

Distribución y patogenicidad de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp en el cultivo del café en Puerto Rico^{1,2}

Luis Sánchez³, Mildred Zapata⁴, Rocío del P. Rodríguez⁵
y James S. Beaver⁶

J. Agric. Univ. P. R. 87(3-4):123-135 (2003)

RESUMEN

Diecisiete cepas patogénicas de *Pseudomonas cichorii* se aislaron de muestras de hojas de cafetos, *Coffea arabica*, procedentes de viveros en ocho municipios de Puerto Rico. Se evaluaron dos métodos de inoculación in vitro: hojas adultas y jóvenes en plantas creciendo bajo condiciones de invernadero, y hojas tiernas separadas de plantas creciendo bajo condiciones de campo. *Pseudomonas cichorii* fue más virulento en las hojas adultas, indicando diferentes mecanismos de resistencia de acuerdo a la edad de la hoja. Ambos métodos fueron confiables para identificar resistencia a *Pseudomonas cichorii*. Tres variedades comerciales de café (Borbón, Pacas y Caturra) fueron susceptibles a *Pseudomonas cichorii* mientras que las especies *Coffea liberica* var. Excelsa y *Coffea canephora* var. Robusta fueron resistentes.

ABSTRACT

Distribution and pathogenicity of *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp in coffee in Puerto Rico

Seventeen pathogenic strains of *Pseudomonas cichorii* were isolated from leaf samples of coffee (*Coffea arabica*) collected from nurseries in eight municipalities of Puerto Rico. Two different inoculation methods were evaluated under in vitro conditions: inoculation of plant-attached old and young leaves grown under greenhouse conditions, and plant-detached young coffee leaves grown under field conditions. *Pseudomonas cichorii* was more virulent in older leaves, thus indicating that resistance mechanisms differ according to leaf age. Both inoculation methods were reliable

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 10 de junio de 2003.

²Trabajo de investigación financiado por el proyecto HATCH-369 "Bacterial diseases of edible crops and ornamental plants." Los autores desean expresar su agradecimiento al Agro. Wigmar González, líder de la empresa de café, por donación de las plantas de café y a la Administración para el Fomento y Desarrollo Agrícola (AFDA) por la colaboración en el muestreo de los viveros.

³Asociado en Investigaciones, Centro de Investigación y Desarrollo Agrícola, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Apartado 9030, Mayagüez, PR 00681-9030.

⁴Fitopatóloga, Departamento de Protección de Cultivos.

⁵Fitopatóloga (retirada), Departamento de Protección de Cultivos.

⁶Fitomejorador, Departamento de Agronomía y Suelos.

in identifying resistant genotypes. Three commercial varieties of coffee (Borbón, Pacas and Caturra) were susceptible to bacterial leaf blight, whereas coffee species *Coffea liberica* var. *Excelsa* and *Coffea canephora* var. *Robusta* were resistant.

Key words: coffee, *Pseudomonas cichorii*, plant disease

INTRODUCCIÓN

El café, *Coffea arabica*, es el cultivo agrícola de mayor importancia socio-económica y ecológica en Puerto Rico, en especial en la zona montañosa. Durante el año fiscal 1999-2000, aportó \$34,150,000 al Ingreso Bruto Agrícola (Deynes, 1999). Este valor a nivel de finca representó el 4.73% del Ingreso Bruto Agrícola total.

