



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

## ESCUELA DE POSGRADO

### MAESTRÍA EN AGRICULTURA ANDINA



#### TESIS

**PROSPECCIÓN DE POBLACIONES DEL NEMATODO DEL NÓDULO DE LA  
RAÍZ (*Meloidogyne* spp.) Y OTROS GÉNEROS DE NEMATODOS ASOCIADOS  
AL CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN LA REGIÓN PUNO**

**PRESENTADA POR:**

**JAVIER VIDAL MARCA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:  
MAGÍSTER SCIENTIAE EN AGROECOLOGÍA**

**PUNO, PERÚ**

**2018**



## DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Marcos (+) y Felipa (+), quienes fueron un gran apoyo emocional durante el tiempo en que escribía esta tesis.

A mi esposa Sofía y mis dos tesoros Only y Maciel quienes me apoyaron y me dieron el aliento para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis maestros Rosario e Israel, quienes nunca desistieron al enseñarme, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A los sinodales quienes estudiaron mi tesis y la aprobaron.

A todos mis hermanos Nancy, Reymer, Fredy y amigos, los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por haberme dado salud, guiado por el camino de la felicidad y el éxito hasta ahora.

En segundo lugar, a cada uno de los que son parte de mi familia a mi PADRE Marcos Vidal Ccallo (+), mi MADRE Felipa Marca (+), mi ESPOSA Sofía Zúñiga y mis dos tesoros Only y Maciel, a mis hermanos y a todos mis familiares; por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

En Tercer Lugar, el agradecimiento especial a INNOVATE – PERÚ (Ministerio de la Producción) por el apoyo financiero mediante el proyecto: “Diversidad biológica de poblaciones peruanas de *Meloidogyne* spp.: Descripción y caracterización de especies a través del uso de isoenzimas y marcadores moleculares, Convenio N°346- PNICP-BRI-2015.

Por último, a mis asesores de tesis Ing. M Sc. Rosario Bravo Portocarrero y Dr. Israel Lima Medina, quienes me ayudaron en todo momento para que se haga realidad este trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

**Pág.**



DEDICATORIA	
3	
AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE GENERAL	4
ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
ÍNDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
1.1. Contexto y marco teórico	4
1.1.1. El cultivo de café	4
1.1.1.1. Clasificación taxonómica del cafeto	4
1.1.2. Principales cultivares de <i>Coffe a arábica L</i>	4
1.1.3. Morfología general y generalidades del cultivo	6
1.1.4. Aspecto fisiológico	8
1.1.5. Características agroecológicas del café	9
1.1.6. Nematodo del nódulo de la raíz ( <i>Meloidogyne spp.</i> )	12
1.1.6.1. Ubicación taxonómica	12
1.1.6.2. Descripción del nematodo ( <i>Meloidogyne spp.</i> )	13
1.1.6.3. Ciclo de biológico de <i>Meloidogyne spp.</i>	14
1.1.6.4. ...Sintomatología que produce el nematodo nodulador ( <i>Meloidogyne spp.</i> ) en las plantas	18
1.1.7. Métodos de identificación de especies del género <i>meloidogyne spp.</i>	21
1.1.8. Marco conceptual	25
1.2. Antecedentes	28
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	
2.1. Identificación del problema	33
2.2. Definición del problema	33
2.3. Intención de la investigación	34
2.4. Justificación	34
2.5. Objetivos	35
2.5.1. Objetivo general	35
2.5.2. Objetivos específicos	35

### CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1. Acceso al campo	36
3.2. Selección de informantes y situaciones observadas	39
3.3. Estrategias de recogida y registro de datos	40
3.3.1. Método de fluctuación centrífuga para la determinación de nematodos en muestras de suelo con solución de sacarosa	40
3.3.2. Técnica de la licuadora con centrifuga para muestras de raíces	42
3.3.3. Identificación morfológica de los nematodos fitoparásitos	44
3.3.4. Caracterización bioquímica para la identificación de especies de <i>Meloidogyne</i>	45
3.3.5. Extracción y montaje de hembras de <i>Meloidogyne spp</i>	47
3.4. Análisis de datos y categorías	48
3.4.1. Condiciones meteorológicas del ámbito de investigación	48

### CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Características de géneros de nematodos fitoparásitos en las zonas cafetaleras de puno	51
4.1.1. Caracterización del género <i>Meloidogyne</i>	51
4.1.2. Caracterización del género <i>Pratylenchus</i>	53
4.1.3. Caracterización del género <i>Helicotylenchus</i>	54
4.1.4. Caracterización del género <i>Mesocriconema</i>	55
4.1.5. Caracterización del género <i>Dorylaimus</i>	57
4.1.6. Caracterización del género <i>Xiphinema</i>	57
4.1.7. Caracterización del género <i>Tylenchus</i>	58
4.1.8. Caracterización del género <i>Hemicycliophora</i>	59
4.1.9. Caracterización del género <i>Mononchus</i> (nematodo de vida libre)	59
4.1.10. Otros nematodos de vida libre	60
4.2. Identificación de especies del género <i>Meloidogyne</i>	61
4.2.1. Identificación morfológica y morfométrica	61
4.2.2. Identificación de la especie del género <i>Meloidogyne</i> por medio del patrón perineal	62
4.2.3. Identificación de la especie del género <i>Meloidogyne</i> por medio del análisis de isoenzimas en el cultivo de café	64
4.3. Estimación de la fluctuación poblacional del género <i>Meloidogyne</i> y otros géneros en el cultivo de café	65
4.3.1. Frecuencia del género <i>Meloidogyne</i> en el cultivo de café en la región Puno	65
4.3.2. Frecuencia del género <i>Pratylenchus</i> en el cultivo de café de la región Puno	66
4.3.3. Frecuencia del género <i>Helicotylenchus</i> en el cultivo de café de la región Puno	67
4.3.4. Frecuencia del género <i>Mesocriconema</i> en el cultivo de café de la región Puno	69



4.3.5. Frecuencia del género <i>Dorylaimus</i> en el cultivo de café de la región Puno	70
4.3.6. Frecuencia del género <i>Xiphinema</i> en el cultivo de café de la región Puno	71
4.3.7. Frecuencia del género <i>Tylenchus</i> en el cultivo de café de la región Puno	71
4.3.8. Frecuencia del género <i>Hemicyclopora</i> en el cultivo de café de la región Puno	72
4.3.9. Frecuencia del género <i>Monochus</i> en el cultivo de café de la región Puno	73
4.3.10. Frecuencia de los nematodos de vida libre en el cultivo de café de la región Puno	74
4.4. Estimación de la fluctuación poblacional de los géneros identificados por distrito	75
4.4.1. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Juan del Oro de la región Puno	75
4.4.2. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Pedro de Putina Puncu de la región Puno	76
4.4.3. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Gabán de la región Puno	77
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS	88

Puno, 11 de junio de 2018

**ÁREA:** Agroecología.

**TEMA:** Prospección de poblaciones del nematodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne* spp.) y otros géneros de nematodos asociados al cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en la región Puno.

**LÍNEA:** Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades.



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
1. Listado de especies del género <i>Meloidogyne</i> parasitas del cafeto y su distribución geográfica	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
1. Formación del huevo, J1, J2; B: J3, Macho y Hembra; C: J4, Macho y Hembra; D: Macho adulto y Hembra adulto	14
2. Mapa de ubicación de zona de investigación: Distrito de San Pedro de Putina Puno	37
3. Mapa de ubicación de zona de investigación: Distrito de San Juan del Oro	38
4. Mapa de ubicación de zona de investigación: Distrito de San Gabán	38
5. A y B: Colecta de muestras de suelos de café del ámbito de trabajo; C y D: Raíces y plántones infectados con <i>Meloidogyne spp.</i> ; E: Muestras recolectadas de suelo del cultivo de café	40
6. Proceso de lavado y centrifugación de las muestras de suelo de café; A: Muestra de suelo de café, B: Lavado de muestra del suelo de café, C: Tamizado de suelo de café, D: Recolección de muestra de suelo de café, E: Agregado de cal a la muestra de suelo, F: Máquina centrifugadora, G: Adición de solución sacarosa, H: Lavado con agua para retirar la solución sacarosa	42
7. Proceso de lavado muestras de raíz de café; A: Muestra de raíz de café, B: Lavado de muestra de raíz, C: Muestra de raíz lavada, D: Agregado de cloro a la muestra, E: Trozado de raíz, F: Licuado de raíz, G: Tamizado de raíz, H: Lavado de muestra de raíz, I: Suspensión en erlenmeyer	43
8. Conteo de nematodos; A: Nematodos colectados de las muestras de suelo de café, B: Cubre y porta objetos, C: Estereoscopio	44
9. Descripción del proceso de electroforesis; A: Muestra de la hembra del género <i>Meloidogyne</i> , B: Conservación de la hembra del género <i>Meloidogyne</i> en tubos con hielo, C y D: Macerado de la hembra en solución de sacarosa, E, F, G, H: Corrida de la muestra. I,J: Marcación barrida de muestras, K: Revelado de muestras, L y M: Plastificado y secado de muestras	46
10. Extracción de espécimen hembra de <i>Meloidogyne exigua</i> . y corte del patrón perineal, para su identificación morfológica A. Remoción de hembras y fragmentos de raíz; B. hembra madura de <i>Meloidogyne exigua</i> C: Corte de la cutícula a la altura del cuello del cuerpo de la hembra, D: Remoción del tejido corporal, E-F: Corte de la cutícula alrededor del patrón perineal	48





11. Histograma de datos meteorológicos de la campaña agrícola 2016 del distrito de San Juan del Oro	49
12. Histograma de datos meteorológicos de la campaña agrícola 2016 del distrito de San Gabán	50
13. Género <i>Meloidogyne</i> : A longitud total de cuerpo y B Longitud del estilete	53
14. Género <i>Pratylenchus</i> ; longitud total de cuerpo	54
15. Género <i>Pratylenchus</i> ; longitud del estilete	54
16. Género <i>Helicotylenchus</i> ; longitud del cuerpo de la hembra	55
17. Longitud de estilete del género <i>Helicotylenchus</i>	55
18. Género <i>Mesocriconema</i> ; longitud total de cuerpo.	56
19. Género <i>Mesocriconema</i> ; longitud de estilete	56
20. Género <i>Dorylaimus</i>	57
21. Género <i>Xiphinema</i> ; A: vista del cuerpo y B: Vista del estilete	58
22. Género <i>Tylenchus</i>	59
23. Género <i>Hemicycliophora</i>	59
24. Género <i>Mononchus</i>	60
25. Género de vida libre	61
26. Biometría de la hembra adulta de <i>Meloidogyne exigua</i> . A) Longitud y diámetro de la hembra B) hembra dentro de la raíz del cafeto	62
27. Patrón perineal de <i>Meloidogyne exigua</i> . M y K comparación de figuras para la identificación del patrón perineal de <i>M. exigua</i>	63
28. B Identificación de <i>M. exigua</i> E2, a través de isoenzimas en gel de poliacrilamida	64
29. Frecuencia del género <i>Meloidogyne</i> en el cultivo de café; en la región Puno	65
30. Frecuencia del género <i>Pratylenchus</i> en el cultivo de café; en la región Puno	67
31. Frecuencia del género <i>Helicotylenchus</i> en el cultivo de café; en la región Puno	68
32. Resultado de análisis de suelo	69
33. Frecuencia del género <i>Dorylaimus</i> en el cultivo de café; en la región Puno	70
34. Frecuencia del género <i>Xiphinema</i> en el cultivo de café; en la región Puno	71
35. Frecuencia del género <i>Tylenchus</i> en el cultivo de café; en la región Puno	72
36. Frecuencia del género <i>Hemicycliophora</i> , en el cultivo de café; en la región Puno	73
37. Frecuencia del género <i>Mononchus</i> en el cultivo de café; en la región Puno	74



<b>38.</b> Frecuencia de nematodos de vida libre en el cultivo de café; en la región Puno	75
<b>39.</b> Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Juan del Oro	76
<b>40.</b> Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Juan del Oro	77
<b>41.</b> Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Gabán	78



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
1. Factores climatológicos del distrito de San Juan del Oro en el año 2016	89
2. Factores climatológicos del distrito de San Gabán en el año 2016	90
3. Datos generales de las zonas evaluadas en la región de Puno	91
4. Datos generales de los promedios evaluados en el distrito de San Juan del Oro de la región Puno	92
5. Datos generales de los promedios evaluados en el distrito de San Pedro de Putina Punco de la región Puno	94
6. Datos generales del promedio evaluados en el distrito de San Gabán de la región Puno	96
7. Frecuencia de nematodos encontrados en muestras	97
8. Porcentaje que representa cada género en el distrito de San Juan de Oro, Sandia, Puno	98
9. Porcentaje que representa cada género en San Pedro de Putina Punco, Sandia, Puno	99
10. Porcentaje que representa cada género en San Gabán	100
11. Densidad promedio de los géneros de nematodos encontrados en 100 cm <sup>3</sup> de suelo. en los tres distritos evaluados	101
12. Análisis descriptivo de los distritos de la región Puno	102
13. Análisis descriptivo de las localidades de la región Puno	103
14. Nódulos en 10g de raíz del cultivo de café para el conteo de individuos juveniles y huevos	104

## RESUMEN

El café (*Coffea arabica*) por ser un cultivo de agroexportación del Perú, es considerado de suma importancia su calidad en producción de grano. Este cultivo es afectado por la presencia de plagas y enfermedades, entre ellas los nematodos. Los principales nematodos del nódulo de la raíz (*Meloidogyne spp.*), producen pérdidas graduales del vigor y la productividad de la planta; sin embargo, en la actualidad se desconoce las especies de *Meloidogyne* que se encuentran causando daños a la raíz de este cultivo. El objetivo del presente estudio fue caracterizar los principales géneros de nematodos presentes en el cultivo de café en la región Puno, identificar las principales especies de *Meloidogyne*, presentes este cultivo y verificar la fluctuación poblacional en plantaciones de café. El presente trabajo de investigación se ha realizado en los distritos de San Juan del Oro y San Pedro de Putina Punco de la provincia de Sandia y en el distrito San Gabán en la provincia de Carabaya, en dichos lugares se realizaron la prospección de 129 muestras provenientes de 15 sectores, dichos muestreos se realizaron en los meses de noviembre del 2016 a enero del 2017. La metodología del presente trabajo de investigación fue descriptiva y análisis de laboratorio de las diferentes muestras que fueron procesadas en el laboratorio de electroforesis de la Universidad Nacional del Altiplano. Para la caracterización *isoenzimatica* se extrajeron 20 hembras de raíces infestadas de café, por cada muestra, también se analizaron individuos morfológicamente. Los géneros de nematodos fitoparásitos identificados fueron *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Dorylaimus*, *Tylenchus*, *Hemicycliophora*, *Mononchus* y nematodos de vida libre. *Isoenzimaticamente* en la identificación de *Meloidogyne* se encontraron las especies de *M. exigua* (Est. E1 y E2). Se verifico que las especies de *M. exigua* (Est. E1 y E2) son altamente patogénicas en cultivo de café y las densidades poblacionales del género *Meloidogyne* fue del 95% de la población en el cultivo de Café (*Coffea arábica*).

