos, diagnóstico, Guatemala.

Abstract. Mal de Viñas (MDV), is a disease of unknown origin causing severe losses among coffee growers in Eastern Guatemala. Typical symptoms (yellowing and defoliation, poor growth, aborted fruit production and poor root growth) suggest a pathogen. However, where the symptoms are present the soil has a very low pH (4.7 or less) associated with high aluminum, manganese and iron levels suggesting that the pathology of MDV may be abiotic. To determine if MDV is a biotic or abiotic problem, associated pathogens were searched by light microscopy of tissues and fluids and by microbiological techniques. Greenhouse trials, which attempted to reproduce MDV symptoms following Koch's postulates, suggested that MDV has a complex etiology, but symptoms are caused mainly by abiotic factors, where soil acidity together with high aluminum levels play an important role.

Key Words: Mal de Viñas, decline, coffee pathogens, soil acidity, abiotic factors, diagnosis, Guatemala.

INTRODUCCION

El Mal de Viñas (MDV) del cafeto (*Coffea arabica* L.) es una enfermedad que se manifiesta con

amarillamiento, defoliación y a veces flacidez irreversibles del cafeto (García 1986; Riveiro 1989). El MDV se ha asociado a la zona sur oriental de Guatemala, en los alrededores de la localidad Pueblo Nuevo Viñas, de

¹ Este trabajo forma parte del proyecto Mal de Viñas, realizado por el Instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala, con financiamiento de Asociación Nacional del Café (ANACAFE).

² School of Natural Resources, University of Michigan. Ann Arbor, Michigan, 48109 U.S.A. E-mail: hmoales@umich.edu

³ Virología Vegetal. Universidad del Valle de Guatemala. Apartado Postal 82, 01901, Guatemala, Guatemala. Fax: 502-3640212, E-mail: mata@uvg.edu.gt

⁴ Centro de Estudios Ambientales, Universidad del Valle de Guatemala. Apartado Postal 82, 01901, Guatemala, Guatemala. E-mail: mdix@uvg.edu.gt

donde se origina su nombre (Riveiro y Ordóñez 1989).

Esta enfermedad, que causa graves pérdidas para los caficultores del oriente de Guatemala, ha sido reportada en otras zonas del país como San Marcos (MacVean 1992), Volcán Moyuta en Jutiapa, en el Valle de Polochic, en Izabal, e inclusive en Jalapa, Veracruz, México y en Colombia (Valencia-Aristizábal 1978). Dada la sintomatología del MDV, se puede pensar que el agente causal sea un patógeno del tipo de fitomonas (Stahel 1917; Vermeulen 1968), virus (Gilberschmidt y Bitancourt 1965), micoplasmas (Lafliche y Bové 1970) o bacterias (Kunkel 1926; Davis y Whitcomb 1971), en cuyo caso la enfermedad se podría transmitir por la savia. Las raíces de cafetos afectados por MDV poseen pocas raicillas absorbentes y las raíces secundarias, y la pivotante, sufren torceduras y algunas veces pudrición, lo que sugiere que el agente causal se puede encontrar en el suelo (nematodos, hongos, bacterias) (Beckman 1964) y que por lo tanto los síntomas podrían ser reproducidos al sembrar cafetos sanos en suelo de una finca afectada. Sin embargo, en estudios de monitoreo de patógenos, no se ha encontrado ninguno que explique los síntomas afectadas por MDV, y otra posibilidad sería que sean provocados por algún agente abiótico (Alvarez 1989; Flores 1988), que se expresa por trastornos fisiológicos como en el decaimiento fisiológico de "Lyamangu" en África (Burdekin y Baker 1964).

La mayoría de fincas afectadas por MDV tienen suelos ácidos y con altas cantidades de aluminio (MacVean 1992, Ortiz *et al.*, 1996). Durante los últimos 10 años, las fincas han adoptado nuevas tecnologías recomendadas por estudios realizados en Turrialba, Costa Rica. Estas incluyen la eliminación de sombra con el afán de obtener mayores rendimientos y fuertes aplicaciones de fertilizantes sintéticos (Rice, 1991). Este manejo podría ser el responsable de la acidez y disponibilidad de aluminio en el suelo. La sintomatología causada por toxicidad de este elemento coincide con los síntomas mencionados (Pavan y Binham 1982). Si ésta fuera la causa de la enfermedad, también se podría adquirir sembrando cafetos en el invernadero en suelo de fincas enfermas o en suelos acidificados.

El objetivo de este trabajo fue determinar el carácter biótico o abiótico del MDV.