El café es atacado por varios microorganismos patógenos, tales como hongos y bacterias que causan manchas y caída de las hojas. En Puerto Rico el único agente bacteriano informado en café es la *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Cortés, 1988). La detección de la bacteria fue realizada en la localidad de Adjuntas y fue descrita como una mancha foliar en la punta de las hojas, además de lesiones necróticas de color castaño. Esta enfermedad es particularmente importante en las plántulas en los viveros. La bacteria causa síntomas similares a la antracnosis, por lo que se dificulta el diagnóstico en el campo. Esta enfermedad ha sido informada en África (Baker, 1972; Ramos, 1976; Okioga, 1977). Informes previos (Ramos, 1976; Okioga, 1977) la mencionan como una enfermedad que puede adquirir proporciones epidémicas y causar de un 30% a 70% de pérdidas en plantas en parcelas sin tratamiento. En otros países, tales como Brasil (Franco, 1958; Ramos, 1976), han informado a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Pseudomonas garcae* causando síntomas similares. También se ha informado la quemazón bacteriana de las hojas, causada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp, la cual aparece con una fase epífita en la superficie foliar, penetrando normalmente a través de lesiones causadas por hongos (*Cercospora* y *Phoma*) y el insecto minador *Perileucoptera coffeella* (Kimura, 1976). La misma se ha informado atacando apio (*Apium graveolens*), lechuga (*Lactuca sativa*), Magnolia (*Magnolia grandiflora*), y Schefflera (*Schefflera arboricola*) (Pohronezny et al., 1994; Grogan et al., 1977; Mullen et al., 1984; Chase et al., 1984). A excepción del informe de detección de la presencia de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* por Cortés en 1988, no se ha realizado investigación para determinar la presencia de bacterias patógenas en otras localidades de Puerto Rico.

Los objetivos de este trabajo fueron i) coleccionar y caracterizar las bacterias patógenas al café en viveros representativos de 14 municipios de la isla durante la época lluviosa; ii) identificar un método confiable de

inoculación para determinar genotipos con resistencia; y iii) determinar la reacción a la bacteria *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp en las variedades tradicionales y líneas de café de importancia en Puerto Rico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios y evaluaciones en el cultivo del café se realizaron en el laboratorio de Fitopatología, invernadero y campo de la Finca Alzamora del Departamento de Protección de Cultivos, Recinto Universitario de Mayagüez.

Origen y estandarización de P. cichorii 114

El cultivo de *P. cichorii* (identificado por el sistema BIOLOG) representativo del aislado identificado por Cortés (1988) como *P. syringae* pv. *syringae*, se obtuvo de la colección localizada en el Laboratorio de Fitopatología en la Finca Alzamora del Recinto Universitario de Mayagüez. Este cultivo se utilizó como estándar para comparar con los aislamientos coleccionados.

Se realizaron transferencias del cultivo a caldo nutritivo con agitación continua por seis horas a 150 rpm. Con un espectrofotómetro modelo Spectronic 20⁷ se estandarizó la suspensión de bacterias a 1.0 de absorbancia a 560 nm 1×10^8 UFC/ml.

Muestreo

Se seleccionaron localidades al azar en catorce municipios de la isla donde se encontraron viveros de cafetos (Cuadro 1). Se tomaron muestras foliares que manifestaron síntomas de bacteriosis. El muestreo se realizó en la época de lluvia de septiembre a noviembre de 1993.

Aislamiento

Las hojas recolectadas se lavaron con agua corriente, se desinfectaron con cloro comercial al 5% por dos minutos y se lavaron tres veces con agua destilada esterilizada. Se cortaron secciones del borde de la lesión y se transfirieron a caldo nutritivo por espacio de 15 minutos. Luego, se realizaron estriados en platos de petri con agar nutritivo y se incubaron a 28° C por cuatro días en una incubadora (Forma Precision Scientific). Se coleccionaron todas las posibles colonias de bacterias de apariencia diferente y se almacenaron en agar agua-blando.

⁷Las marcas registradas sólo se usan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

CUADRO 1.—Municipio, barrio, variedad de café y elevación estimada utilizados en el muestreo para la colección de bacterias foliares.¹

Municipio	Barrio	Variedad	Elevación estimada (m)
Ciales	La Línea	Caturra	304
Las Marías	Enseñat Km. 11	Caturra	240
		Borbón	
		Typica	
Lares	Carr. 129 Km. 9.6	Robusta	457
	Vega Calcanada	Caturra	
San Sebastián	Calabaza	Borbón	228
Mayagüez	Alzamora	Borbón	30
Guayanilla	Macaná	Borbón	ND
Yauco	Aguas Blancas	Caturra	ND
Adjuntas	Li Maní	Caturra	609
Ponce	San Patricio	Caturra	ND
Jayuya	Collores	Pacas	ND
Maricao	Indiera Fría	Caturra	600
	Indiera Alta	Borbón	700
Orocovis	Sabana	Caturra	810
Caguas	Cañaboncito	Caturra	91
Utua	Angeles	Caturra	ND

¹En los meses de septiembre a noviembre de 1993.