**Palabras clave:** Café, fitoparásito, *meloidogyne*, nematodo, plaga, productividad.

## ABSTRACT

Because coffee (*Coffea arabica*) is an agro-export crop from Peru, its quality is considered of utmost importance in grain production. This crop is affected by the presence of pests and diseases, including nematodes. The main root nodule nematodes (*Meloidogyne spp.*), Produce gradual losses of vigor and productivity of the plant; however, currently the *Meloidogyne* species that are causing root damage to this crop is unknown. The objective of the present study was to characterize the main genera of nematodes present in the coffee crop in the Puno region, identify the main *Meloidogyne* species present in this crop and verify the population fluctuation in coffee plantations. This research work has been carried out in the districts of San Juan del Oro and San Pedro de Putina Punco in the province of Sandia and in the district of San Gaban in the province of Carabaya, in these places the prospecting of 129 samples from of 15 sectors, these samplings were carried out in the months of November 2016 to January 2017. The methodology of this research work was descriptive and laboratory analysis of the different samples that were processed in the electrophoresis laboratory of the National University of the del Altiplano. For the isoenzymatic characterization, 20 female coffee-infested roots were extracted, for each sample, individuals were also analysed morphologically. The genus of phytoparasitic nematodes identified were *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Dorylaimus*, *Tylenchus*, *Hemicycliophora*, *Mononchus* and free-living nematodes. *Isoenzymatically* in the identification of *Meloidogyne*, the species of *M. exigua* (Est. E1 and E2) were found. It was verified that the species of *M. exigua* (Est. E1 and E2) are highly pathogenic in coffee cultivation and the population densities of the genus *Meloidogyne* was 95% of the population in the Coffee cultivation (*Coffea arabica*).

**Keywords:** Coffee, *meloidogyne*, nematode, pest, phytoparasites, productivity.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de café es el principal producto de agroexportación a nivel mundial, generando anualmente más de 90 billones de dólares. Aproximadamente el 8% de la población mundial, se dedica al cultivo del café, desde su siembra hasta su consumo final.

El café botánicamente está constituido por más de 100 especies del género *Coffea*, de acuerdo a la región y clima de origen se desarrollaron diferentes variedades de cafetos, con constituciones genéticas diversas (tamaño, forma de plantas y frutos, resistencia a enfermedades y plagas, etc.); del centenar de variedades de cafeto, dos se cultivan comercialmente: *Coffea arábica* y *Coffea canephora* (ANACAFE, 2013).

Entre los principales países productores de café en el mundo esta Brasil con 2,594 100 TM al año y representa el 30% de la producción mundial seguido de Vietnam con 1,650 000 TM. con el 19,18%, Colombia con 810,000 TM. y 9,42%, Indonesia con 660,00 TM. y 7.67%, Etiopia con 384.000 TM con 4,46 % y Perú con una producción de 192,000 TM. que representa el 2,23% de la producción mundial (ICO, 2015).

El café en el Perú es un cultivo de gran importancia económica y social, existen 425,400 has. con plantas de café distribuidas en 278 mil unidades agropecuarias, localizadas en 338 distritos y 57 provincias en 15 ámbitos de gobiernos regionales que involucran a un aproximado de 200 mil familias (INEI, 2014).

Al igual que otras especies vegetales cultivadas, el café es atacado por diversas plagas, en el Perú se han reportado 14 especies de hongos, 4 nematodos fitoparásitos y 36 especies de insectos que ocasionan daños a este cultivo; sin embargo, los problemas fitosanitarios más importantes son la roya amarilla, los nematodos fitoparásitos de plantas y la broca del café (SENASA, 2014).

En la actualidad se conocen más de 4,105 especies de nematodos fitoparásitos, las cuales causan pérdidas anuales entre 11 y 14%, equivalentes a US\$ 80 billones al año. Aunque sobreviven en casi todos los hábitats, son esencialmente acuáticos; la mayoría de los nematodos son microscópicos y miden entre 300 y 1,000  $\mu\text{m}$  de largo y 15 a 35  $\mu\text{m}$  de ancho; su tamaño los hace invisibles a simple vista, pero pueden ser fácilmente observados con la

ayuda de un microscopio o estereoscopio. Los nematodos fitoparásitos, según el género, tienen en la región anterior (cabeza) un estilete hueco (estomatoestilete u odontoestilete) también llamado “lanza”, pero hay algunos con estilete sólido modificado (onquioestilete), el estilete es usado para penetrar a las células de las plantas.

y a través de él extraer los nutrientes, causando enfermedades en diferentes cultivos, las cuales se categorizan principalmente de acuerdo al hábitat parasítico y a la sintomatología en el sistema radical y tejidos aéreos (Guzmán *et al.*, 2012).

Los nematodos predisponen a las plantas para la infección por otros organismos, ya que al penetrar en las raíces causan cambios fisiológicos en los tejidos, lo que facilita la acción de los hongos, bacterias y virus que habitan en el suelo; los nematodos fitoparásitos constituyen un factor limitante para la producción de café en muchas zonas productoras del mundo, se les responsabiliza de pérdidas considerables en los rendimientos (Taylor y Sasser, 1983).

El daño causado por los nematodos a las raíces afecta las funciones de nutrición mineral y de absorción del agua. Estas alteraciones fisiológicas conducen a un lento crecimiento y a una clorosis de las hojas que pueden evolucionar en un rápido paloteo y agotamiento de la planta, causando grandes pérdidas en la producción (Anzueto *et al.*, 2000).

Debido a que estos organismos viven en el suelo, son de tamaño microscópico que a menudo no causan síntomas específicos en las partes aéreas de los cafetos, los nematodos no son detectados fácilmente, por ello su impacto económico ha sido subestimado por largo tiempo, (Noir *et al.*, 2003).

El género *Meloidogyne* spp. comprende más de 90 especies descritas, es el más importante por su distribución, el rango de hospedantes y los daños que origina en las plantas cultivadas, dentro de las cuales 17 fueron descritas parasitando plantaciones de café en el mundo (Campos & Villain, 2005).

En el valle de Tambopata en las zonas productoras de café se tienen registros de la presencia de nematodos en los cafetales por la presencia de nodulaciones en las raíces, sin embargo, no se conoce que especie de *Meloidogyne* spp. se encuentra causando daños a la producción de este cultivo.



En el capítulo I se desarrolló la revisión de literatura, contexto y marco teórico y antecedentes.

En el capítulo II se abordó el planteamiento de problema.

En el capítulo III se especifica la metodología del proceso de investigación.

En el capítulo IV se denotan los resultados y la discusión.



## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1. Contexto y marco teórico

##### 1.1.1. El cultivo de café

###### 1.1.1.1. Clasificación taxonómica del cafeto

Cronquist (1981), indica que la clasificación taxonómica es la siguiente:

- **Reino** : Plantae
- **División** : Magnoliophyta
- **Clase** : Magnoliopsida
- **Orden** : Gentianales
- **Familia** : Rubiaceae
- **Género** : Coffea
- **Especie** : *Coffea arábica*
- **Nombre común** : cafeto, café

##### 1.1.2. Principales cultivares de *Coffea arábica* L

Son las variedades de plantas obtenidas por medios de técnicas agrícolas:

**a) Cultivares de porte alto**

- **Typica:** Duran (2010), es una variedad de porte alto. Tiene hojas nuevas de color bronceado o rojizo. Las hojas son de forma alargada, es susceptible a la roya, tiene mayor porcentaje de granos grandes que las variedades Caturra y Borbon, se siembra hasta 2500 plantas por hectárea.
- **Borbon:** Duran (2010), es originaria de las islas Reunión (antes Borbon) introducida a América latina por los franceses en Colombia en 1928, entre sus principales características tienen los retoños presentan color más claro que el de las hojas maduras y casi nunca del color del café común, las ramas se dirigen hacia arriba sus hojas son más crespas y es de porte alto el ángulo de las ramas es más estrecho que el Típica el brote es verde y el color de fruto es rojo o amarillo y el grano es pequeño.

**b) Cultivares de porte bajo Caturra**

León (2001), su nombre deriva de la voz guaraní, que significa "tamaño pequeño", cultivar originado en Minas Gerais (Brasil), posiblemente como una mutación en plantaciones de Bourbón. Se caracteriza por sus entrenudos cortos, lo que resulta en porte bajo grueso y poco ramificado y ramas laterales abundantes, cortas con ramificaciones secundarias, lo que da a la planta un aspecto vigoroso y compacto. Las hojas son más grandes, anchas y oscuras que en Bourbón, su porte pequeño favorece altos rendimientos. Los frutos a la madurez adquieren el color rojo vino y amarillo. Es más precoz y presenta mayor producción en relación a los Typica y Bourbón.

- **Catimor:** Ferreira (2010), se originó del cruzamiento del Caturra roja con el Híbrido de Timor. El Catimor, se caracteriza por su porte bajo, tronco de grosor intermedio, considerable número de ramas laterales, que forman una copa medianamente vigorosa y compacta; además de su productividad relativamente alta muestra un comportamiento favorable con respecto a la enfermedad de la roya, en especial a razas del hongo *Hemileia vastatrix* que proliferan en la caficultura andina.

- Pache o San Bernardo: Ferreira (2010), es originaria de Guatemala. Sus hojas, flores y frutos son similares a los de la variedad Typica, excepto el tamaño del árbol que es ligeramente menor a la Caturra. Por sus entrenudos cortos se parece en ciertos aspectos morfológicos a la variedad Villalobos. En los primeros años su productividad es buena, aunque su maduración es prolongada e irregular.

### 1.1.3. Morfología general y generalidades del cultivo

#### a) Raíz

León (2001), menciona que la raíz consta de un eje central pivotante, raíces hídricas, pelos absorbentes de 50 a 60 cm de profundidad esta le sirve de soporte. Las raíces hídricas alcanzan en promedio una profundidad de 1.50 m cuya función es absorber agua a mantener el nivel de este elemento en la época de descanso. El 80% de los pelos absorbentes se encuentran en los 20 cm de profundidad y su función es absorber agua y sustancias minerales.

#### b) Tallo y Ramas

Bermúdez (1985), señala que el tallo es un eje vertical con cierto número de pisos de ramas primarias, secundarias y terciarias que son el soporte de la producción. Los tallos son de crecimiento orto trófico erecto que no alteran su naturaleza y presentan en las axilas de las hojas 2 clases de yemas unas sobre otras.

#### c) Hojas

León (2001), menciona que las hojas aparecen en ramas plagio trópicas en un mismo plano y en posición opuesta, rodeados por dos estípulas agudas. Las hojas, según su edad muestran diferentes características, al germinar la semilla las dos primeras hojas formadas se denominan cotiledóneas, las cuales son circulares y de superficie corrugada, las siguientes nueve a once hojas son elípticas y lanceoladas de superficie ondulada. Las hojas que se forman en las ramas primarias, secundarias, terciarias, aparecen en el mismo plano y en pares opuestos, cada uno

con dos estipulas agudas, presentan un color verde oscuro brillante con la cara inferior verde más claro.

Duicela *et al.* (2001), señala que las hojas se forman en las ramas secundarias, en las primarias y en el tallo joven. En cada nudo hay un par de hojas, su tamaño varía entre 12 a 15 cm. de largo y 6 cm. de ancho, son elípticas y acuminadas, algo onduladas y opuestas.

#### **d) Flor**

León (2001), menciona que la flor individual está formada de un cáliz con cinco dientes finos e irregulares a manera de un reborde verde. La corola es tubular que se abre hacia arriba en 5 pétalos, es de color blanca en todas las variedades, el tubo puede medir de 2 a 12 mm de largo y los pétalos de 8 a 12 mm de longitud por 3 a 4mm de ancho. Los estambres insertos de 7 a 10 mm de largo. El ovario inferior contiene dos óvulos anátropos. El pistilo que sale del centro del disco es cilíndrico y de color blanco, que se abren en dos ramas estigmáticas juntas al principio de la antesis y que luego se separan, y se doblan al marchitarse.

Duicela *et al.* (2001), indican que las flores se forman en las axilas de las hojas en grupos de 4 sobre un tallito corto o glomérulo, la flor es blanca muy poco pedicelada, tiene un solo ovario con un estilo bífido y cinco estambres que nacen en la unión de los pétalos.