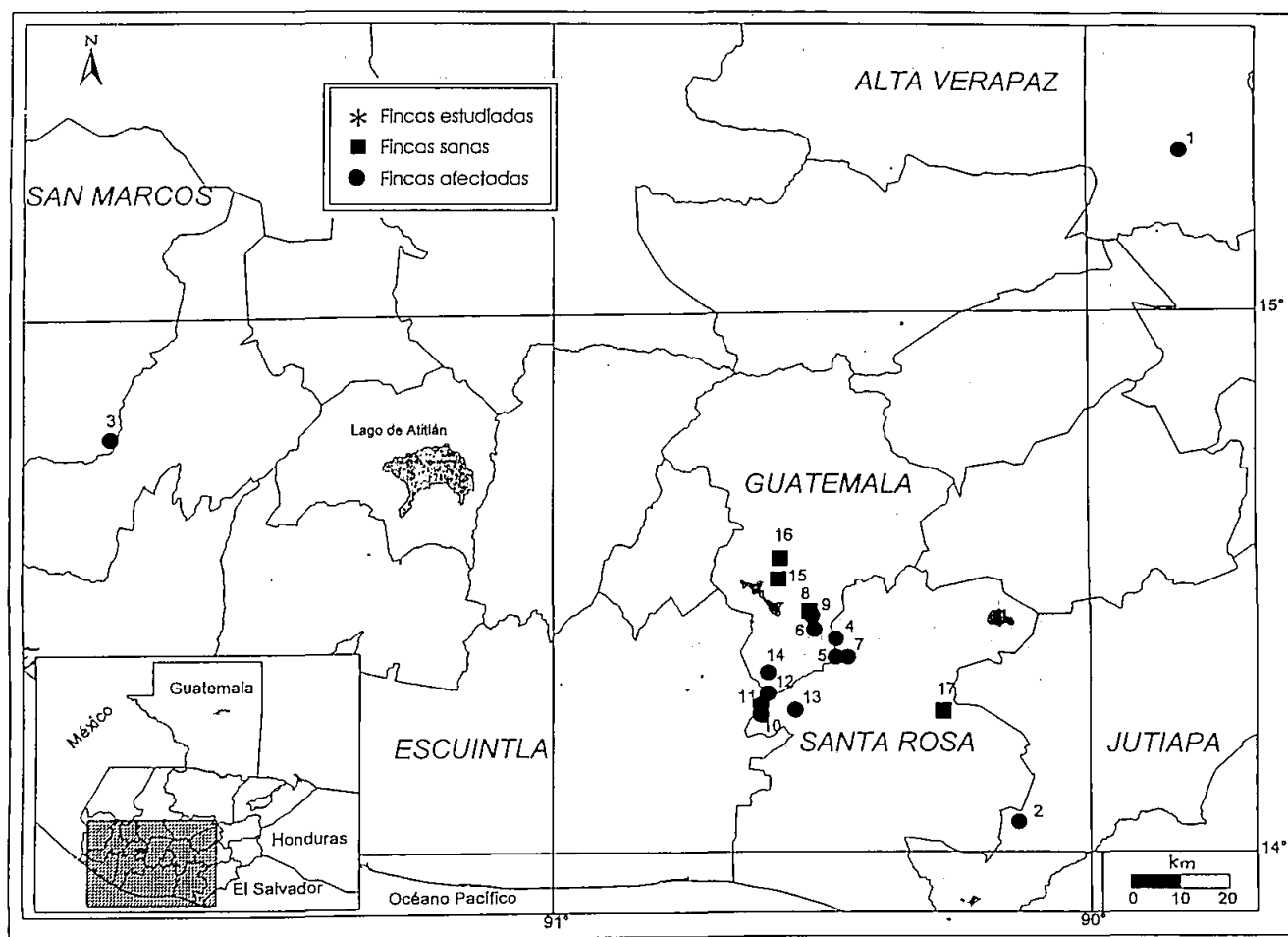
MATERIALES Y METODOS

La búsqueda de agentes patogénicos se hizo por medio de técnicas de microscopía y ensayos de transmisión. El trabajo de campo se realizó en ocho fincas cafetaleras localizadas en los departamentos de Santa Rosa y Guatemala, de las cuales cuatro presentaron una historia de mortandad súbita (Figura 1). En Santa Rosa se estudiaron las fincas Los Pocitos, El Naranjito, Palmira, Cerro Redondo, Sonrisa y San José las Flores. En Guatemala, se estudiaron las fincas de Moran y San Agustín Las Minas. Esta región se caracteriza por una época de sequía marcada de 5 a 6 meses y menos de 2,000 mm de precipitación anual (INSIVUMEH, estación meteorológica de Pueblo Nuevo, Viñas). Además, como se han observado decaimientos similares en otras regiones, se realizaron muestreos ocasionales en la finca Oná, departamento de San Marcos. Las investigaciones de laboratorio e invernadero se realizaron en la Universidad del Valle de Guatemala entre 1990 y 1993.

1. Búsqueda de agentes patogénicos

Durante dos años, se tomaron muestras mensuales de raíces, tallo y suelo en cuatro fincas con MDV y cuatro sin MDV, para detectar microorganismos asociados a la enfermedad. Las muestras para estudios en vivo fueron recolectadas y almacenadas en una hielera. Las muestras para histología fueron fijadas directamente en el campo con glutaraldehído al 2% y almacenadas a 4°C. En cada finca se muestrearon dos cafetos sanos y dos enfermos, de acuerdo a los índices de MDV descritos en el Cuadro 1. Se tomaron muestras de todos los índices, a excepción del índice 8, porque no es fácil separar microorganismos patógenos de los saprófitos en una planta muerta. Los índices considerados son una modificación de los índices de Flores (1988). Dada la dificultad de distinguir tantas etapas en el campo, se incluye únicamente seis etapas de las nueve descritas por él. Los índices descritos en el Cuadro 1 corresponden a niveles de defoliación estimados visualmente.

Los índices de defoliación presentan algunos problemas, por lo que además de la defoliación, se consideraron otras características para tomar las muestras.