²ND = Elevación estimada no disponible.

Prueba de patogenicidad de los aislados bajo condiciones in vitro

Ochenta y siete aislamientos en total se crecieron en medio de agar de levadura, dextrosa y carbonato de calcio (YDCA). Se incubaron a 28° C por 48 horas y luego se transfirieron a caldo nutritivo y se estandarizaron a 1.0 A, 560 nm y 10⁸ UFC/ml.

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en hojas jóvenes separadas de las plantas de invernadero, tomadas del segundo par de hojas (variedad Caturra) sin desinfectar (debido a oxidación) y colocadas sobre laminillas en platos petri (150 × 20 mm) con papel de filtro humedecido. La superficie de las hojas se laceró con tres punciones de alfiler a la izquierda de la hoja, que representan el control (medio de cultivo sin la bacteria) y tres a la derecha de la hoja a las cuales se añadieron 15 µl de la suspensión bacteriana. El control positivo fue *Pseudomonas cichorii* 114. Se incubaron en una germinadora a 28° C y condiciones de alta humedad relativa (95%) (Forma Stults Scientific).

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con nueve réplicas en el experimento. Los tratamientos fueron dieciocho aislados y dos controles: bacteria patógena y testigo absoluto (caldo nutritivo). El experimento se repitió tres veces. Se tomaron los datos del diámetro de

la lesión en la hoja producida a los siete días y se analizaron estadísticamente utilizando análisis de varianza y la prueba Duncan ($P = 0.05$).

Los aislados que resultaron patogénicos se evaluaron en las características culturales y con el sistema BIOLOG®. Se incluyó el cultivo *P. cichorii* 114 como testigo y se realizó la prueba de oxidasa. La reacción se consideró positiva cuando la coloración púrpura se obtuvo a los 10 segundos, y negativa cuando la coloración demoró más de 60 segundos (Da Silva, 1982).

Inoculación in vitro de P. cichorii en hojas jóvenes y adultas de plantas en el invernadero

Pseudomonas cichorii 114 se cultivó en medio de YDCA y se incubó a 28° C por 48 horas. La bacteria se transfirió a un medio en caldo conteniendo 10 g de extracto de levadura y 10 g de dextrosa por litro en agitación continua por seis horas a 150 rpm, estandarizado según descrito anteriormente. El inóculo consistió en algodón impregnado en el medio líquido con *P. cichorii* 114 y algodón impregnado en líquido sin la bacteria constituyó el control. El método de inoculación consistió en realizar 37 laceraciones de agujas múltiples en un diámetro de una pulgada en el centro de la hoja joven (primer par de hojas sin brillo desde el ápice) y adulta (tercer par de hojas) de plantas de ocho meses de edad (Figura 1). Se incubaron bajo condiciones de alta humedad relativa (95%) en una germinadora (Forma Stults Scientific) a 28° C.

Se evaluaron las hojas jóvenes y adultas de dieciséis híbridos, tres variedades de *Coffea arabica* y dos especies *C. canephora* y *C. liberica* (Cuadro 2). Se llevaron a cabo 10 experimentos con un diseño completamente al azar (DCA) con tres réplicas y 21 unidades experimentales. El tamaño de la lesión (largo \times ancho) (mm^2) se tomó a los siete días después de la inoculación y se analizó utilizando ANOVA y la prueba de Duncan a $P = 0.05$. A los 21 días se tomaron los datos del porcentaje de daño en la hoja dividiendo la misma en cuatro partes equivalentes a un 25%. Un 100% equivale a un daño total de la hoja o defoliación. Se realizó una prueba de t para los datos de porcentaje de daño en hojas jóvenes y adultas de 20 genotipos en 10 experimentos combinados.