Lorente (1997), indica que las flores son criptogámicas blancas de perfume ajazminado agrupados en las axilas de las parejas de hojas, en cimas de 2 o 3 constituyendo verticilos de 8 - 15 flores. Cada flor está sujeta por un corto pedúnculo y un cáliz compuesto por 5 pequeñas brácteas. recubre el ovario, corola formada por un largo tubo que se ensancha en 5 lóbulos muy estrechos.

#### **e) Fruto**

León (2001), menciona que el fruto maduro es una drupa elipsoidal de superficie lisa brillante y de pulpa delgada que alberga en su interior dos granos de café, con la parte interna plana y marcada por un surco, y la externa convexa. Cuando

madura puede ser de color rojo o amarillo, dependiendo de la variedad. En nuestro medio se le denomina al fruto de café como "cerezo", debido al color de su cáscara.

Presenta las siguientes partes:

- El epicarpio o epidermis, constituye la piel más externa y dura, la cual está formada por una sola capa de células de paredes finas.
- El mesocarpio o pulpa, está constituido por tejidos hialinos ricos en azúcares y pectinas, los cuales no contiene cafeína ni taninos. El pH del mucílago en café maduro de la especie *Coffea arábica* L. es de 5.6 a 5.7. Su contenido de humedad es muy variable, de acuerdo con las condiciones climáticas que prevalezcan durante la recolección, pues debido a su condición coloidal se hidrata o deshidrata fácilmente.
- El endocarpio o pergamino, de color amarillo formado por 5 a 6 capas de esclereidas de paredes gruesas y constituye la capa protectora del endospermo.

#### **f) Semilla**

León (2001), indica que el principal componente es el endospermo, el cual es coriáceo, verdoso o amarillento y forma un repliegue que se inicia en el surco de la cara plana, está protegido por una película muy delgada y plateada llamada espermoderma formada de varias capas de células fibrosas translúcidas de paredes finas, y esta a su vez está recubierta por el pergamino; contienen almidón, aceites, azúcares, alcaloides, como la cafeína y otras sustancias.

#### **1.1.4. Aspecto fisiológico**

Castañeda (2000), manifiesta que el ciclo fisiológico del café es de un año y consta de cuatro fases. La distribución de estas etapas varia en las diferentes zonas cafetaleras de nuestro país, debido principalmente a factores de clima y altitud se tiene las siguientes fases:

- Descanso : Julio - Agosto

- Floración : Setiembre - Octubre - Noviembre
- Llenado de granos : Diciembre – Enero – Febrero - Marzo
- Cosecha : Abril - Mayo – Junio

### **1.1.5. Características agroecológicas del café**

El cultivo de café, requiere de características climáticas y edáficas bien definidas, las cuales cuanto más se aproximan a las condiciones ideales requeridas por el cultivo en sus diferentes fases fenológicas, mayor posibilidad tendrá que expresar todo su potencial genético, lo que se traducirá en una mayor producción.

#### **a) Temperatura**

Duran (2010), indica que la T° óptima para el cultivo del café arábico se encuentra entre 19 y 21.5°C. En climas fríos, donde la temperatura media es menor de 19°C, las variedades de café se desarrollan menos, su producción es menor y la cosecha se distribuye a lo largo del año. En climas calientes, donde la temperatura media es mayor de 21.5°C, la vida productiva del cafeto es más corta, la cosecha más temprana y más concentrada; sin embargo, el ataque de la roya es más severo y se incrementan plagas como la broca y el minador de hojas.

ICAFE (1998), menciona que los rangos de temperatura media anual señalados como óptimos para el cultivo, están entre 13 a 27°C, si las temperaturas promedio están por debajo de 13°C. el crecimiento se detiene y los cafetos muestran su estancamiento a temperaturas superiores al límite aceleran el crecimiento vegetativo, en tanto que la floración y fructificación se reduce.

#### **b) Precipitación**

Durand (2010), indica que se considera apropiada para el cultivo una cantidad de lluvia comprendida entre los 1,800 y los 2.800 mm anuales, con una buena distribución en los diferentes meses del año. Se requieren por lo menos 120 mm/mes. Periodos de mucha lluvia favorecen la presencia de enfermedades como

el mal rosado y la gotera; el exceso de lluvias también puede afectar la floración del cafetal, disminuyéndola o dañándola.

La cantidad de lluvias óptimas fluctúa entre 1,200 y 1,800 mm, el cafeto presenta cierta tolerancia a la sequía.

**c) Humedad relativa**

Enriquez (1993) señala que la humedad relativa varía de acuerdo a la especie o variedad. Se adapta bien a ambientes que tengan de 70 a 95% de humedad, para un mejor desarrollo del cultivo, debido a que los ambientes con alta humedad atmosférica favorecen el desarrollo de enfermedades fungosas.

**d) Vientos**

Durand (2010), menciona que son los encargados de transportar el vapor de agua y las nubes, haciendo variar algunos componentes del clima como las lluvias, la temperatura y el brillo solar. En general, las zonas más adecuadas para el cultivo del cafeto se caracterizan por presentar vientos de poca fuerza.

**e) Radiación solar y nubosidad**

Durand (2010), la principal fuente de energía para las plantas es la radiación del sol que llega a las plantas dependiendo de la presencia o ausencia de nubes y la orientación de las laderas en relación con la salida del sol. El brillo solar se expresa como el número de horas en las cuales el sol brilla en un período dado. El brillo solar en la zona cafetera se encuentra entre 1,600 y 2,000 horas de sol al año (4.5-5.5 horas de sol al día).

ICAFFE (1998), admite la influencia de la luz solar se manifiesta en los vegetales como fotoperiodo (duración) e intensidad (irradiación). La mayor influencia sobre el cafeto la ejerce la intensidad lumínica. El cafeto, como todas las plantas, requiere de la luz solar para sintetizar sus alimentos.

**f) Altitud**

Castañeda (2000) admite que el efecto del clima está en función a la altura sobre el nivel del mar hasta alturas superiores a 2,000 msnm, si bien es cierto que la altura de por si no es determinante para modificar la calidad de las cosechas.

Esta incide directamente en la temperatura e indirectamente en la precipitación y distribución de las lluvias, por lo tanto, permite obtener diferentes calidades de café, como se puede apreciar en la zonificación cafetalera que se ha dado en nuestro país.

Zona Alta 1,200 a 2,000 msnm.

Zonas con presencia de lluvias, luminosidad baja, temperatura entre 18 a 20°C dando como resultado una excelente calidad de café.

Zona Media 900 a 1,200 msnm.

Zonas con lluvias medias, luminosidad media, temperatura entre 20 a 22°C, dando como resultado en su generalidad buena calidad.

Zona Baja 600 a 900 msnm, zona con presencia de lluvias medias alta luminosidad, Temperatura entre 22 a 24°C, con una calidad estándar de café

**g) Suelo**

El suelo es la capa superior de la tierra donde se desarrollan las raíces de las plantas. Duran (2010), el suelo es esencial para el cafeto porque le facilita el anclaje y le proporciona el agua y los nutrimentos necesarios para su crecimiento, desarrollo y producción. Tiene su origen en la desintegración y descomposición lenta de las rocas, causada principalmente por la acción del agua, la temperatura y los vientos. En algunas regiones estos procesos se acompañan de cenizas provenientes de los volcanes. Con el paso del tiempo las partículas formadas se mezclan con los residuos de animales y vegetales en descomposición, dando origen al suelo o capa vegetal.



## h) Plagas

Rodríguez (2000), las principales plagas del cultivo de café en el Perú son:

- Broca (*Hypothenemus hampei*)
- Minador de la hoja de café (*Perileucoptera coffeella*)
- Nematodos (*Meloidogyne sp*; *Pratylenchus sp.*)
- Araña roja (*Oligonychus ilicis*)
- Roya amarilla (*Hemileia vastatrix*)

### 1.1.6. Nematodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne spp.*)

#### 1.1.6.1. Ubicación taxonómica

Perry & Moens (2014), el género *Meloidogyne* agrupa a los nematodos formadores de nódulos radicales y comprende al menos 80 especies. Se ubica dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

<b>Phylum</b>	: Nematoda
<b>Clase</b>	: Chromadorea
<b>Sub clase</b>	: Chromadoria
<b>Orden</b>	: Rhabditida
<b>Suborden</b>	: Tylenchina
<b>Infraorden</b>	: Tylenchomorpha
<b>Superfamilia</b>	: Tylenchoidea
<b>Familia</b>	: Meloidogynidae
<b>Subfamilia</b>	: Meloidogyninae
<b>Género</b>	: Meloidogyne

### 1.1.6.2. Descripción del nematodo (*Meloidogyne spp.*)

Scurrah (2008), indica que los nematodos son los más numerosos y antiguos del reino animal; su nombre deriva de la palabra griega nema = hilo, hebra o filamento y ode= parecido, que alude a una forma largada, ocupa casi todos los nichos y son componentes esenciales de todos los ecosistemas.

La gran mayoría son acuáticos y aun los que viven en tierra depende de una lámina de agua para movilizarse por los poros del suelo o dentro de las plantas. Los nematodos constituyen una parte importante de la rizosfera del suelo, donde pueden ser beneficiosos según la especie y el hábito, por lo que frecuentemente juegan un papel importante en el crecimiento y productividad de las plantas, pocas veces es posible encontrar un cultivo libre de *fitonematodos*. La categoría de este *Phylum* se divide en dos clases *Adenophorea* y *Secernentea*; en ambas hay especies de nematodos parásitos de importancia económica para los vegetales.

El mismo autor, indica que los nematodos parásitos de planta constituyen aproximadamente el 10% del total de nematodos registrados, siendo más de 2000 las especies que causan daño en la agricultura.

Adicionalmente señala que la mayoría de los nematodos *fitoparasitos* habitan el suelo y las células de las raíces, lo cual limita su tamaño promedio a 0.10mm. Que el largo varía de 1000 a 1500  $\mu\text{m}$ ; solo la hembra gigante puede ser observada cuando se enquistan en las raíces. Todos los nematodos fitoparásitos están equipados con una lanza o aguja filuda y hueca propulsada por un potente musculo denominada estilete que tiene la habilidad de punzar y succionar los líquidos de las células para alimentarse.

Chitwood & Perry (2009), mencionan que los nematodos endoparásitos sedentarios del género *Meloidogyne* son considerados Fitoparásitos obligados altamente especializados. Esta característica, junto con su amplia distribución en el mundo, su extenso rango de hospedantes y su interacción con otros fitopatógenos en complejos de enfermedades, hacen que sea el *fitonematodo* de

mayor impacto económico, objeto de diversas investigaciones tales como: estudios de taxonomía, biología, interacciones planta-nematodo y enfoques para su control.

### 1.1.6.3. Ciclo de biológico de *Meloidogyne spp.*

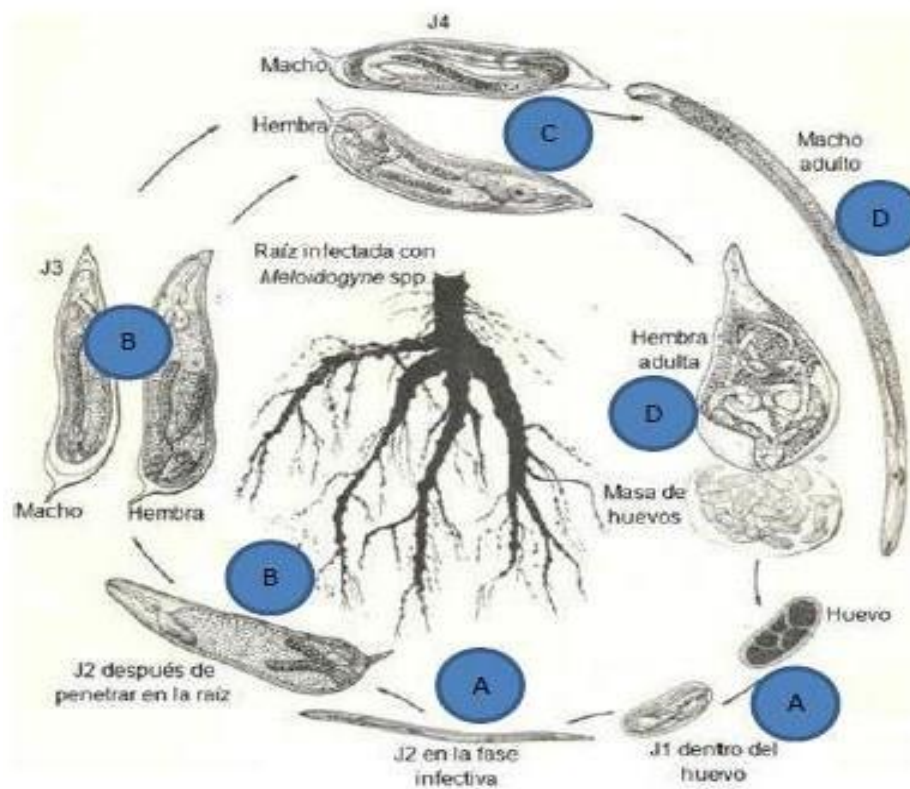


Figura 1. Formación del huevo, J1, J2; B: J3, Macho y Hembra; C: J4, Macho y Hembra; D: Macho adulto y Hembra adulto

Fuente: Papp (1999).

#### a) Formación de huevo, juvenil 1, juvenil 2 (fase infectiva), juvenil 2 (después de penetrar la raíz)

Moens *et al.* (2009), menciona que los huevos de *Meloidogyne spp.*, se encuentran inmerso en una masa gelatinosa, la cual los mantiene juntos y los protege tanto de las condiciones ambientales extremas como de depredadores. Las masas gelatinosas están compuestas por glicoproteínas y también se les atribuye propiedades antimicrobianas. Generalmente,

están depositadas en la superficie de los nódulos, pero algunas veces se encuentran directamente sobre la superficie o dentro del tejido de la raíz de la planta hospedante. La masa de huevos es inicialmente suave, pegajosa y hialina, pero se hace más firme y de color marrón oscuro con el tiempo. Taylor & Sasser (1983), menciona que se pueden encontrar más de 1000 huevos en una masa, que puede ser más grande que el cuerpo de la hembra.