- | | | |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Finca La Constancia | 7. Finca Los Pocitos * | 13. Finca Palmira * |
| 2. Finca La Presa | 8. Finca San José Las Flores * | 14. Finca El Salitrillo |
| 3. Finca Oná * | 9. Finca San José Valentón | 15. Finca Moran * |
| 4. Finca Cerro Redondo * | 10. Finca El Naranjito * | 16. Finca San Agustín Las Minas * |
| 5. Finca Las Viñas | 11. Finca Las Margaritas | 17. Sonrisa * |
| 6. Finca La Concha | 12. Finca La Pastoría | |

Figura 1. Area afectada por Mal de Viñas, y localización de las fincas estudiadas por el Proyecto Mal de Viñas (Universidad del Valle-ANACAFE). 1993.

Los índices 0, 2 y 4 pueden estar asociados a plantas sanas o enfermas, debido a que la fenología normal del café incluye cierta defoliación no patológica, principalmente por influencia climática, estrés por la maduración del fruto y pérdida de hojas durante la cosecha. Debido a esto, también se clasificaron las plantas usando índices de clorosis y flacidez, que se

evaluaron según si la planta los presentaba (1) o no (0). La presencia de estos síntomas, combinada con índices mayores o iguales a 4, corresponden a plantas enfermas. Además, se observó que las plantas con MDV presentan más fruto vano, menor distancia de entrenudos, falta de crecimiento apical, ramas y raíces.

Cuadro 1. Descripción de los índices de defoliación del Mal de Viñas, utilizados para la recolección de muestras de fitopatología e histología. Los índices 0 y 2 corresponden a plantas sanas y los índices mayores o iguales a 4 corresponden a plantas enfermas.

Indice	Sintomatología
0	Planta sana sin defoliación
2	Defoliación menor de 30%
4	Defoliación entre 30% y menos de 60%
6	Defoliación entre 60% y menos de 80%
7	Defoliación muy severa, arriba del 80%
8	Completamente defoliada, muerta

1.1 Detección de microorganismos

Para estudios en vivo, se desinfectaron las muestras con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 5% durante 30 minutos y etanol al 70% durante 20 minutos y se tiñeron con cristal violeta al 1%. Se extrajo la savia del tallo teñido, comprimiéndolo con un alicate y colocando gotas en portaobjetos, con y sin amortiguador de fosfatos 0.1 M y pH 7.2. Esto se hizo principalmente para la detección de fitomonas, bacterias y hongos microscópicos. Las muestras se observaron en microscopio de luz y contraste de fases.

Con la savia extraída, se elaboraron frotis periféricos que se colorearon con Giemsa y Gram. Se hicieron 600 frotis con Giemsa y 250 con Gram. Se utilizó como control positivo para fitomonas, el látex extraído de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) por encontrarse infestadas con fitomonas en los canales de látex. Para la detección de micoplasma se utilizó la coloración de Dienes, en cortes de tallo a mano libre de más o menos 100 micras de grosor (Deeley *et al.* 1979). Se examinaron 250 muestras. Se utilizó como control positivo una muestra de papa afectada por Punta Morada, que es causada por un micoplasma.

Para la detección de virus se hicieron 250 coloraciones con Azure A y Calcomine Orange Green (Christie y Edwardson 1977). Como control positivo se utilizaron plantas de arveja china (*Pisum sativum* L.) y orquídeas infectadas con virus. Los resultados fueron comparados con los obtenidos en hojas de cafeto sanas. Además se hicieron cortes de parafina de 10 pedúnculos de plantas

sanas y 10 de plantas con MDV coloreados con Azure A para corroborar los resultados obtenidos en hojas con la técnica manual

Para identificar hongos y bacterias asociadas al MDV, las raíces fueron sembradas en agar papa-dextrosa acidificado (PDA), agar agua y Nash y Snyder con pentacloronitrobenzeno (PCNB). Las bacterias aisladas se identificaron hasta género, utilizando tinciones de Gram y tres medios selectivos: levadura-dextrosa-carbonato de calcio (YDC), King B y D-1 (Schaad 1988).

Para la determinación de poblaciones de nematodos se analizaron raíces y muestras de suelo con el método de centrifugación y flotación con azúcar (Zuckerman *et al.* 1985)

2. Ensayos de transmisión

Con el fin de reproducir los síntomas del MDV y por lo tanto determinar el agente causal, se realizaron tres ensayos en el invernadero.

2.1 Inoculación de hongos y bacterias

Los hongos y bacterias encontrados con frecuencia en plantas con MDV se inocularon en plántulas sanas de café cultivadas en el laboratorio, para determinar su patogenicidad. Con de *Fusarium oxysporum*, 48 plántulas de un mes de edad se sembraron en vasos plásticos de 350 cc con suelo esterilizado con bromuro de metilo. El diseño fue de parcelas sub divididas, con tres repeticiones. Se evaluaron los siguientes factores y niveles: 1. inoculación: con y sin *F. oxysporum*; 2. humedad: alta y normal; 3. poda de raíces: con y sin y 4. pH: ácido y neutro.

Antes de la siembra, las raíces de 24 de las plántulas se sumergieron en una suspensión acuosa con 3.85×10^7 microconidias /ml de *F. oxysporum*. La humedad, el pH y la poda de raíces pueden ser factores muy importantes en la inoculación y penetración del hongo (Alvarez 1945). Algunos hongos necesitan alta humedad para desarrollarse, y otros, no se desarrollan en esas condiciones lo mismo puede ocurrir con el pH del suelo (Alvarez 1945). Con el fin de establecer las condiciones óptimas del hongo, la mitad de las plantillas se regaban cada tres días para mantener una humedad normal, mientras que la otra mitad se regaba diariamente y permanecieron cubiertas con bolsas plásticas transparentes para mantener una alta humedad.