Inoculación in vitro de hojas tiernas separadas de plantas desarrolladas en el campo

Dieciséis líneas, tres variedades comerciales y dos especies (Cuadro 2) se sembraron en el campo (Finca Alzamora) en un diseño completo de bloques al azar (DBCA) con 10 réplicas. Cada parcela medía 57.6 m de largo con una distancia entre hileras de 2.7 m. Se sembraron veintidós arbolitos de café por parcela a una distancia de 2.7 m entre



Figura 1. a) Inoculación de hojas en plantas con laceración producida por agujas múltiples. b) Inoculación de la bacteria con algodón sobre lesión. c) Reacción a la bacteria por el envés de la hoja.

arbolitos. Inicialmente se aplicó super fosfato triple al 46% para facilitar el enraizamiento. Luego, se abonaron mensualmente con abono foliar 20-20-20 y cada seis meses con abono granular 10-10-10 + Mg y otros elementos menores. Se controlaron las malezas y otras plagas según recomendaciones del Conjunto Tecnológico para la Producción de Café (Est. Exp. Agríc., 1999).

El patógeno *P. cichorii* 114 se cultivó según descrito anteriormente. Las hojas tiernas separadas de las plantas se colocaron sobre laminillas (una por cada genotipo disponible) en platos petri (150 × 20 mm) conteniendo papel de filtro húmedo. En una laceración producida por tres alfileres fijos en tres puntos a la izquierda de la hoja se depositaron 15 μ l del medio líquido sin la bacteria (control) y en tres puntos a la derecha de la hoja se aplicó 15 μ l de suspensión bacteriana (Figura 2). Las hojas se incubaron bajo condiciones de alta humedad relativa (95%) en una germinadora a 28° C.

Los datos del tamaño (ancho × largo) (mm²) de la lesión en la hoja joven se tomaron a los siete días después de la inoculación. Éstos se analizaron utilizando un análisis de varianza y la prueba de Duncan (P = 0.05). Además, se realizó una prueba de correlación entre las lesiones de las hojas jóvenes de las plantas mantenidas bajo condiciones de invernadero y las hojas tiernas separadas de las plantas mantenidas en

CUADRO 2.—*Variedades comerciales, líneas y especies de café evaluadas con P. cichorii 114.*

Identificación	Generación	Cruzamiento
C-2503-2	F6	Catuai (Mundo Nuevo × Catimor)
LHC-4782-10	F5	Icatu
C-2543-2	F6	Catuai Vermelho
C-2543-4	F6	Catuai Vermelho
C-1702-2	F4	Híbrido de Timor
C-1715-4	F4	Caturra × Híbrido Timor
C-1668	F6	Villa Sarchi × H.T.
C-2498-6	F6	Catuai A. × H.T.
C-1661-1	F4	Caturra × H.T.
C-1668-29-3	F5	Villa Sarchi × H.T.
C-1684-1	F4	S333 × Dilla & Alghe
C-1699-24	F4	Híbrido de Timor
C-2477-11	F6	Caturra × H.T.
LC-1669	F6	Villa Sarchi × H.T.
LC-1662-53	F6	Caturra × H.T.
USDA-4370-29	—	desconocido
Borbón	—	var. <i>Coffea arabica</i>
Pacas	—	var. <i>Coffea arabica</i>
Caturra	—	var. <i>Coffea arabica</i>
Robusta	—	var. <i>Coffea canephora</i>
Excelsa	—	var. <i>Coffea liberica</i>

el campo. Las hojas inoculadas se incubaron bajo condiciones de alta humedad relativa. La prueba de correlación se realizó con los datos de las hojas tiernas en buen estado de los genotipos vivos en el campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreo y patogenicidad de las bacterias

Se aislaron un total de 87 colonias de bacterias de las 38 muestras obtenidas de los viveros de café en catorce municipios, durante la época de lluvia. De 87 bacterias aisladas, 15 de 17 identificadas como *P. cichorii* resultaron patogénicas. Éstas están distribuidas en ocho municipios (Cuadro 3). Las bacterias recién aisladas difieren del control en características de la colonia, pero sus perfiles metabólicos son idénticos. Todas las colonias son de color crema, positivas a la prueba de KOH al 3%, y Gram negativas. La forma de las colonias es redonda con borde liso, a diferencia de *P. cichorii* No. 114, que es irregular con borde ondulado. La prueba de oxidasa fue positiva para todas las bacterias y el sistema de identificación BIOLOG® indicó que éstas correspondían a *Pseudomonas cichorii*. Además, se encontró una diferencia considerable en virulencia entre el control y los nuevos aislados, la cual se debe