Taylor & Sasser (1983), indican que el desarrollo de un huevo comienza breves horas después de la ovoposición, resultando en 2, 4, 8, 16 a más células hasta que se ve el primer estado juvenil completamente formado, enrollado con un estilete. Se puede mover dentro del huevo, pero no es muy activo. La primera muda tiene lugar en el huevo y no es difícil distinguir la cutícula del primer estado juvenil, sobresaliendo más allá de la cabeza del segundo estado juvenil (J2). Poco después este emerge rompiendo la membrana flexible del huevo, por medio de pinchazos repetidos con el estilete. La eclosión de los huevos es influenciada por la temperatura y ocurre sin requerir ningún estímulo por parte de la raíz de la planta, sin embargo, los exudados radiculares algunas veces estimulan la eclosión.

Taylor & Sasser (1983), mencionan que el juvenil (J2) de segundo estado que ha emergido se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la que pueda alimentarse. Su capacidad de sobrevivir se ve reforzada por varias adaptaciones fisiológicas y bioquímicas, incluyendo la quiescencia, la diapausa y las reservas de lípidos que prolongan su viabilidad hasta que llega e invade la planta hospedante. La búsqueda de la raíz es al azar hasta que se encuentra a unos cuantos centímetros. Luego son atraídos por los exudados radiculares, acumulándose y penetrando la raíz por la zona de elongación debajo del punto de crecimiento. Se considera que el dióxido de carbono es el factor más importante para atraer a los juveniles de segundo estado.

Wyss *et al.* (1992), menciona que el juvenil de segundo estado penetra la raíz a través de un punto de la zona sub apical donde la endodermis presenta escaso desarrollo y no constituye una barrera física para el ingreso al interior.

**b) Juvenil tres (J3) macho y hembra**

Hussey *et al.* (2001), indican que el nematodo avanza hasta el tejido cortical y una vez allí la migración continua intercelularmente hasta llegar al cilindro vascular en diferenciación; el avance a través del espacio intercelular se realiza recorriendo a la separación de la laminilla media por medio mecánico a través de golpes de estilete, sin haberse precisado hasta la fecha si también ocurren mecanismos enzimáticos en el proceso. Cada juvenil establece su sitio permanente de alimentación una vez que alcance el cilindro vascular.

Hussey & Mins (1991), indican que este sitio consiste en un conjunto de grandes células modificadas llamadas células gigante, caracterizadas por la presencia de muchos núcleos de gran tamaño altamente lobulados, con nucléolos prominentes, un alto número de orgánulos citoplasma denso con altas tasas metabólicas y paredes engrosadas e invaginadas. Los nematodos absorben los nutrientes del citoplasma directamente o a través de tubos de alimentación sintetizados con tal propósito mediante las secreciones procedentes de las glándulas sub-esofágicas dorsales.

Abad *et al.* (2009), Los nematodos del nódulo de la raíz secretan a través de su cutícula, enzimas antioxidantes que son producidas en la hipodermis y protegen al nematodo de la respuesta oxidativa del hospedante frente a la infección. Así también, las proteínas producidas y secretadas por las células de las glándulas esofágicas dentro de la planta del hospedante por medio el estilete, son señales moleculares que desencadenan la señalización que conducen a la supresión de la defensa del hospedante y a la inducción de células gigantes.

**c) Juvenil cuatro (J4) macho y hembra**

Taylor & Sasser (1983) mencionan que mientras se están formando las células gigantes y los nódulos, aumenta el ancho del nematodo y hay una dilatación considerable de las glándulas esofágicas. Las células del primordio genital se dividen y este se agranda haciéndose notoria dos ramificaciones en la hembra o formando un cuerpo alargado en el macho.

**d) Macho y hembra adultos**

**Hembra**

Taylor & Sasser (1983), indican que cuando se completan la segunda y tercera muda en la hembra, evidenciadas por las dos cutículas desprendidas, el estilete y el bulbo esofágico medio desaparecen. Poco después de la cuarta muda el estilete y el bulbo medio son regenerados, se forma el útero, la vagina y el patrón perineal se hace visible. La hembra de la cuarta etapa continúa aumentando de grosor y un poco más de longitud, sufriendo la última muda y desarrollándose como hembra adulta, de forma piriforme. Las hembras pueden producir huevos de dos a tres meses y viven algún tiempo después de que cesa la producción de huevos. El ciclo termina cuando la hembra pone su primer huevo.

**Macho**

Taylor & Sasser (1983), mencionan que después de la tercera y cuarta muda en el macho, el estilete no es visible, el bulbo esofágico medio se ha degenerado y solo la gónada se ha alargado. Luego ocurre una rápida metamorfosis: el cuerpo alargado se desarrolla dentro de la cutícula, completo con el estilete esófago con bulbo medio, espículas, y esperma con testículos.

El mismo autor indica que el macho de la cuarta etapa es vermiforme y sufre una última muda y emerge de la raíz ya como adulto. No hay evidencia de la alimentación por parte de los machos adultos y pueden ser

encontrados en especies partenogénicas cuando las condiciones son desfavorables para el desarrollo de la hembra, por ejemplo, cuando las densidades son muy altas y hay una limitación del suministro de alimentos. Los machos probablemente viven solo semanas.

#### **1.1.6.4. Sintomatología que produce el nematodo nodulador (*Meloidogyne spp.*) en las plantas**

Los síntomas en las plantas y su severidad varían de acuerdo a la especie del nematodo, edad y parte de la planta donde se presenta la lesión.

Taylor & Sasser (1983); Agrios (1996), señala que la formación de nódulos, en las raíces de plantas muy infectadas, son mucho más cortas, con menos raíces laterales y menos pelos radiculares; lo que conlleva a la reducción del sistema radicular. La deformación en las raíces causa un desarrollo limitado; con menor cantidad de hojas, las cuales son pequeñas y de color verde pálido o amarillento; se observa marchitez y otros síntomas propios de la deficiencia de agua y nutrientes, cuando éstos abundan en el suelo. Las especies de *Meloidogyne spp.* son parásitos obligados de las plantas. Tihohod (2000), indica que solamente después que el juvenil de segundo estadio penetra en la raíz de una planta hospedera inicia la formación de su sitio de alimentación (células nutridoras), alimentándose, como la postura de huevos por las hembras.

Los nematodos del género *Meloidogyne* se reproducen y alimentan de células vegetales vivas modificadas en la raíz, en la que induce nódulos, los síntomas aéreos son similares a los producidos en plantas que tienen un sistema radicular afectado y en mal funcionamiento. El tamaño y forma del nódulo dependen de la especie de nematodo, número de nematodos en el tejido de la raíz, grado de susceptibilidad y edad de la planta hospedante.

En los nódulos formados puede haber una o más hembras adultas, localizadas en el cilindro central. Algunos nódulos en la raíz pueden ser muy pequeños y no se pueden reconocer, Por ejemplo: en gramíneas, rara vez se forman nódulos; en

cebolla, los nódulos son muy discretos, siendo notoria la producción de masas de huevos; en camote y pimiento, los nódulos son también generalmente pequeños.

La mayoría de las plantas con raíces leñosas forman nódulos pequeños, especialmente al comienzo de una temporada de cultivo o cuando la densidad de población de nematodos es baja. Otras especies tienen una tendencia a producir nódulos en el extremo de la raíz. Agrios (2011); Medina *et al.* (2014), mencionan que los síntomas más característicos de la enfermedad son los que aparecen sobre los órganos subterráneos de las plantas. Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz, las cuales tienen un diámetro dos a tres veces mayor al de las raíces sanas. Se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a la raíz una forma irregular, las raíces infectadas son más pequeñas y muestran varios grados de necrosis.

Con frecuencia se produce la pudrición de las raíces a finales de la estación y los síntomas se dan del siguiente modo:

**a) Anormalidades resultantes de la lesión a las yemas, puntos en crecimiento y botones**

- Yemas muertas o desvitalizadas.
- Vástagos y follaje ondulados o deformados.
- Vesículas de las semillas.

**b) Anormalidades resultantes de la lesión internas en tallos de follaje**

- Necrosis y decoloración.
- Manchas y lesiones de las hojas.
- Vesículas en las hojas.





**c) Síntomas subterráneos**

- Nódulos en la raíz.
- Necrosis superficial.
- Lesiones.
- Ramificación excesiva de las raíces.
- Yemas radiculares lesionadas o desvitalizadas.

Tabla 1

*Listado de especies del género Meloidogyne parasitas del cafeto y su distribución geográfica*

<b>Especies</b>	<b>País</b>
<i>Meloidogyne incognita</i>	Brasil, Costa de Marfil, Costa Rica, Cuba, El Salvador, Guatemala, India, Jamaica, México, Nicaragua, Tanzania, Estados Unidos (Hawai) y Venezuela.
<i>M. exigua</i>	Brasil, Bolivia, Colombia, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Puerto Rico, Perú, República Dominicana, Venezuela, Panamá y El Salvador.
<i>M. javanica</i>	Brasil, Cuba, El Salvador, India, Santo Tomé e Príncipe Tanzania y Zaire.
<i>M. hapla</i>	Brasil, Congo, El Salvador, Guatemala, India, Tanzania, Kenia y Zaire.
<i>M. arenaria</i>	Cuba, El Salvador y Jamaica.
<i>M. paranaensis</i>	Brasil, Guatemala y Estados Unidos (Hawai).
<i>M. arabicida</i>	Costa rica
<i>M. coffeicola</i>	Brasil
<i>M. decalineata</i>	Santo Tomé, Príncipe y Tanzania
<i>M. africana</i>	Kenia y Zaire
<i>M. kikuyensis</i>	Kenia
<i>M. megadora</i>	Angola, Uganda y Santo Tomé e Príncipe
<i>M. inornata</i> <i>M. oteifae</i>	Guatemala
<i>M. oteifae</i>	Zaire
<i>M. thamesi</i>	India
<i>M. konaensis</i>	Estados Unidos (Hawai)
<i>M. mayaguensis</i>	Cuba, Costa Rica y Guatemala
<i>M. izalcoensis</i>	El Salvador

Fuente: Carneiro & Cofcewicz (2007).

### 1.1.7. Métodos de identificación de especies del género *meloidogyne spp.*

#### a) Identificación taxonómica del género *meloidogyne spp.*

- Main & Mullin (1996), en su guía de identificación taxonómica de nematodos parásitos de plantas, mencionan que el género *Meloidogyne* presenta las siguientes características:
- Estilete presente.
- El esófago está dividido en tres, con un *metacarpus* valvular (bulbo medio), seguido por un delgado *istmo* y *bulbo basal glandular*; estilete por lo general con mandos basal (Ordenes: *Aphelenchida* y *Tylenchida*).
- En la salida dorsal se encuentra la glándula del esófago “*procorpus*” (por lo general se pueden ver más fácilmente en el agua recién preparada que en los montajes de glicerina); el *metacarpus* moderado a un tamaño reducido (menos de tres cuartas partes de la anchura del cuerpo) (Orden: *Tylenchida*).
- Cabeza sin setas y es parásito de numerosas plantas.
- *Metacarpus* con las actuales válvulas esclerotizado (por lo general se pueden ver más fácilmente en el agua recién preparada).
- Las hembras maduras en gran medida son amplias (en forma de pera, limón en forma de riñón o sacciformes), se encuentran en las raíces de las plantas ya sea integrado o fijado por el cuello.
- Las hembras maduras se convierten en quistes con forma de cuerpo piriformes *acciformes*, esferoide o limón forma general, sin cola.
- Las hembras con el cuerpo irregular y anillos alrededor del perineo (el patrón perineal); poro excretor a nivel de estilete cierra detrás de ella, la región de los labios con dos labios laterales más cuatro labios sub lateral; la segunda etapa juvenil el estilete es menor a 20  $\mu\text{m}$ , el marco labial poco desarrollado; usualmente induce un marcado irritante a las raíces de acogida.

## b) Identificación morfológica

Eisenback *et al.* (1983), menciona que el estudio de los caracteres morfológicos y su descripción va acompañado de dimensiones o diámetros, establecidos y complementados con parámetros señalados por varios autores a lo largo de los últimos años; sin embargo, se debe considerar que una población no debe identificarse únicamente en base a medidas, debido a que estas pueden ser variables e incluso pueden sobreponerse entre especies.

Chitwood (2009), fue el primero en indicar que los patrones perineales de poblaciones puras de *M. incognita* y *M. javanica* sufrían variaciones morfológicas bajo la influencia de factores como hospedante.

Eisenback & Hirschmann (1983), es por ello que también son utilizadas características de la región cefálica y estilete de la hembra, macho y según estado juvenil. Magunacelaya & Dagnino (1999), sin embargo, los caracteres del segundo estado juvenil son suplementarios y generalmente no son utilizados en la identificación rutinaria de especies.

Rodríguez (2000), menciona que el tamaño de los nematodos *fitoparasitos* hace necesario el empleo de un microscopio óptico compuesto para su observación y medición; así como para la realización de esquemas y fotografías de los especímenes y sus estructuras; también se utiliza el microscopio electrónico de rastreo o barrido, como una herramienta de trabajo para el diagnóstico, ya que permite ver con mucha más claridad algunos detalles morfológicos que son imprecisos utilizando el microscopio óptico complejo; incluso permiten evidenciar diferencias morfológicas entre poblaciones o razas de diferentes especies. Entre los caracteres morfológicos más importantes revelados por el microscopio electrónico de rastreo se encuentran los de la región cefálica en hembras, machos y juveniles, así como detalles de las estructuras que se presentan en la cutícula y región de la cola en hembras y machos.