Asimismo, la mitad de las plantillas se sembraron en suelo acidificado (pH 3.86) y la otra mitad en suelo con un pH neutro (7). El suelo se acidificó con ácido clorhídrico al 10%, antes de colocarlo en recipientes de 500 ml donde se sembraron las plantillas. Se sabe que algunos hongos necesitan una herida para penetrar a la planta, por lo que a la mitad de las plantillas se les podaron las raíces.

En las *Pseudomonas* spp. aisladas de cafetos con MDV, se inocularon en plántulas sanas de café y tabaco. La inoculación se realizó inyectando 1 cc de una solución acuosa conteniendo 10^5 unidades formadoras de colonias (CFU). El tabaco se utilizó porque es hipersensible a bacterias patogénicas, mostrando lesiones que indican patogenicidad (Schaad 1988). Para este ensayo se estableció un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones y los cuatro tratamientos siguientes: 1. plántulas de café inoculadas con bacterias, 2. plántulas de café inoculadas con agua esterilizada, 3. plantas de tabaco inoculadas y 4. plantas de tabaco inoculadas con agua esterilizada.

En el caso de las bacterias y de los hongos, durante un año se realizaron observaciones diarias para detectar cualquier sintomatología anormal.

2.2 Transmisión por la savia

Este ensayo pretendía probar si el MDV es transmisible por medio de la savia y por lo tanto si su agente causal es algún virus, micoplasma o bacteria. Esto se llevó a cabo por medio de injertos de material con y sin MDV. Los patrones fueron cafetos sanos de un año de edad, provenientes de una plantación libre de MDV, en macetas plásticas de 18 l, con una mezcla de suelo, aserrín y estiércol de caballo. Esta mezcla fue esterilizada con bromuro de metilo. Se evaluaron 10 tratamientos: 1. Injerto enfermo sobre patrón sano, 2. Injerto enfermo sobre patrón sano, descopado, 3. Injerto enfermo sobre patrón sano, realizado en el campo antes de ser transportado al invernadero, 4. Injerto enfermo sobre patrón sano, descopado, realizado en el campo antes de ser transportado al invernadero, 5. Injerto sano sobre patrón sano, 6. Injerto sano sobre patrón sano, descopado, 7. Planta con corte para injerto (testigo), 8. Planta con corte para injerto, descopada (testigo), 9. Testigo absoluto y 10. Testigo absoluto, descopado.

El tratamiento 1 permitía contacto de savia de una

planta afectada por MDV con una planta sana, que al recibir algún patógeno causal de la enfermedad manifestaría los síntomas. El tratamiento 2, al estar descopado, aceleraría la obtención de los resultados puesto que aparecerían hojas y ramas nuevas. Los tratamientos 3 y 4 tenían los mismos fines que los dos primeros, pero los injertos se realizaron en el campo para evitar que la temperatura y la deshidratación del traslado hasta el invernadero provocaran eventualmente la muerte de un posible patógeno. Inmediatamente después se trasladaron al invernadero con los otros tratamientos. Los tratamientos 5, 6, 7 y 8 son testigos relativos para asegurar que los síntomas fueran provocados por el contacto con savia enferma y no por la acción del injerto, corte o descopado.

En los cuatro primeros tratamientos se utilizaron para injerto yemas de plantas provenientes de una finca afectada y con clara sintomatología de MDV. Las yemas fueron injertadas en las plantas sanas y tapadas con Parafilm. Las yemas injertadas en los tratamientos 5 y 6 provenían de las mismas plantas sanas del invernadero.

El diseño estadístico fue completamente al azar con seis repeticiones. Las variables a medir fueron: defoliación, clorosis y flacidez. Las observaciones se realizaron en un período de 12 meses. Para el análisis de resultados se realizó una prueba de Chi cuadrado utilizando el programa estadístico de SPSS/PC (SPSS Inc. 1990).

2.3 Transmisión por el suelo

El objetivo de este ensayo fue determinar si el MDV es causado por algún agente biótico (hongos, bacterias, nematodos) presente en el suelo o por un factor abiótico (acidez del suelo asociada con altos niveles de aluminio).

Se sembraron cafetos sanos de un año de edad, provenientes de una región libre de MDV, en macetas plásticas de 18 L con suelo proveniente de una finca afectada por MDV. En un diseño de parcelas divididas, con 12 repeticiones. Se evaluaron las siguientes combinaciones: 1. Suelo esterilizado con bromuro de metilo sin corrección de pH, 2. Suelo sin esterilizar sin corrección de pH, 3. Suelo esterilizado con corrección de pH utilizando cal dolomítica. 4. Suelo sin esterilizar con corrección de pH. La combinación número 1 evalúa si el MDV es provocado por un factor abiótico (acidez en el suelo y consecuente toxicidad por aluminio). La segunda

y tercera combinación permiten determinar si el MDV es transmisible por el suelo. Finalmente el cuarto tratamiento permite determinar si el MDV es provocado por un factor biótico (nematodos, bacterias, hongos).

La esterilización del suelo se realizó con bromuro de metilo. El pH del suelo fue alterado tratando la mitad del suelo con cal dolomítica (145 g por maceta), llevándolo a un pH de 6.15. El suelo no tratado con cal mantuvo un pH promedio de 4.72.

Las variables a medir fueron: defoliación, clorosis y flacidez. Las observaciones se realizaron cada dos meses durante dos años. Para el análisis de resultados se realizó una prueba de Chi cuadrado utilizando el programa estadístico SPSS/PC (SPSS Inc.1990).