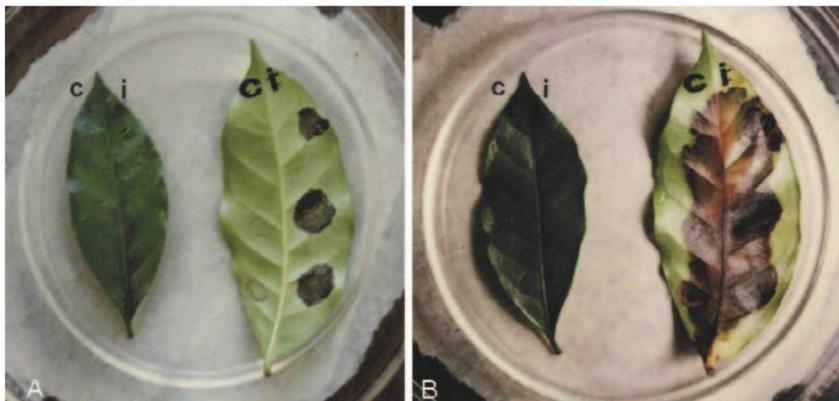


Figura 2. Identificación de resistencia utilizando diferentes genotipos de café en hojas tiernas inoculadas mediante laceración con alfiler y deposición de suspensión bacteriana a los siete y 14 días después de la inoculación. A: hoja izquierda representa un control negativo y la derecha representa una hoja inoculada tres veces en el lado derecho con un cultivo patogénico y al lado izquierdo un control. Nótese las tres inoculaciones en forma de necrosis concéntrica y ausencia de síntomas en el control. B: representa el mismo caso 14 días después de la inoculación, donde se observa que la necrosis fue progresiva e invade el lado de tejido no inoculado (c = control, i = inoculado).

a variación en la población natural. Se han informado diferencias en tipo de colonia en bacterias del tipo *Pseudomonas* con pérdida en virulencia (Kelman, 1954). Los reaislados de las bacterias patogénicas se inocularon de igual forma en otros tejidos foliares de Caturra, cumpliendo con los Postulados de Koch.

Este estudio demuestra que el cultivo, inicialmente identificado como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, corresponde a *Pseudomonas cichorii*, al igual que los demás identificados en los ocho municipios. Se concluye, por tanto, que la enfermedad bacteriana estudiada es causada por *Pseudomonas cichorii*.

Inoculación in vitro de P. cichorii en hojas jóvenes y adultas en plantas desarrolladas en el invernadero

Las tres variedades comerciales evaluadas de *Coffea arabica* tienen algún grado de susceptibilidad a *P. cichorii* 114 en la hoja joven y adulta. Caturra fue la variedad más susceptible y Borbón la menos (Cuadro 4). También se observaron diferentes grados de susceptibilidad a la bacteria entre líneas evaluadas. En algunos genotipos *P. cichorii* fue más virulenta en hojas adultas (C-2503-2, C-2543-4, C-1715-4) mientras que en otros fue más virulenta en las hojas jóvenes (C-2543-2, Caturra, Robusta y Excelsa).

CUADRO 3.—*Virulencia de los aislamientos de bacterias del café, coleccionadas durante los meses de septiembre a noviembre de 1993 en la variedad Caturra.*

Aislamiento	Municipio	Tamaño lesión (mm ²)
33-2	Orocovis	142.9 a ¹
27-1	Jayuya	120.6 ab
10-1	Las Marías	108.1 abc
31-2	Mayagüez	100.4 abcd
9-2	Las Marías	78.8 bcde
27-5	Jayuya	78.8 bcde
33-1	Orocovis	78.3 bcde
20-2	Guayanilla	61.9 cdef
25	Adjuntas	57.6 cdef
27-6	Jayuya	53.4 def
20-1	Guayanilla	44.4 efg
35	Caguas	40.3 efg
34-3	Orocovis	30.1 efg
28-2	Maricao	23.6 fg
114	Colección Lab.	22.6 fg
9-1	Las Marías	18.9 fg
22-4	Mayagüez	0.0 g
34-5	Orocovis	0.0 g

¹Promedios seguidos por una o más letras en común no difieren significativamente ($P = 0.05$) según la prueba Duncan.