Hunt & Handoo (2009), La identificación del género *Meloidogyne* está basada en caracteres morfológicos y morfo métricos. El procedimiento más frecuente para su

identificación es el estudio del patrón perineal en la región posterior del cuerpo de las hembras; esta región comprende el área de la *vulva-ano* (*perineo*), el término de la cola, *fasmideos*, líneas laterales y estriaciones cuticulares circundantes.

**c) Análisis electroforéticos de proteínas e isoenzimas**

Hussey *et al.* (1973), describieron metodologías para identificar especies de *Meloidogyne spp.* Mediante electroforesis de proteínas e isoenzimas; estos fueron los primeros métodos moleculares aplicados en *nematología*.

Carneiro *et al.* (2000) y Xu *et al.* (2004) analizaron poblaciones mediante análisis de isoenzimas, reportando 18 y 5 fenotipos de esterasas respectivamente.

Los extractos solubles de proteínas son separados en gel de poliacrilamida bajo un campo eléctrico de acuerdo a su diferencia de *masa molecular* (PAGE). La electroforesis bidimensional en gel de *poliacrilamida* (2-D- PAGE) puede también ser usada para una mejor separación. En este caso las proteínas son separadas en la primera dimensión de acuerdo a su punto isoeléctrico y en la segunda de acuerdo a su masa molecular. Los perfiles electroforéticos de isoenzimas, particularmente *esterasas* y *malato deshidrogenasa* (MDH) son diferentes para cada especie; también se usan perfiles de *súper-óxido dismutasa* (SOD), *glucamato-oxalacetato transaminasa* (GOT).

Karszen & Moens (2006), esta metodología es muy sensible, siendo necesaria una sola hembra joven. La comparación de perfiles electroforéticos de esterasas muestra gran consistencia para distinguir especies de *Meloidogyne spp.*, sin embargo, los perfiles de malato deshidrogenasa ayudan en la identificación cuando los perfiles de esterasas son similares, como, por ejemplo, con *M. incognita* y *M. hapla*.

Hunt & Handoo (2009), Algunas especies como *M. arenaria*, muestran varios perfiles diferentes, aunque esto puede indicar la existencia de especies crípticas.

### 1.1.8. Marco conceptual

- **Ano:** En hembras, es la abertura ventral, terminal del intestino precedido del recto; en machos es la abertura cloacal. El ano marca el límite anterior de la cola.
- **Anfimixis:** Proceso por el cual culmina y finaliza la fecundación.
- **Caracterizar:** Determinar las cualidades o rasgos característicos de un organismo u cosa.
- **D.D.M.:** Densidad Dañina Mínima
- **Densidad poblacional:** Cantidad de individuos de una población determinada por unidad de espacio o volumen del ambiente en el que viven.
- **Dimorfismo sexual:** Diferenciación de la morfología de hembras en relación a los machos.
- **Electroforesis:** Técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico.
- **Esterase:** Enzimas que catalizan reacciones de hidrólisis de ésteres carboxílicos (carboxiesterasas), amidas (amidasa), ésteres de fosfato (fosfatasa), etc.
- **Estilete:** Tuvo axial esclerotizado, de origen cuticular, una porción final de la cabeza tiene un lumen continuo con un lumen al esófago. Usado para penetrar una pared celular para retirar un alimento, para transportar enzimas digestivas al interior de las células de un hospedero, y retirar un contenido celular durante la digestión.
- **Estoma:** Porción del tracto digestivo entre la abertura oral y el esófago.
- **Fusiforme:** Organismo en forma de huso, es decir, con forma alargada, elipsoide, y con las extremidades más estrechas que el centro.



- **Hermafroditismo:** También denominado intersexualidad se refiere a todo ser vivo con características de ambos sexos.
- **Hospedante:** Organismo que alberga a otro en su interior o lo porta sobre si, ya sea en una simbiosis de parásito, un comensal o un mutualista.
- **Identificar:** Reconocer la identidad mediante características específicas propias de una especie.
- **Incidencia:** Número de casos nuevos de una enfermedad en una población determinada y en un periodo determinado.
- **Infestación:** Invasión de un organismo vivo por agentes parásitos externos o internos. **Intraespecífica:** Interacción biológica en la que los organismos que intervienen pertenecen a la misma especie.
- **Isoenzima:** Enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos pero que catalizan la misma reacción química.
- **Nematodo fitoparásitos:** Nematodos que tienen un estilete, que tiene la habilidad de punzar y succionar los líquidos de las células vegetales para alimentarse.
- **Odontoestilete:** Tipo de estilete de muchos nematodos de vida libre y los de la familia
- **Dorilaymida;** estilete corto sin nódulos, cavidad bucal con una estoma cilíndrica.
- **Odontoforo:** Estructura secundaria de un Odontoestilete, formado por la modificación de la región faríngea anterior.
- **Ovocito:** Gametocito hembra que participa en la reproducción.
- **Placa perineal:** Patrón de marcas cuticulares alrededor de la vulva.

- **Parasitismo:** El parasitismo se produce cuando un individuo vive a expensas de otro al que puede perjudicar.
- **Partenogénesis:** Desarrollo embrionario que inicia de un ovulo en fecundación, sin la participación del macho para la reproducción (asexual).
- **Perineal:** Relativo perineo (espacio entre el ano y los órganos genitales)
- **Perineo:** Área de una superficie cerca al ano y la vulva, área particular para el diagnóstico de nematodos del nódulo de la raíz.
- **Periforme:** En forma de pera.
- **Poliacrilamida:** Polímero generado a partir de acrilamida y bisacrilamida. Forma de un gel con poros más pequeños que la agarosa. Se usa como medio separador para realizar electroforesis de macromoléculas. En especial proteínas y fragmentos de ácidos nucleicos.
- **Polífago:** Conjunto de organismos que poseen una alimentación variada. Estos organismos se pueden nutrir, a la vez, de especies vegetales y de especies animales.
- **Quiste:** Hembra repleta de huevos con la cubierta endurecida muy resistente a agentes externos. Estos quistes pueden permanecer en ese estado largo tiempo activándose cuando las condiciones sean favorables.
- **Saprofita:** Organismo vegetal que obtiene su energía de materia orgánica muerta o de los detritos desechados por otros seres vivos, de los cuales extrae los compuestos orgánicos que requiere como nutrientes para alimentarse.
- **Sedentario:** Que permanece siempre en el mismo lugar. Adjetivo que apunta a todos aquellos seres vivos de pocos movimientos.
- **µm:** micrómetros
- **Vermiforme:** Es un adjetivo utilizado para caracterizar seres vivos o estructuras que tienen forma parecida a un gusano.



- **Vulva:** Abertura externa del sistema reproductivo de las hembras, normalmente transversal.

## 1.2. Antecedentes

Campos (2005) identificaron a *Meloidogyne exigua* (Goldi, 1987) en Costa Rica, Nicaragua y Honduras con síntomas típicos como rosario de agallas de tamaño relativamente pequeño, estas agallas eran más observadas en las raíces secundarias las cuales encerraban a las hembras y las masas de huevos.

Vovlas y Di Vito (1991) comparó el incremento de la población y daños de dos especies de *Meloidogyne*, que fueron *M. incognita* y *M. javanica* en el crecimiento de plántulas de café. Las dos especies empezaron con la misma cantidad inoculada; *M. incognita* y *M. javanica*, afectaron el crecimiento del cultivo mostrando síntomas como nodulaciones en la raíz, amarillamiento y marchitez en las hojas ambas afectaron en un 50% el crecimiento de las raíces. Mientras que *M. incognita* mostró un alto índice de reproducción a diferencia de *M. javanica*.

Vergel *et al.* (2000) describe que, en unos 76 países del trópico, subtropical y zonas templadas se han identificado 54 especies de las cuales *M. incognita*, *M. javanica*, *M. megadora*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. coffeicola*, *M. africana*, *M. decalineata*, *M. kikuyensis*, *M. inornata*, *M. oteifae*, *M. tamesi*, *M. arabicida*, *M. konaensis* y *M. paranaensis* han sido encontradas parasitando raíces de café, causándoles reducción en su producción.

Rodríguez (2000) observaron los síntomas que producen las poblaciones de *M. exigua* y *M. megadora*. Todos los juveniles de segundo estadio de las dos especies penetraron a la raíz por la rizodermis, en ambos casos fue mayor la actividad sintetizadora de la raíz y las células de la raíz se volvieron multinucleadas para finalmente mostrar necrosis; el café mostró más susceptibilidad a *M. exigua*, mientras que para *M. megadora* mostró resistencia y susceptibilidad.

Vergel *et al.* (2000) en su trabajo “Reconocimiento y frecuencia de *Meloidogyne spp.* En una localidad de la zona cafetalera central en Colombia”; utilizó las técnicas de hospedantes diferenciales y patrones perineales, determinó que los hospedantes diferenciales mostraron

susceptibilidad; observándose así nudosidades en las raicillas, y necrosis en el cuello de la raíz principal, al finalizar estas dos técnicas permitieron describir las especies *M. arenaria* y *M. javanica*.

Di Vito *et al.* (2000) mostraron que la histopatología de las raíces de café infectadas por *M. exigua*, presentaron los siguientes síntomas: raíces hinchadas y anchas, con la masa de huevos visibles en la superficie radicular, varias infecciones en las raíces, y la formación de células especializadas (células gigantes) e *hiperplasia*.

Sasser & Cártter (1983) Detalla que el “nematodo del nódulo de la raíz” es más severo en suelos que contienen menos del 10% de arcilla, menos del 30% de limo y más del 60% de arena. Andrés (2003) menciona que entre los cultivos directamente afectados por la acción patogénica de los nematodos destacan los de tomate, banana, cacahuete, tabaco, café, cacao, algodón, coco, soja y en regiones templadas principalmente los de cereales, papa, remolacha, maíz y judías y demás hortícolas.

Hurchanik *et al.* (2003) determinaron el efecto de las poblaciones de *Meloidogyne konaensis* sobre el estado nutricional de las hojas (Cu, Zn) y raíces (K, Mg, Ca, Cu, Al, Zn) del café en febrero (floreCIMIENTO) a mayo (estadio temprano del desarrollo de la fruta) y determinaron que las concentraciones de K, Mg, Ca, Cu, Al, disminuyeron en las raíces del café y las concentraciones de Zn, Al, en las hojas de café. La asociación entre deficiencias nutricionales de las hojas y raíces con respecto a las densidades altas de *M. konaensis* indica que ocasionan estas deficiencias.

Andrés (2003) indica que la distribución de los nematodos en los suelos cultivados es usualmente irregular y es mayor alrededor de las raíces de las plantas susceptibles que en ocasiones alcanzan profundidades considerables (30-150 cm o más). La mayor concentración de nematodos en la región de las raíces se debe primariamente a su mayor tasa de reproducción por la disponibilidad continua del alimento y también a un proceso de atracción de los nematodos por determinadas sustancias liberadas en la *rizosfera*.

Andrés (2003) menciona que la dispersión de los nematodos a través del suelo por sus propios medios es lenta y muy limitada, de tal forma que la distancia máxima cubierta por un nematodo probablemente no excede unos pocos metros por estación. Dentro del suelo se

mueven más rápidamente cuando los poros están recubiertos por una fina película de agua (de pocos mm de espesor) que cuando el suelo está totalmente saturado de agua. Además de por su propio movimiento, los nematodos se dispersan también fácilmente por cualquier medio que se mueva y pueda transportar las partículas de suelo. La maquinaria agrícola, irrigación, aguas de drenaje o inundaciones, patas de animales, pájaros y tormentas de polvo dispersan a los nematodos en áreas locales, mientras que en grandes distancias los nematodos se dispersan primariamente con los productos de las explotaciones agrícolas y las plantas de vivero.

Souza *et al.* (2007) compararon cuál es el método más eficiente para la estimación cuantitativa de *M. exigua* durante dos años, se determinó que la estrategia usada por los *nematólogos* y *agricultores*, que el muestreo cerca del borde del dosel para cuantificar los juveniles de segundo estadio en el suelo es inadecuado, para evaluar poblaciones de *M. exigua*. La mejor estrategia de muestreo es determinar el número de nódulos obtenidas de muestras localizadas bajo el dosel a una profundidad de 0-25 cm.

Hiroshi *et al.* (2009) describieron que en Brasil las especies que causan más daño en el cultivo de café, son: *M. exigua* debido a que se distribuye en todas las variedades; *M. paranaensis* y *M. incognita* por la alta intensidad de los daños, estas especies se han identificado en San Pablo y Paraná, por este motivo una de las estrategias más eficientes económicamente y ecológicamente son los cultivos resistentes.

Monzón (2010) realizó la evaluación del “nematodo del nódulo de la raíz” en el cultivo del café en San Juan de Oro (1200-1800 msnm); determinó a través de evaluaciones morfológicas que el nematodo que ataca el cultivo, es la especie *M. incognita*.

García (2012) determinó que el fitoparásito que presento mayor densidad poblacional tanto en la raíz de café como en banano fue *Meloidogyne* J2, teniendo mayor presencia en las raíces del cultivo del café.

Rojas y Salazar (2013) reportaron la presencia de varias especies de *Meloidogyne*, entre ellas *M. exigua* en plantaciones de café en Costa Rica, además de *M. arabicida*, *M. javanica*, *M. incognita* y *M. enterolobi* (anteriormente denominado como *mayaguensis*).

Cruz (2013) identificó al “nematodo del nódulo de la raíz” en el café en Veracruz. Realizando varias encuestas; donde precisó que el 44% de los agricultores sabe de la existencia de *Meloidogyne*, el 54% tuvieron pérdidas económicas, 56% no reconocen los síntomas, el 73% respondió que el síntoma más notorio es la defoliación y el 18% afirmó que los síntomas están presentes por más de 10 años.