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Detección de microorganismos

No se detectó la presencia de fitomonas, micoplasmas ni virus. En la savia se encontraron bacterias, levaduras, micelio de hongos, esporas y protozoarios no identificados hasta género, pero en poca cantidad y no mostraron un patrón que diferenciara plantas sanas de

enfermas (Figura 2). A pesar de que se encontraron más levaduras y micelio de hongos en las plantas enfermas, las diferencias observadas están relacionadas con flora oportunística y se pueden encontrar en tejido muerto o dañado por esta enfermedad.

Los hongos aislados de las raíces fueron *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Aspergillus* sp. Los cuatro primeros fueron los más frecuentes. Se aislaron dos bacterias: *Pseudomonas* spp. y una bacteria amarilla no identificada que raramente apareció. Todos estos microorganismos eran más frecuentes en las raíces de plantas sanas, a excepción de *F. oxysporum* y *Pseudomonas* spp., lo que sugiere alguna relación de estos dos microorganismos con la enfermedad. El análisis estadístico muestra que no hay diferencias en la incidencia de *F. oxysporum* entre fincas afectadas y no afectadas con MDV, pero sí en la incidencia de bacterias (P=0.018) (Cuadro 4). Sin embargo, los resultados de las pruebas de patogenicidad que se muestran más adelante, indican que *Pseudomonas* spp. no es el agente causal del MDV.

MICROORGANISMOS

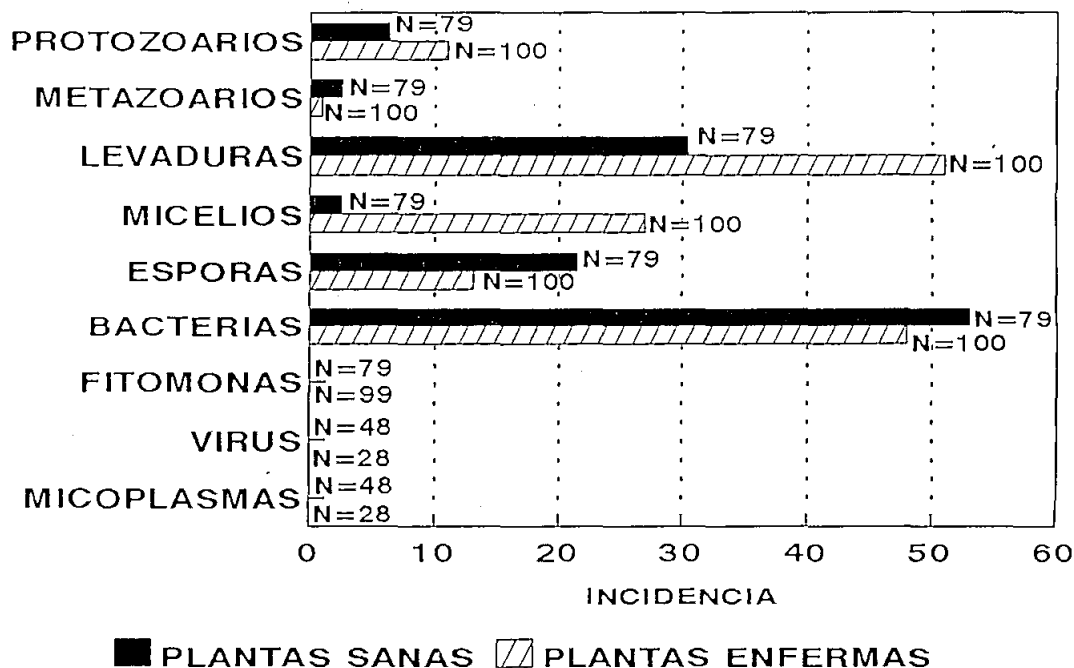


Figura 2. Incidencia de microorganismos en la savia de tallos de cafetos sanos y afectados por el Mal de Viñas.

Cuadro 4. Incidencia de *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. y *Pseudomonas* sp. en raíces de cafetos sanos y afectados por el Mal de Viñas.

Microorganismos	Incidencia en Cafetos		Significancia ^a
	Sanos	Enfermos	
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	68	34	P=0.0687
<i>Fusarium oxysporum</i>	77	86	P=0.9588
<i>Trichoderma</i> sp.	68	56	P=0.6560
<i>Penicillium</i> sp.	57	52	P=0.7642
<i>Pseudomonas</i> sp.	57	84	P=0.0180

^aValores de P de una prueba de Chi cuadrado

En los análisis de raíces y suelo se encontraron varias especies de nematodos, siendo la más comúnmente encontrada *Pratylenchus coffeae* (Filipjiev). Se ha

sugerido que este nematodo juega un papel importante en el MDV (Quiroz 1994). Efectivamente, en promedio, hay mayor cantidad de *P. coffeae* en las fincas afectadas por MDV (461 nematodos/10 g de raíz), que en las fincas sanas (190 nematodos/10 g de raíz). Sin embargo, la Figura 3 muestra que únicamente dos fincas son las que aumentan el promedio. Si se eliminan las fincas Cerro Redondo y Naranjito, el promedio de *P. coffeae* en las fincas afectadas por el MDV es similar al de las fincas sanas. Estos resultados sugieren que los nematodos no parecen ser la causa del Mal de Viñas. Es necesario realizar más investigaciones sobre *P. coffeae* en los cafetales del suroriente de Guatemala, ya que en varias fincas estos nematodos sobrepasan el nivel considerado como crítico (200 nematodos/10 g de raíz) (Alvarez 1989). En las fincas afectadas por MDV, poblaciones de 900 nematodos/10 g de raíz, seguramente están agravando la situación de los cafetales.