Las especies de *Coffea liberica* var. *Excelsa* y *Coffea canephora* var. *Robusta* muestran consistentemente una tendencia resistente a *P. cichorii* tanto en hojas jóvenes como adultas. En Puerto Rico la siembra comercial de *Robusta* se limita a pocas hectáreas, la mayoría de las cuales se encuentran en Adjuntas. El *Robusta* se usa en mezclas con el arábigo. El *Excelsa* se encuentra de forma silvestre en las laderas de los caminos en la zona cafetalera y su uso comercial es limitado. El poco daño obtenido a los siete días de inoculación confirma que la reacción a la infección por la bacteria es limitada entre estas especies (Cuadro 4).

Para el porcentaje de daño se estableció la hipótesis de que la media del porcentaje de daño para la hoja joven es igual que para la adulta. Los resultados fueron una *t* significativa, descartando la hipótesis y concluyendo que la media de porcentaje (33%) de hoja joven es significativamente menor que la media (59%) de la hoja adulta (Cuadro 5).

Inoculación in vitro de hojas tiernas desprendidas de plantas mantenidas bajo condiciones de campo

Los resultados obtenidos muestran que la reacción *in vitro* a la bacteria *P. cichorii* 114 en hojas tiernas bajo condiciones de campo es limitada. Las hojas tiernas fueron más resistentes que las hojas

CUADRO 4.—Análisis combinado de los diámetros de las lesiones en la hoja de cafetos siete días después de inoculadas con *Pseudomonas cichorii* 114.¹

Edad de la hoja ²			
Joven		Adulta	
Genotipo	Tamaño lesión (mm ²)	Genotipo	Tamaño lesión (mm ²)
Caturra	87.0 a ³	Caturra	54.7 a
USDA4370-29	46.8 b	C-2503-2	51.4 a
C-1661-1	46.6 b	C-2543-4	50.1 ab
C-2543-2	41.9 bc	C-1715-4	49.7 ab
C-2498-6	39.4 bcd	USDA-4370-29	45.5 abc
C-1715-4	39.2 bcd	C-1661-1	43.4 abc
C-2543-4	36.1 bcd	C-2498-6	42.5 abc
C-2503-2	35.8 bcd	C-2477-11	31.9 bcd
Pacas	33.6 bcd	C-2543-2	31.7 bcd
C-1699-24	30.3 bcd	LC1662-53	29.5 cd
LC-1662-53	28.2 bcd	C-1702-2	28.6 cd
C-1702-2	27.8 bcd	Pacas	27.5 cd
C-1684-1	26.7 bcd	C-1668-29-3	27.0 cd
LHC-4782-10	24.5 bcd	C-1699-24	26.4 cd
C-2477-11	24.5 bcd	C-1668	26.2 cd
C-1668-29-3	23.8 bcd	LHC-4782-10	22.3 de
Borbón	18.4 cd	C-1684-1	21.9 de
C-1668	16.8 d	LC-1669	21.4 de
LC-1669	16.7 d	Borbón	21.2 de
Excelsa	16.0 d	Excelsa	5.9 e
Robusta	14.6 d	Robusta	5.6 e
C.V.	125.1%		102.9%

¹La combinación de datos representa 10 experimentos donde cada uno incluyó los genotipos descritos en el cuadro.

²Hoja joven-primer par de hojas sin brillo desde el ápice. Hoja adulta-tercer par de hojas sin brillo desde el ápice.

³Promedios seguidos por una o más letras en común no difieren significativamente ($P = 0.05$) según la prueba Duncan.

jóvenes y éstas a su vez fueron más resistentes que las adultas, tal como muestra Excelsa, Robusta y otros (Cuadro 6). Una excepción a esta tendencia fue Caturra, que mostró la hoja joven con mayor susceptibilidad que la adulta. Este resultado concuerda con los resultados de Oliveira (1991), quien concluyó que este patógeno no infecta con frecuencia las hojas jóvenes de café. Esta respuesta podría ser explicada por las diferencias en edad fisiológica de las hojas utilizadas.