Rojas y Salazar (2013) mencionan que los nematodos “formadores de agallas en raíces” o especies del género *Meloidogyne* son los nematodos parásitos de plantas que más limitan la producción de los cultivos. En España, las pérdidas causadas por nematodos fitoparásitos han sido estimadas en torno al 12,0%, pero en el caso de *Meloidogyne spp.* Varían entre el 15,0% y el 60,0% de la cosecha.

Villain *et al.* (2013) determinaron la diversidad biológica de los “nematodos noduladores” en el café en Centro América, mediante la determinación de enzima esterasa, once fueron los fenotipos observados y nueve especies fueron identificadas de las cuales *M. exigua* fue la más distribuida mientras que *M. arabicida*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. izalcoensis* y *M. paranaensis* fueron las más localizadas. Se reportó la presencia de *M. morocciensis*. Y se confirmó la presencia de *M. enterolobii*.

Rojas y Salazar (2013) mencionan que poblaciones iniciales de *M. exigua* superiores a 32 huevos/cm<sup>3</sup> de sustrato causan una reducción de 20% en la altura y diámetro del tallo, 65% en el número de nudos y 50% en el peso aéreo, en comparación al testigo. Los síntomas que este fitoparásito, ocasiona es reducción del tamaño de la planta, amarillamiento, poca producción de granos, aborto de flores, reducción radicular, presencia de nódulos en las raíces.

Vera (2014) identificó las especies del género *Meloidogyne* en el Perú, procedentes de diferentes zonas mediante análisis morfológica y se encontró a *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*; que concordaron con el estudio de PCR.

Julca *et al.* (2000) en su trabajo de investigación encontró diversos géneros tales como: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Tylenchus*, *Pratylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Criconemella*, *Xiphinema* y *Paratylenchus*, de los cuales *Meloidogyne* representó el 91% de



la población total, diez veces más que la suma de los otros géneros de nematodos parásitos de plantas.

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 2.1. Identificación del problema

El café en el Perú es uno de los cultivos más importantes a nivel nacional, al ser una fuente generadora de empleo e ingresos y un gran demandante de insumos, bienes y servicios, más de 223 mil familias de pequeños productores que se dedican a su cultivo a nivel nacional este genera cada año más de 54 millones de jornales directos y 5 millones de jornales indirectos en la cadena de valor del café (MINAGRI, 2015).

El valle de Tambopata cuenta con una superficie total del cultivo de café de 48, 473 has. cultivadas, siendo el cultivo de café una de las principales fuentes de ingresos para los agricultores de esta parte del país (MINAGRI, 2013).

Se estima que *nematodos fitoparásitos* causan pérdidas anuales entre el 11 y 14%, sin embargo, las interacciones de los nematodos con otros patógenos, casi siempre resultan en daños mayores al originado por cada parásito en forma individual (Sasser & Freckman, 1987).

#### 2.2. Definición del problema

El café en el Perú es un cultivo de gran importancia económica y social, existen 425,400 has. con plantas de café distribuidas en 278 mil unidades agropecuarias, localizadas en 338 distritos y 57 provincias en 15 ámbitos de gobiernos regionales que involucran a un aproximado de 200 mil familias (INEI, 2014).

Al igual que otras especies vegetales cultivadas, el café es atacado por diversas plagas, en el Perú se han reportado 14 especies de hongos, 4 nematodos fitoparásitos y 36 especies de insectos que ocasionan daños a este cultivo; sin embargo, los problemas fitosanitarios más importantes son la roya amarilla, los nematodos fitoparásitos de plantas y la broca del café (SENASA, 2014).

En la actualidad se conocen más de 4,105 especies de nematodos fitoparásitos, las cuales causan pérdidas anuales entre 11 y 14%, equivalentes a US\$ 80 billones al año. Aunque sobreviven en casi todos los hábitats, son esencialmente acuáticos; la mayoría de los nematodos son microscópicos y miden entre 300 y 1,000  $\mu\text{m}$  de largo y 15 a 35  $\mu\text{m}$  de ancho; su tamaño los hace invisibles a simple vista, pero pueden ser fácilmente observados con la ayuda de un microscopio o estereoscopio. Los nematodos fitoparásitos, según el género, tienen en la región anterior (cabeza) un estilete hueco (estomatoestilete u odontoestilete) también llamado “lanza”, pero hay algunos con estilete sólido modificado (onquioestilete), el estilete es usado para penetrar a las células de las plantas.

### **2.3. Intención de la investigación**

Entre los géneros asociados al cultivo de café se encuentran: *Meloidogyne* (nematodo del nudo de la raíz), *Pratylenchus* (nematodo de la lesión), siendo el primero quien ocasiona grandes pérdidas en la caficultura en la mayoría de países de América del Sur (ANACAFE, 2013).

En los 76 países del trópico, sub trópico y zonas templadas se han identificado 54 especies de nematodos de las cuales *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. megadora*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. coffeicola*, *M. africana*, *M. decalineata*, *M. kikuyensis*, *M. inornata*, *M. oteifae*, *M. thamesi*, *M. arabicida* y *M. paranaensis* han sido encontradas parasitando café, (CENICAFE, 2000).

### **2.4. Justificación**

Han sido identificadas hace más de un siglo; pero la extensiva variación morfológica que existe entre las especies, y el gran número de especies descritas del género *Meloidogyne* existe una gran variabilidad intra específica que dificulta su identificación y caracterización



de los nematodos de las agallas, (Hartman y Sasser, 1985); la identificación de estas especies fue inicialmente basada en características morfológicas (cortes perineales) y la diferencia de hospederos, (Eisenback *et al.*, 1983); entre tanto debido a la gran variación ahora se emplean marcadores *enzimáticos* y *moleculares*.

## 2.5. Objetivos

### 2.5.1. Objetivo general

Analizar la prospección de poblaciones del nematodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne spp.*) y otros géneros de nematodos asociados al cultivo de café (*Coffea arabica L.*) en la región puno.

### 2.5.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los principales géneros de nemátodos, presente en el cultivo de café en la región Puno.
- Identificar las principales especies de *Meloidogyne*, presente en el cultivo de café.
- Estimar la fluctuación poblacional del género *Meloidogyne* en el cultivo del café.



## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Acceso al campo

El presente trabajo de investigación se ha realizado, bajo la metodología descriptiva y análisis de laboratorio de las diferentes muestras que fueron recolectadas de diferentes zonas productoras de café de las variedades Catimor y típica en la región Puno, en plantaciones tradicionales. El análisis y procesamiento de las muestras se ha realizado en el mega laboratorio de la Universidad Nacional del Altiplano; la caracterización bioquímica se realizó en el laboratorio de electroforesis, ambiente del laboratorio de Entomología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica cuya ubicación geográfica es: 15°49'23.34''S y 70°01'09.79''O.

Las fotos de los nematodos fitoparásitos fueron fotografiadas (50 µm, 100 µm y 200 µm) y sus mediciones tanto longitud de cuerpo como de estilete, se realizaron en el laboratorio de Fitopatología y Nematología de Embrapa Clima Templado/Brasil.

El área de estudio del presente trabajo de investigación fue en las provincias de Sandía y Carabaya de la región Puno, en los siguientes distritos y sectores que se detallan a continuación:

- Distrito de San Pedro de Putina Punco, sectores: Chunchusmayo, Huaranca, Santa fe, Arco Punco y Tunquipata (Figura 2)

- Distrito de San Juan del Oro, sectores: Challuma, Yanamayo y Belén, (Centro de Investigación y Producción Tambopata - Universidad Nacional del Altiplano), tal como se puede observar (Figura 3).
- Distrito de San Gabán, sectores: Sangari, Casahuire y Churumayo, tal como se muestra (Figura 4).

En total se han logrado recolectar 129 muestras de suelo, lográndose realizar tres, doce y veinte muestras de suelo por sector, dependiendo de la necesidad de cada sector identificado, en un total de 11 sectores de los distritos identificados tal como se puede observar en Tablas 04, 05 y 06 del Anexo.

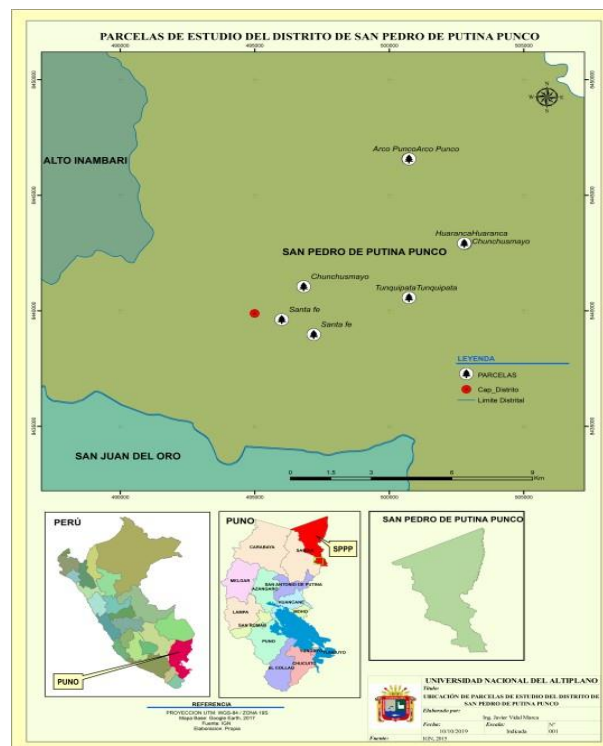


Figura 2. Mapa de Ubicación de zona de investigación: Distrito de San Pedro de Putina Punco.

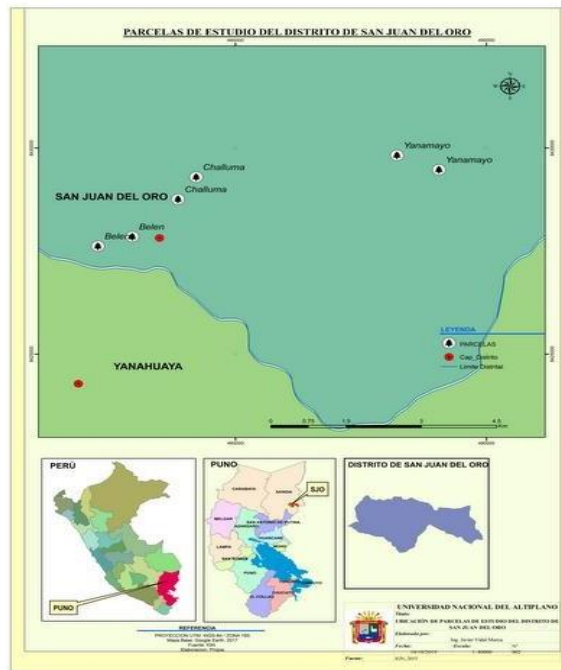


Figura 3. Mapa de Ubicación de zona de investigación: Distrito de San Juan del Oro.

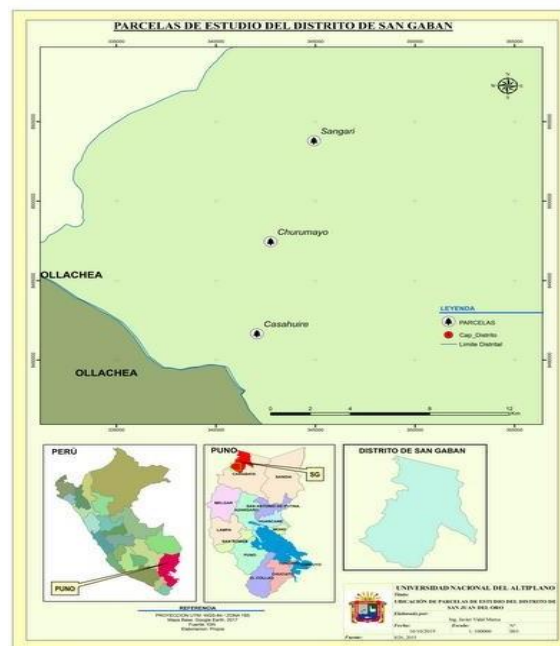


Figura 4. Mapa de Ubicación de zona de investigación: Distrito de San Gabán.

### 3.2. Selección de informantes y situaciones observadas

#### a) Muestreo de suelos y raíces

Se colectaron cinco muestras de suelo por parcela, considerando tres, doce y veinte muestras por sector, los sectores evaluados fueron 11 y el total de las muestras analizadas fueron 129, la colecta se realizó en los meses de noviembre y diciembre del 2016. (Tabla 04 de Anexos) Las muestras de raíces solo fueron 11 una muestra por sector. Se colectaron las muestras con presencia de agallas radiculares, entre los meses de noviembre a diciembre del 2016. A continuación, se describe la metodología de recolección.

1. En cada parcela los puntos muestreados fueron cinco siguiendo un trayecto en M, abriendo la hojarasca y el suelo a una profundidad de 10 a 20 cm. (Figura 5 A).
2. De cada punto se homogenizó la muestra y se recogió en promedio 500g de suelo dentro de bolsas plástico. Las cuales fueron debidamente etiquetadas (Figura 5 B).
3. De la misma manera se tomaron las muestras de raíces con presencia de agallas, a una profundidad de 10 a 20 cm, se recogió en promedio 300g. (Figura 5 C y D).
4. Posteriormente todas las muestras fueron transportadas al laboratorio para su evaluación (Figura 5 E).