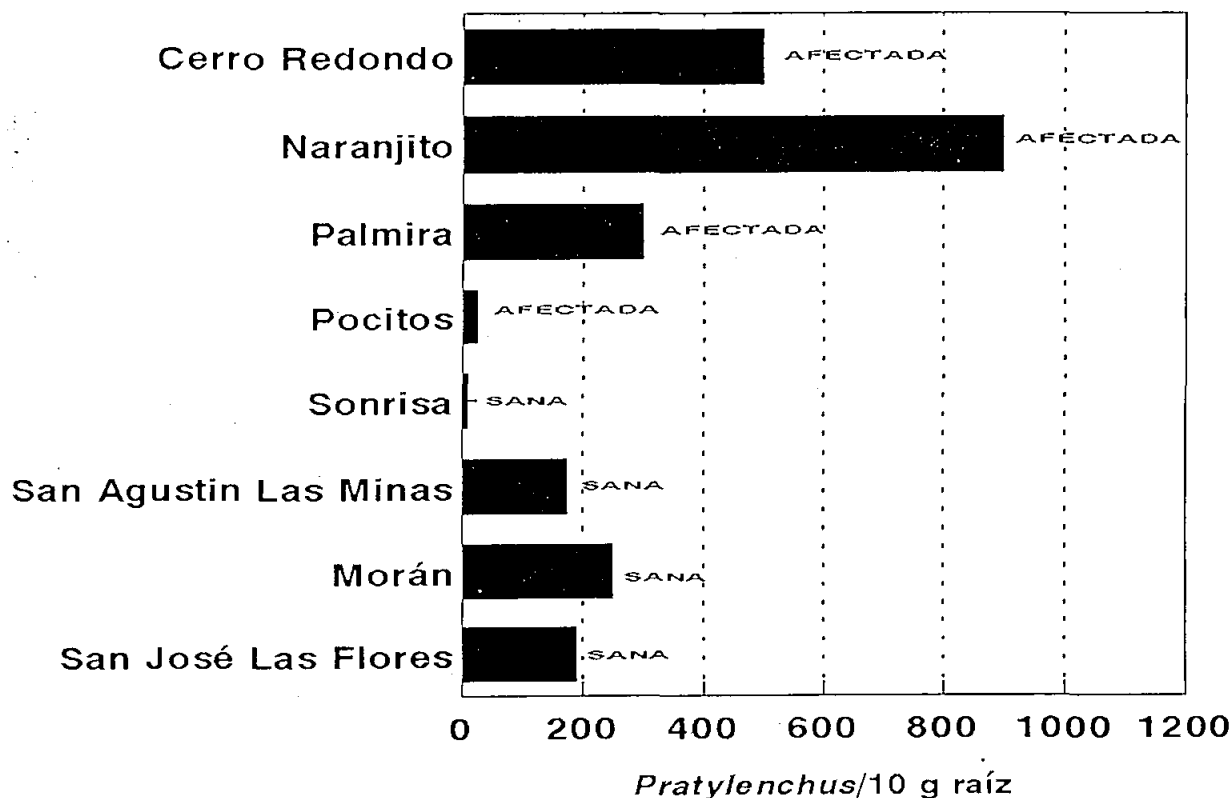


Figura 3. Número de *Pratylenchus* por 10 g de raíz de cafetos en fincas con y sin Mal de Viñas.

3. Ensayos de transmisión

3.1 Inoculación de hongos y bacterias

Ni las 24 plantillas inoculadas con *F. oxysporum*, ni las ocho inoculadas con *Pseudomonas* sp. presentaron sintomatología. Existe discusión sobre la certeza de las pruebas de patogenicidad, ya que los microorganismos pueden perder su patogenicidad al ser cultivados en el laboratorio o puede ser que las condiciones del invernadero no sean las adecuadas para el desarrollo del patógeno (Alvarez 1945). Sin embargo, los datos de campo mostrados anteriormente refuerzan los hallazgos del invernadero: no todas las plantas con MDV presentan *F. oxysporum* y/o *Pseudomonas*, mientras que plantas sanas también los presentan en ocasiones. Algunas cepas de *Pseudomonas* spp. son saprófitas (Domsch *et al.*, 1980) y el hecho de que los cafetos con MDV presenten raicillas muertas, podría explicar que este microorganismo se encuentre en mayor cantidad en las plantas afectadas por MDV. Los cafetos debilitados y las raicillas muertas podrían brindar las condiciones apropiadas para el desarrollo de saprófitos u oportunistas. Los datos de campo, aunados con las pruebas de patogenicidad sugieren que ninguno de estos microorganismos son los causantes del MDV.

3.2 Transmisión por la savia

Ninguno de los 24 patrones con injertos provenientes de plantas con MDV presentó sintomatología de la enfermedad en los 12 meses de seguimiento, lo cual sugiere que el MDV no es transmisible por injerto. Existe discusión sobre la certeza del diagnóstico de virus, mycoplasmas, bacterias o *Phytoplasma* sp. por medio de injertos (Agrios 1985; Kitajima *et al.* 1986), sin embargo los resultados de este ensayo conjuntamente con los resultados del análisis histológico sugieren que el MDV no es causado por estos organismos.