CONCLUSIONES

Todas las cepas patógenas aisladas fueron identificadas como *Pseudomonas cichorii*. Éstas correspondieron a aislados coleccionados

CUADRO 5.—Comparación del porcentaje de daño en la hojas jóvenes y adultas de 21 genotipos de café, inoculadas con *P. cichorii* 114, a 21 días después de la inoculación bajo condiciones *in vitro*.¹

Experimento	Edad de la Hoja ²	
	Joven	Adulta
1	13	34
2	38	63
3	26	70
4	27	37
5	27	67
6	58	64
7	55	86
8	37	57
9	21	49
10	28	71
Promedio	33%	59%

¹La combinación de datos representa 10 experimentos separados donde cada uno incluyó los genotipos descritos en el cuadro.

²Hoja joven-primer par de hojas sin brillo desde el ápice. Hoja adulta-tercer par de hojas sin brillo desde el ápice.

en Adjuntas, Caguas, Guayanilla, Jayuya, Las Marías, Maricao, Mayagüez y Orocovis. *Pseudomonas cichorii* es más virulento en hojas adultas que en hojas jóvenes, lo que indica que la resistencia foliar del café a *P. cichorii* varía con la edad fisiológica. Ambos métodos utilizados para la inoculación resultaron útiles y detectaron que existe una diferencia en la respuesta de las hojas de acuerdo a la edad. Debido a que las plantas tenían dos años de edad cuando se realizó la inoculación de hojas desprendidas, se pudo diferenciar mejor la respuesta entre la hoja tierna y la hoja adulta. En el caso de las plantas de invernadero éstas tenían alrededor de ocho meses y probablemente la diferencia entre hoja joven y adulta no establecería una diferencia fisiológica en términos de edad de la hoja. Las variedades comerciales Borbón, Pacas y Caturra son susceptibles a *Pseudomonas cichorii*, mientras que las especies *Coffea liberica* var. Excelsa y *Coffea canephora* var. Robusta son resistentes.

La mancha bacteriana es una enfermedad importante a nivel de vivero cuando no se llevan a cabo las prácticas de control de la enfermedad. Recientemente, se detectó la mancha bacteriana causando daños foliares en una siembra experimental de la var. Catuai en el vivero en la Estación Experimental Agrícola de Adjuntas. Se estimó entre 64 y 85% de pérdida de las plantas (W. González, EEA, Adjuntas, comunicación personal). En dicho experimento no se llevaron a cabo las

CUADRO 6.—Tamaño de lesión en hojas de café de diferentes edades inoculadas con *Pseudomonas cichorii* bajo condiciones in vitro.

		Hoja			
Tierna		Joven		Adulta	
Genotipo	Lesión (mm ²)	Genotipo	Lesión (mm ²)	Genotipo	Lesión (mm ²)
LC-1669	4.0 a ¹	Caturra	87.0 a	Caturra	54.7 a
Caturra	3.6 a	USDA04370-29	46.8 b	C-2503-2	51.4 a
C-2477-11	3.0 ab	C-1661-1	46.6 b	C-2543-4	50.1 ab
LHC-4782-10	3.0 ab	C-2543-2	41.9 bc	C1715-4	49.7 ab
C-1699-24	3.0 ab	C-2498-6	39.4 bcd	USDA-4370-29	45.5 abc
Borbón	2.0 abc	C-1715-4	39.2 bcd	C-1661-1	43.4 abc
C-1668-29-3	2.0 abc	C-2543-4	36.1 bcd	C-2498-6	42.5 abc
Excelsa	1.3 bc	C-2503-2	35.8 bcd	C-2477-11	31.9 bcd
C-2498-6	1.0 bc	Pacas	33.6 bcd	C-2543-2	31.7 bcd
Pacas	0.6 c	C-1699-24	30.3 bcd	LC-1662-53	29.5 cd
USDA-4370-29	0.3 c	LC-1662-53	28.2 bcd	C-1702-2	28.6 cd
C-1702-2	0.3 c	C-1702-2	27.8 bcd	Pacas	27.5 cd
LC-1662-53	0.3 c	C-1684-1	26.7 bcd	C-1668-29-3	27.0 cd
C-2543-4	0.3 c	LHC-4782-10	24.5 bcd	C-1699-24	26.4 cd
C-2503-2	0.0 c	C-2477-11	24.5 bcd	C-1668	26.2 cd
C-1715-4	0.0 c	C-1668	23.8 bcd	LHC-4782-10	22.3 de
C-1668	0.0 c	Borbón	18.4 cd	C-1684-1	21.9 de
C-2543-2	0.0 c	C-1668-29-3	16.8 d	LC-1669	21.4 de
C-1661-1	0.0 c	LC-1669	16.7 d	Borbón	21.2 de
Robusta	0.0 c	Excelsa	16.0 d	Excelsa	5.9 e
C-1684-1	0.0 c	Robusta	14.6 d	Robusta	5.6 e
C.V.	97.57%		125.07%		102.88%