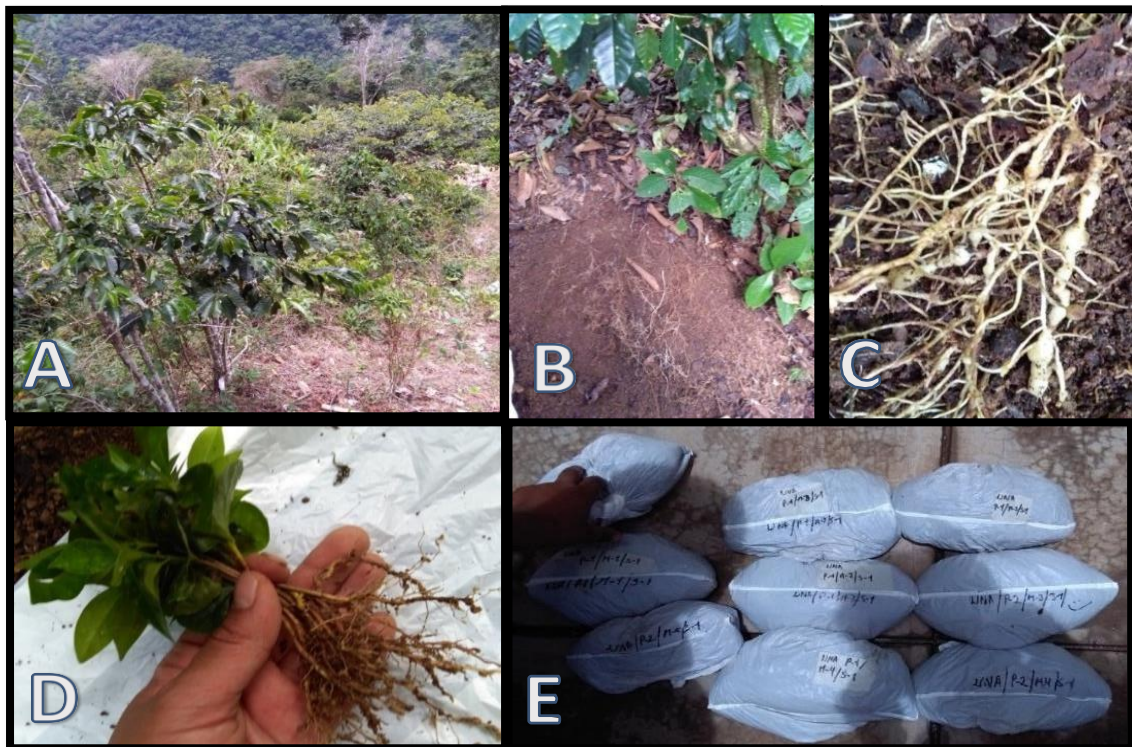


Figura 5. A y B: Colecta de muestras de suelos de café del ámbito de trabajo; C y D: Raíces y plántones infectados con *Meloidogyne spp.*; E: Muestras recolectadas de suelo del cultivo de café.

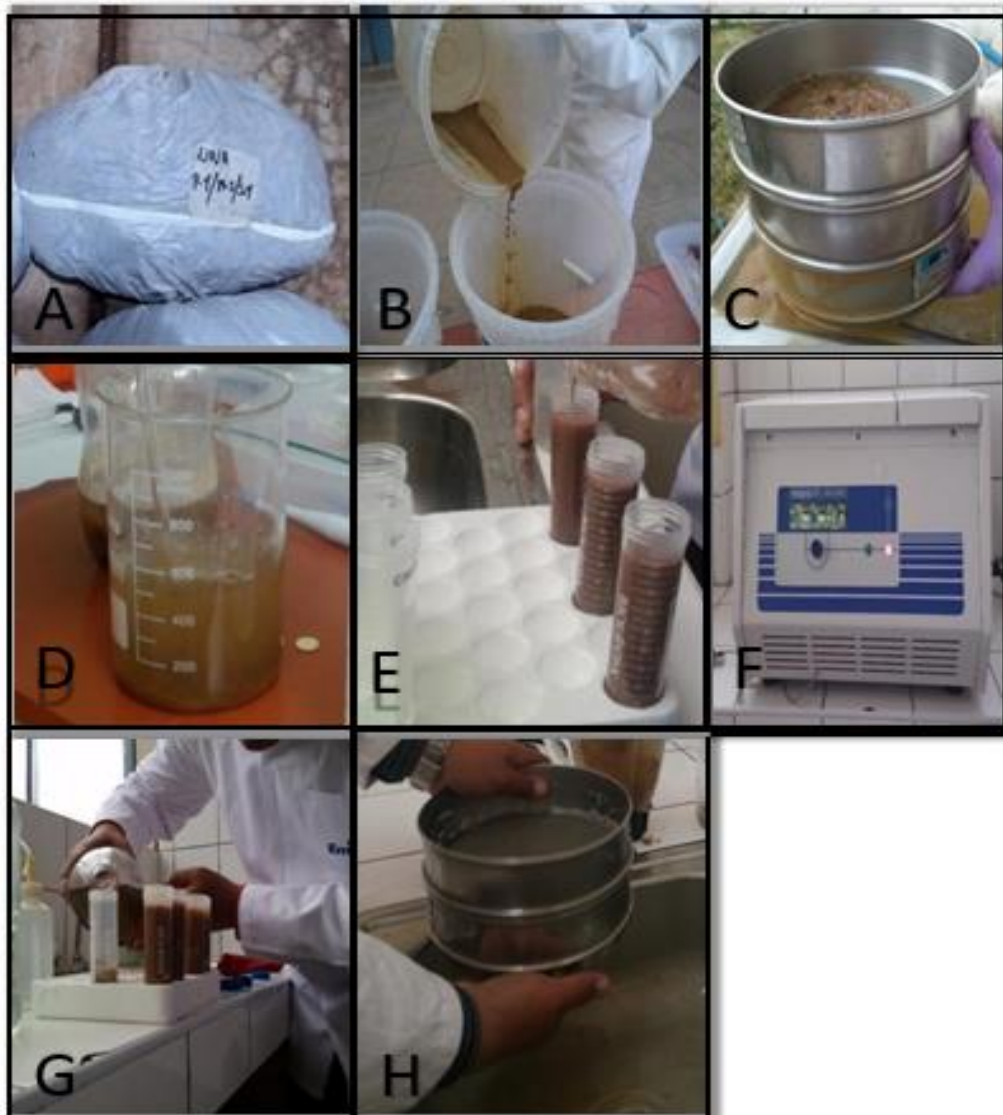
### 3.3. Estrategias de recogida y registro de datos

#### 3.3.1. Método de fluctuación centrífuga para la determinación de nematodos en muestras de suelo con solución de sacarosa

1. Se tomaron 200 g de suelo de la muestra de 500 g recolectada en campo de suelo (Figura 6A).
2. Estos 200 g se vertieron en un balde con aproximadamente 1 lt. de agua.
3. Se mezcló bien el suelo con el agua con movimiento giratorios y despacio para desagregar terrones de suelo y no lastimar la muestra.
4. Se retiró el líquido en suspensión (figura 6B)

5. Se vertió el líquido a través de un tamiz de 60 Mesh (0.420 mm de abertura), seguido de un tamiz de 100 Mesh (0.149 mm de abertura) y finalmente un tamiz de 400 Mesh (0.037 mm de abertura) (figura 6C).
6. Luego se recolecto 50 ml de los dos últimos tamices mencionados anteriormente.
7. Seguidamente a los 50 ml, se le agrego una cuchara de cal hidratada con la finalidad de separar la parte sedimentada de la parte líquida, estas fueron homogenizadas (figura 6 DyE), luego fueron transportados a los tubos de centrifugación en donde se centrifugo por cinco minutos a una velocidad de 1750 rpm (figura 6 F).
8. Al finalizar el tiempo, se retiró los tubos de centrifugación y se eliminó cuidadosamente el sobrenadante.
9. Posteriormente se adiciono solución de sacarosa (500 gramos de azúcar disuelta en un litro de agua) para cada tubo (figura 6 G).
10. Los agregados de azúcar se centrifugaron a una velocidad de 1750 rpm, por un minuto al finalizar el tiempo, se retiró los tubos de la centrifugadora y se vertieron individualmente en el tamiz de 400 Mesh (0.037 mm de abertura), posteriormente fue lavado con abundante agua, para retirar la solución de sacarosa (figura 6 H).
11. Por último, se retiró la muestra del tamiz Mesh de 400 (figura 6 H) y se colocó en un Becker individualmente y fueron llevados a microscopio estereoscopio para su análisis.





*Figura 6.* Proceso de lavado y centrifugación de las muestras de suelo de café; A: Muestra de suelo de café, B: Lavado de muestra del suelo de café, C: Tamizado de suelo de café, D: Recolección de muestra de suelo de café, E: Agregado de cal a la muestra de suelo, F: Maquina centrifugadora, G: Adición de solución sacarosa, H: Lavado con agua para retirar la solución scarosa.

### 3.3.2. Técnica de la licuadora con centrifuga para muestras de raíces

Las raíces infectadas colectadas en campo fueron lavadas cuidadosamente y cortadas en pedazos de aproximadamente 1 cm. (figura 7 A, B y C). Posteriormente se pesaron 10

g, para luego colocarlos a una licuadora, adicionándole una solución de hipoclorito de sodio ( $\text{NaOCl}$  = agua sanitaria en concentración de 0.5 %) (figura 7 D).

Luego se trituraron las raíces en la licuadora por dos minutos a máxima velocidad (figura 7 E y F).

Finalizado el tiempo se pasó los restos de la raíz junto con el agua, por los tamices 60, 100 y 400 Mesh, con la ayuda de una piseta se realizaron chorros fuertes de agua, se recolecto 50mL de la suspensión en un Becker (figura 7 G y H).

Posteriormente se vertió la suspensión en tubos de centrifugación (figura 7 I).



*Figura 7.* Proceso de lavado muestras de raíz de café; A: Muestra de raíz de café, B: Lavado de muestra de raíz, C: Muestra de raíz lavada, D: Agregado de cloro a la muestra, E:



Trozado de raíz, F: Licuado de raíz, G: Tamizado de raíz, H: Lavado de muestra de raíz, I: Suspensión en erlenmeyer.

### 3.3.3. Identificación morfológica de los nematodos fitoparásitos

Realizada la colecta de suelo y habiendo obtenido los nematodos de estas muestras, mediante el método de fluctuación centrífuga en solución de sacarosa: fueron puestos con solución formalina al 4% para la conservación de las mismas (figura 8 A), luego colocadas individualmente en laminas porta objetos (figura 8 B), Individuos (juveniles y adultos) de diferentes géneros de nematodos fueron analizados, con ayuda de un estereoscopio (figura 8 C) se realizó la identificación a través de las características morfológicas y morfométricas: forma del cuerpo de los individuos, forma de la cabeza, presencia o ausencia de anillos en la cutícula, tipo de estilete, forma de la terminación de la cola; también se realizó las mediciones de longitudes de cuerpo y estilete en individuos de diferente géneros a través de un microscopio de barrido (figura 8 C).

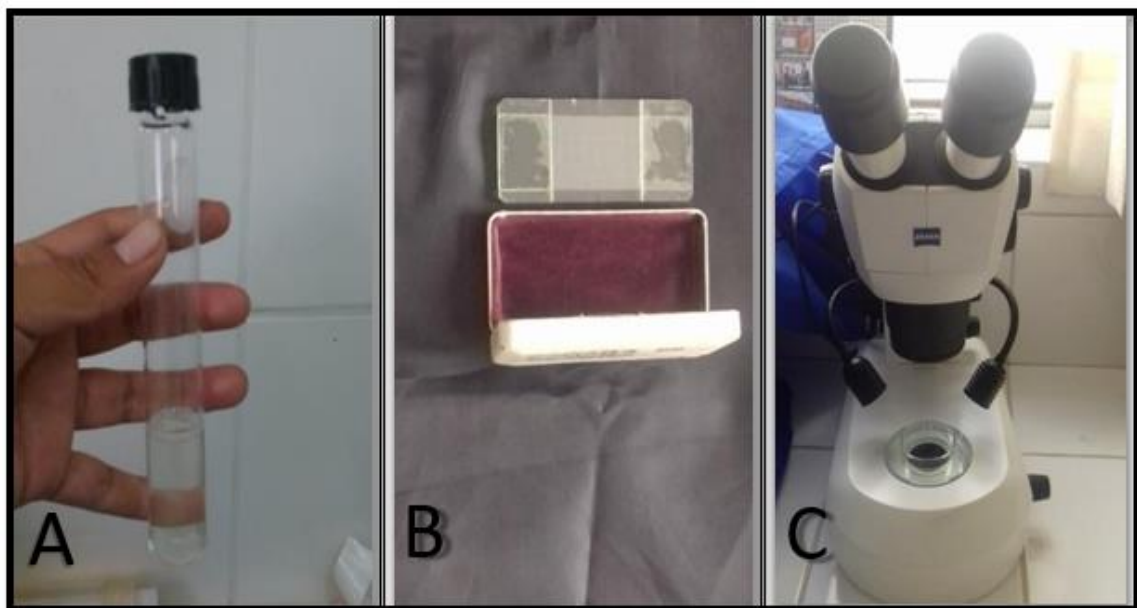


Figura 8. Conteo de nematodos; A: Nematodos colectados de las muestras de suelo de café, B: Cubre y porta objetos, C: Estereoscopio.