3.3 Transmisión por el suelo

La defoliación y amarillamiento, síntomas de MDV, se lograron reproducir en algunos de los cafetos sembrados en suelo proveniente del área afectada. En la Figura 4 se observa que el porcentaje de plantas defoliadas parece mayor en los tratamientos sin cal (pH=4.72), que en los tratamientos con cal (pH=6.15). Sin embargo, al realizar la prueba de Chi cuadrado promediando todos los muestreos no se encontró

diferencia significativa entre los tratamientos ($P=0.97$). Al realizar la prueba para cada una de las fechas de muestreo se observó diferencia significativa entre los tratamientos con cal y sin cal ($P=0.09$) únicamente a los 14 meses de montado el ensayo, y nunca hubo diferencia entre los tratamientos de suelo esterilizado y no esterilizado ($P=0.95549$). En el amarillamiento se observaron diferencias en todo el transcurso del ensayo (Figura 4). El porcentaje de plantas con amarillamiento fue mayor en las sembradas en suelo sin corrección de pH que en las sembradas en suelo con corrección ($P=<0.001$). Esto, aunado con no haber encontrado diferencia entre los tratamientos de suelo esterilizado y suelo no esterilizado ($P=0.45$), son claves en el diagnóstico del MDV.

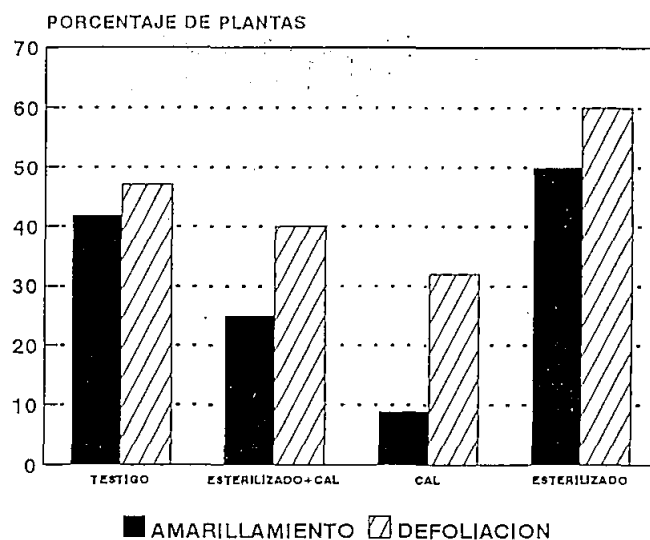


Figura 4. Porcentaje de amarillamiento y defoliación en cafetos sembrados en suelos de una finca con Mal de Viñas (n=12).

La acidez del suelo puede causar problemas por sí sola al inhibir la absorción de fosfatos. Estos suelos presentan además altos niveles de aluminio (alrededor de 118 ppm), que aunados a la acidez inhiben el crecimiento del sistema

radical. A pesar de las diferencias entre los tratamientos, con y sin corrección de pH, el porcentaje de plantas con sintomatología de MDV fue relativamente bajo (menos del 40%). Esto contrasta con observaciones realizadas en las fincas Los Pocitos y El Naranjito, donde al inicio del estudio, el total de la población estaba completamente afectada. Esto sugiere que la acidez del suelo juega un papel importante en el MDV, pero no parece ser el único factor responsable: el MDV parece ser una enfermedad de etiología compleja. El ensayo se realizó en un invernadero en donde las plantas fueron regadas dos veces por semana con un litro de agua desionizada. En el campo, en cambio, las plantas sufren mayor estrés ya que las fincas afectadas a partir de los años setenta, han adoptado nuevas tecnologías recomendadas por estudios realizados en Turrialba. Estas incluyen la eliminación de sombra con el afán de obtener mayores rendimientos y, mayores aplicaciones de fertilizantes sintéticos (Rice 1991). Estos manejos podrían conducir a acidez del suelo, falta de materia orgánica, temperaturas extremas y mayor evapotranspiración empeorando la situación de las plantas y agravando la sintomatología del MDV. Los estudios del Instituto de Investigación de la Universidad del Valle (1992), demuestran que los síntomas de MDV se intensifican en plantaciones al sol.

CONCLUSIONES

El examen microscópico de tejidos, el aislamiento y pruebas de patogenicidad y las pruebas de transmisión por injerto y suelo descartan la posibilidad de que el MDV sea causado por algún virus, bacteria, hongo, *Phytomonas* o mycoplasma. Los nematodos *Pratylenchus coffeae* si bien no son los causantes del MDV, podrían estar agravando aún más el cuadro de las plantas ya debilitadas. La reproducción del síndrome del MDV en suelo proveniente de una finca afectada ya sea esterilizado o no, muestran que el MDV es una enfermedad abiótica. La corrección del pH del suelo disminuye considerablemente los síntomas de la enfermedad, lo que sugiere que la acidez del suelo, en conjunto con la toxicidad por aluminio son responsables en gran parte de esta enfermedad de etiología compleja.