¹Promedios seguidos por una o más letras en común no difieren significativamente (P = 0.05) según la prueba Duncan.

prácticas de control de enfermedades ya que se estudiaba la mancha causada por el hongo *Cercospora*. Por tanto, no se utilizó sulfato de cobre para el control de hongos y la enfermedad bacteriana del café. Estos resultados destacan la necesidad de mantener un sistema de manejo adecuado, tal como se recomienda en el conjunto tecnológico para la producción de café.

LITERATURA CITADA

- Baker, C. J., 1972. Solai die-back. Coffee Research Foundation Annual Report. 1971-72: p.72.
- Cortés Monllor, A., 1988. Bacterial leaf spot of coffee. *J. Agric. Univ. P.R.* 72(4): 621-623.
- Chase, A. R. and G. D. Brunk, 1984. Bacterial leaf blight incited by *Pseudomonas cichorii* in *Schefflera arboricola* and some related plants. *Plant Dis.* 68:73-74.

- Da Silva, R. R., 1982. Identificación de bacterias fitopatógenas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. México. pp. 33-34
- Deynes-Soto, R., 1999. Empresas Agrícolas de Puerto Rico. Situación y Perspectivas. 1997-98. Universidad de Puerto Rico. Departamento de Economía Agrícola, E.E.A.
- Estación Experimental Agrícola, 1999. Conjunto tecnológico para la producción de café. Univ. P.R., Río Piedras, P.R., Public. 104.
- Franco Do Amaral, J., C. Teixeira y E. D. Pinheiro, 1958. The bacterium causing halo blight of coffee. *Review of applied mycology* 37:42 (Abstract).
- Grogan, R. G., I. J. Misaghi, K. A. Kimble, A. S. Greathead, D. Ririe and R. Bardin, 1977. Varnish spot, destructive disease of lettuce in California caused by *Pseudomonas cichorii*. *Phytopathology* 67:957-960.
- Kelman, A., 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 693-695.
- Kimura, O., C. F. Robbs y J. A. R. Ferrari, 1976. Algunas observaciones relacionadas con las bacteriosis de cafeiro. Congreso de Pesquisas Cafeeiras, 4., Guarapari, Resumos. Rfo de Janeiro. IBC/Gerca. P. 104.
- Mullen, J. M. and G. S. Cobb, 1984. Leaf spot of southern magnolia caused by *Pseudomonas cichorii*. *Plant Dis.* 68:1013-1015.
- Okioiga, D. M., 1977. Status of bacterial blight of coffee. (Elgon/Solai; Die-back) in Kenya. *Kenya Coffee* 42 (493):123-131.
- Oliveira, J. R., R. S. Romeiro y J. J. Muchovej, 1991. Population tendencies of *Pseudomonas cichorii* and *P. syringae* pv. *syringae* pv. *garcae* in young and mature coffee leaves. *J. Phytopathology* 131:210-214.
- Pohronezny, K., M. L. Sommerfeld and R. N. Raid, 1994. Streptomycin resistance and copper tolerance among strains of *Pseudomonas cichorii* in celery seedbeds. *Plant Dis.* 78:150-153.
- Ramos, A. H. y L. D. Shavdia, 1976. A die-back of coffee in Kenya. *Plant Disease Reporter* 60(10):831-835.

BLANK PAGE USED IN PAGE COUNT