Agradecimientos: Queremos agradecer especialmente la ayuda financiera y la colaboración del personal técnico y administrativo de ANACAFE, a los finqueros y administradores de las ocho fincas del estudio, a Charles MacVean, Marsha Krisvold, Ronaldo Pérez y Karla Tay, Rodolfo Ortiz, Luis Rodríguez, Mario Braeuner, María Eugenia López, Cristina Quiroz, Francois Herrera, Odette de Bocolletti, Marco Arévalo y Margaret Dix.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. 1985. Fitopatología. Limusa, México. 756 p.
- Alvarez, L. 1945. Studies on coffee root disease in Puerto Rico: A coffee *Fusarium* wilt. The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. 29(1):1-29.
- Alvarez, G. 1989. Estudio de la dinámica de poblaciones de nematodos fitoparásitos y su relación con el "Mal de Viñas", en el cultivo de café, en la finca "El Naranjito", Barberena, Santa Rosa. Pag. 67-79. En: Memoria del primer seminario taller sobre el Mal de Viñas del café. Departamento de Investigaciones en Café, Asociación Nacional del Café, Guatemala.
- Arana, F.E. 1987. Diagnóstico de la Leishmaniasis cutánea por método directo y cultivo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 47 p.
- Arjona, O. 1975. Estudio de la mancha café de la hoja de trigo causado por *Cercospora tritici* Rob y Desm. en México y Guatemala. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo. 83 p.
- Beckman, C. 1964. Host responses to vascular infection. Annual Review of Phytopathology 2:231-252.
- Burdekín, D.A.; Baker, R. M. 1964. Lyamungu dieback of arabica coffee in Tanganyika: II. relation of starch reserves to Lyamungu dieback. Ann. Appl. Biol. 54:107-113.
- Christie, R ; Edwarson, J. 1977. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 155 p.
- Davis, R.; Whitcomb, R. 1971. Mycoplasmas, rickettsiae, and chlamydiae: possible relation to yellows diseases and other disorders of plants and insects. Annual Review of Phytopathology :119-144.
- Deeley, J.; Stevens, W.; Fox, R. 1979. Use of dienes' stain to detect plant diseases induced by mycoplasma like organisms. Phytopathology 69:1169-1171.
- Domsch, K.; Gams, W.; Anderson, T. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press. 325 p.

- Flores, M. 1988. Avance investigativo fitopatológico Mal de Viñas del café. Asociación Nacional del Café, Subgerencia de Asuntos Agrícolas, Departamento de Investigaciones en Café. Guatemala.
- García, A. 1986. Mal de Viñas, Diagnóstico-Proyecto de Investigación, Asociación Nacional del Café, subgerencia de Asuntos Agrícolas, Departamento de Investigaciones en Café. Guatemala.
- Gilberschmidt, K.; y A. Bitancourt, 1965. Las enfermedades de virus en el café. *Café* 7(1):1-7.
- Humason, G. 1979. *Animal Tissue Techniques*. 4a edición. W.H. Freeman, San Francisco. 661 p.
- Kitajima, E.; Vainstein, M.; y Silveira, J. 1986. Flagellate protozoon associated with poor development of the root system of cassava in the Espírito Santo State, Brazil. *Phytopathology* 76:638- 642.
- Kunkel, L. 1926. Studies on aster yellows. *American Journal of Botany* 13:646.
- La fleche, D. y J. Bove. 1970. Mycoplasmes dans les agrumes atteints de "greening", de "stubborn" ou de maladies similaires. *Fruits* 25:455-465.
- MacVean, C. 1992. Causas y naturaleza del Mal de Viñas en cafetos de Guatemala. Universidad del Valle de Guatemala. 13 p.
- Matthews, R. 1991. *Plant virology*. 3a edición. Academic Press Inc. 835 p.
- Pavan, M.A.; y F.T. Binham, 1982. Toxicity of aluminum to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46:993-997.
- Quiroz, C. 1994. Densidad y dinámica poblacional del nematodo *Pratylenchus coffeae* Filipjev. 1936 (Hoplolaimidae), en plantas de café (*Coffea arabica* L.: Rubiaceae) afectadas con Mal de Viñas. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad del Valle de Guatemala. 95 p.
- Rice, R. 1991. Observaciones sobre la transición en el sector cafetalero en Centroamérica. *Agroecología Neotropical* 2:1-6.
- Riveiro, R. 1989. Caracterización, distribución, incidencia y severidad del Mal de Viñas o fiebre amarilla del caféto (*Coffea arabica* L.) en la zona cafetalera centro-suroriente de Guatemala. Pag. 8-17. *En: Memoria del primer seminario taller sobre el Mal de Viñas del caféto*. Departamento de Investigaciones en Café Asociación Nacional del Café. Guatemala. .
- Riveiro, R.; y H. Ordóñez, 1989. Mal de Viñas o fiebre amarilla del caféto. *Boletín Informativo*. Departamento de Investigaciones en Café, Asociación Nacional del Café. Guatemala. 12 p.
- Schaad, N. 1988. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2a. edición. APS Press, Minnesota. 164 p.
- SPSS, Inc. 1990. *Statistical program for the social sciences, SPSS PC+*. Ver. 4.00. Chicago.
- Stahel, G. 1917. De zeeftvenziedte (Phloemnekrose) van de Liberiakoffie in Suriname. *Bull. Dep. Landb. Suriname* 12.
- Valencia-Aristizabal, G. 1978. El "Paloteo" del caféto. *Avances Técnicos de Cenicafé*. No. 82. Chinchina, Caldas, Colombia.
- Vermeulen, H. 1968. Investigations into the cause of the phloem necrosis disease of *Coffea liberica* in Surinam, South America. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 74:202-218.
- Walkey, D.G. A. 1985. *Applied Plant Virology*. Heinemann, London. 329 p.
- Zuckerman, B.; W. Mai. y M. Harrison. 1985. *Fitonematología: Manual de laboratorio*. Trad. Marbán-Mendoza, N. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba. 248 p.