### 3.3.4. Caracterización bioquímica para la identificación de especies de *Meloidogyne*

1. Se tomaron 20 hembras adultas de coloración blanca lechosa provenientes de una población de *Meloidogyne* spp., estas fueron retiradas de las raíces noduladas del café del distrito de San Juan de Oro y Putina Punco con la ayuda de una aguja punta fina en el microscopio estereoscopio (figura 9 A). Las masas de huevos de las respectivas hembras se almacenaron en tubos (eppeendorf) conteniendo solución salina al 0.1%.
2. Cada hembra retirada del interior de las raíces con ayuda de estiletes se colocó en un tubo capilar manteniendo en hielo en una solución de 2-3 $\mu$ L del tampón de extracción (solución sacarosa) (figura 9 B).
3. Una vez extraídas las hembras se preparó el gel de poliacrilamida al 7% (11 x 18 cm de espesor) (figura 9 C).
4. Posteriormente las hembras fueron maceradas individualmente, reventadas con la ayuda de una jeringa y este contenido se extrajo (figura 9 D).
5. El contenido de la jeringa se colocó en papel filtro cualitativo (3 mm whatman) previamente colocados en el gel de poliacrilamida (figura 9 E).
6. Se depositó una gota de azul de bromofenol (0.01%) en el papel filtro, al inicio, medio y final del gel de poliacrilamida (figura 9F).
7. El gel se colocó en una cuba a una fuente de energía de electroforesis a 80 voltios, manteniéndose en refrigeración a 5°C (figura 9 G y H).
8. Después de la migración del gel de las gotas de bromofenol en 5 cm (4-5 horas) la potencia se apagó y el gel fue sometido a la enzima esterase, utilizando una solución de 50 mL de tampón fosfato (50 mg de Fast Blue RR sal) y 1.5 mL de  $\alpha$ -naftil acetato 1%) (figura 9 I-J).
9. Después el material fue llevado a la incubación, donde permaneció en una incubadora a 37°C durante 20 a 30 minutos, hasta que las bandas esterásticas

(oscuro) aparezca sobre el fondo claro después los gels se transfirieron a una solución que contenga 10% de ácido acético y alcohol metílico al 40% durante 30 minutos de fijación (figura 9 K).

10. Después al día siguiente este gel fué colocado en dos bandas de papel celofán y secan a temperatura ambiente.
11. Finalmente, la identificación se realizó mediante el cálculo de movilidad relativa (MR) de cada banda polimórfica donde se obtuvo *M. exigua*.

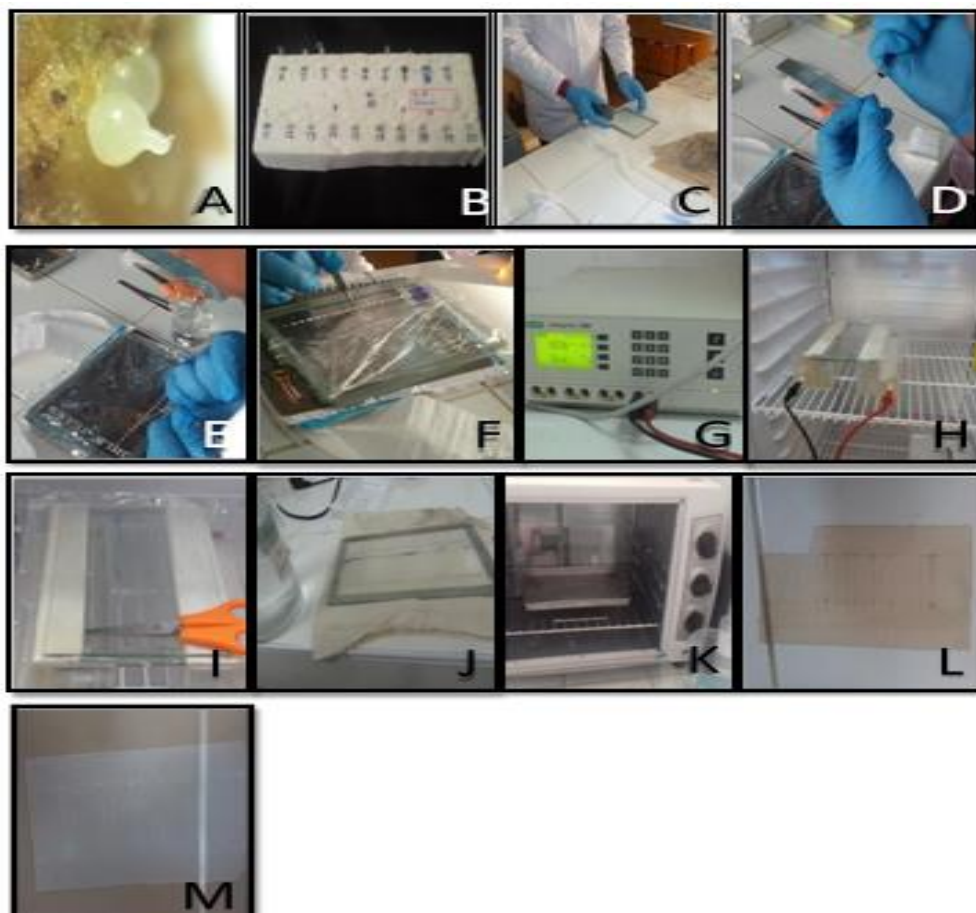
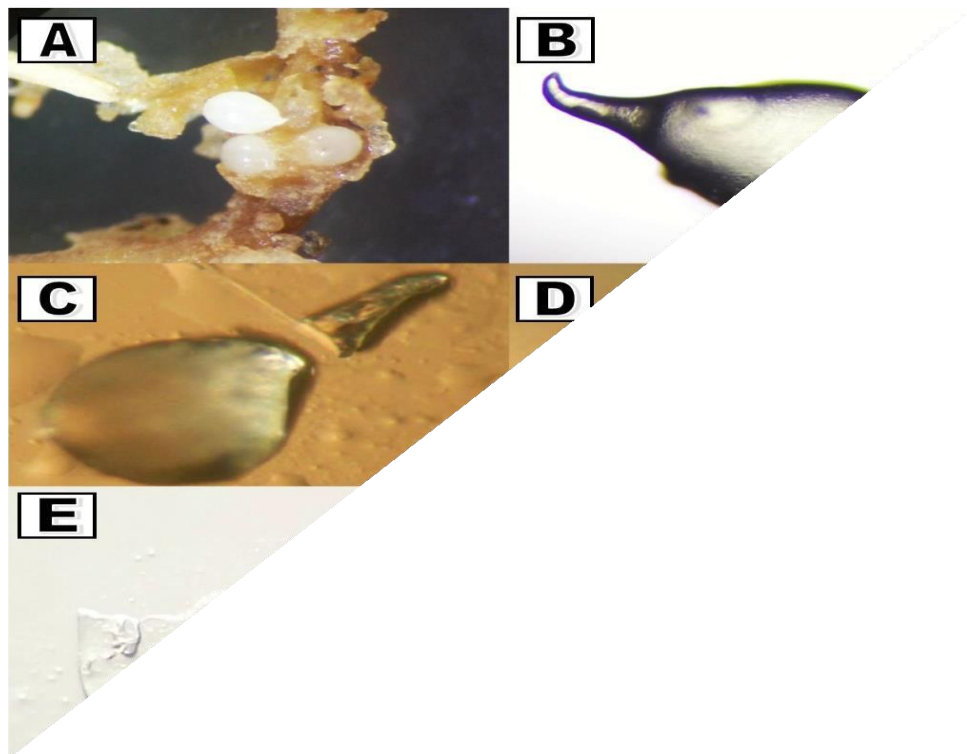


Figura 9. Descripción del proceso de electroforesis; A: Muestra de la hembra del género *Meloidogyne*, B: Conservación de la hembra del género *Meloidogyne* en tubos con hielo, C y D: Macerado de la hembra en solución de sacarosa, E, F, G, H: Corrida de la muestra. I, J: Marcación barrida de muestras, K: Revelado de muestras, Ly M: Plastificado y secado de muestras.

### 3.3.5. Extracción y montaje de hembras de *Meloidogyne spp*

1. Las muestras de raíces fueron lavadas cuidadosamente sobre una bandeja.
2. Con la ayuda de estiletes (agujas) se abrió cuidadosamente el tejido en la parte de la agalla tratando de no dañar las hembras, las cuales fueron transferidas a ácido láctico al 45%, donde se dejaron por 24 horas. (Figura 10 A).
3. con la ayuda del microscopio y un bisturí se realizó un corte a la altura del cuello de la hembra, para retirar el contenido interno del huevo, luego se realizaron cortes a la mitad del cuerpo y se realizaron cortes hasta obtener solo la región perineal en forma rectangular (Figura 10 C).
4. Posteriormente se realizaron los montajes colocando los cortes perineales en un portaobjeto conteniendo una micro gota de glicerina, orientando la vulva hacia la parte superior y la parte interior de la cubierta del cuerpo hacia abajo (Figura 10 E).
5. Finalmente se colocó un cubreobjetos y se selló con esmalte de uñas transparente etiquetando cada cubreobjetos.



*Figura 10.* Extracción de espécimen hembra de *Meloidogyne exigua*. y corte del patrón perineal, para su identificación morfológica A. Remoción de hembras y fragmentos de raíz; B. hembra madura de *Meloidogyne exigua* C: Corte de la cutícula a la altura del cuello del cuerpo de la hembra, D: Remoción del tejido corporal, E-F: Corte de la cutícula alrededor del patrón perineal.

### 3.4. Análisis de datos y categorías

#### 3.4.1. Condiciones meteorológicas del ámbito de investigación

La información que se tiene de agosto hasta diciembre del año 2016, proveída por el “SENAMHI de la estación CO. 110043 Tambopata y la estación CO 110048 San Gabán ubicada en el Departamento de Puno, Provincia de Sandia, Distrito de San Juan del Oro.

Las temperaturas entre los meses de enero a diciembre del 2016 fluctuaron de 20.0 a 23.5°C, con una precipitación que vario desde 31.6 hasta 280.0 mm, (Figura 11) mientras la humedad fue alta en todos los meses variando solo de 95 a 98%. El recojo de las muestras de suelo se realizaron en los meses de noviembre y diciembre donde se presentó

una temperatura de 22.75°C y una precipitación de 105.4 mm con humedad del 97%. Sin embargo, Duran, F. (2010), indica que la T° óptima para el cultivo del café arábico se encuentra entre 19 y 21.5°C.

Por otro lado, ICAFE (1998), menciona que los rangos de temperatura media anual señalados como óptimos para el cultivo, están entre 13 a 27°C, si las temperaturas promedio están por debajo de 13°C. el crecimiento se detiene y los cafetos muestran su estancamiento a temperaturas superiores al límite aceleran el crecimiento vegetativo, en tanto que la floración y fructificación se reduce.

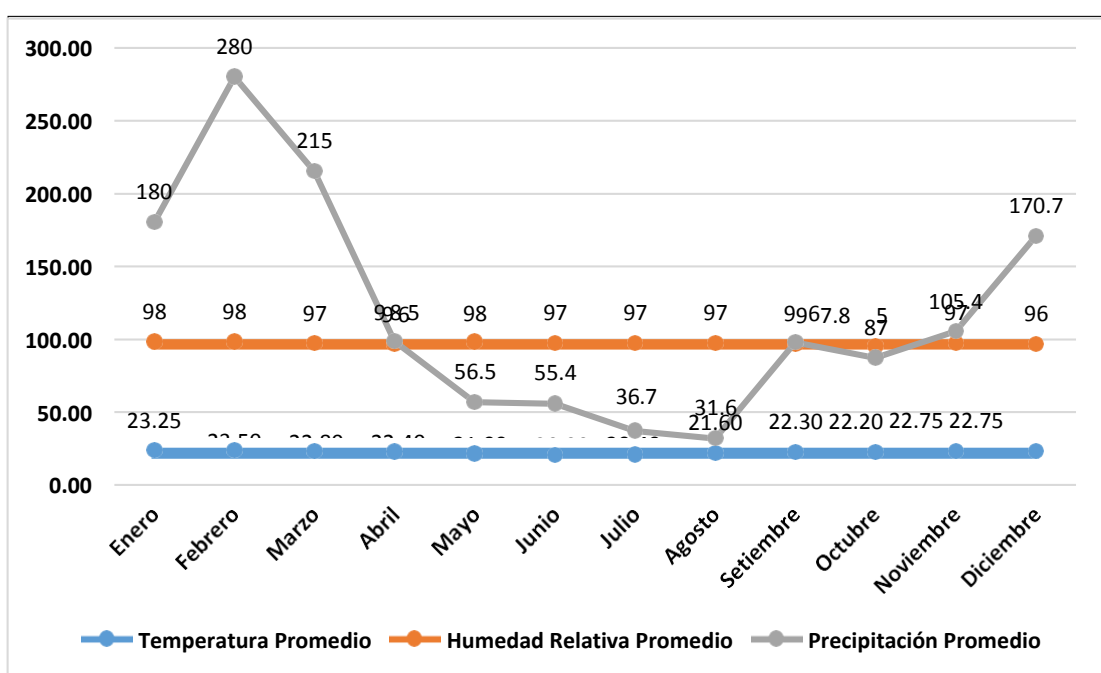


Figura 11. Histograma de datos meteorológicos de la campaña agrícola 2016 del distrito de San Juan del Oro.

Fuente: SENAMHI (2016).

Entre los meses de enero a setiembre el distrito de San Gabán presento una Temperatura promedio de 22.530 C, el promedio de la precipitación total es de 253.59 mm mientras el promedio de Humedad fue de 97.53%. (Tabla 3 del Anexo)

Las temperaturas entre los meses de agosto a diciembre del 2016 fluctuaron de 20.05 a 24.6 °C, con una precipitación que vario desde 121.0 hasta 398.0 mm, (Figura 12) mientras la humedad fue alta en todos los meses variando solo de 96 a 98.5%. El recojo de las muestras de suelo se realizaron en los meses de noviembre y diciembre donde se presentó una temperatura de 24.35°C y una precipitación de 345.5 mm con humedad del 98%, lo que nos demuestra que las condiciones meteorológicas estuvieron dentro de los promedios óptimos que señala ICAFE (1998).

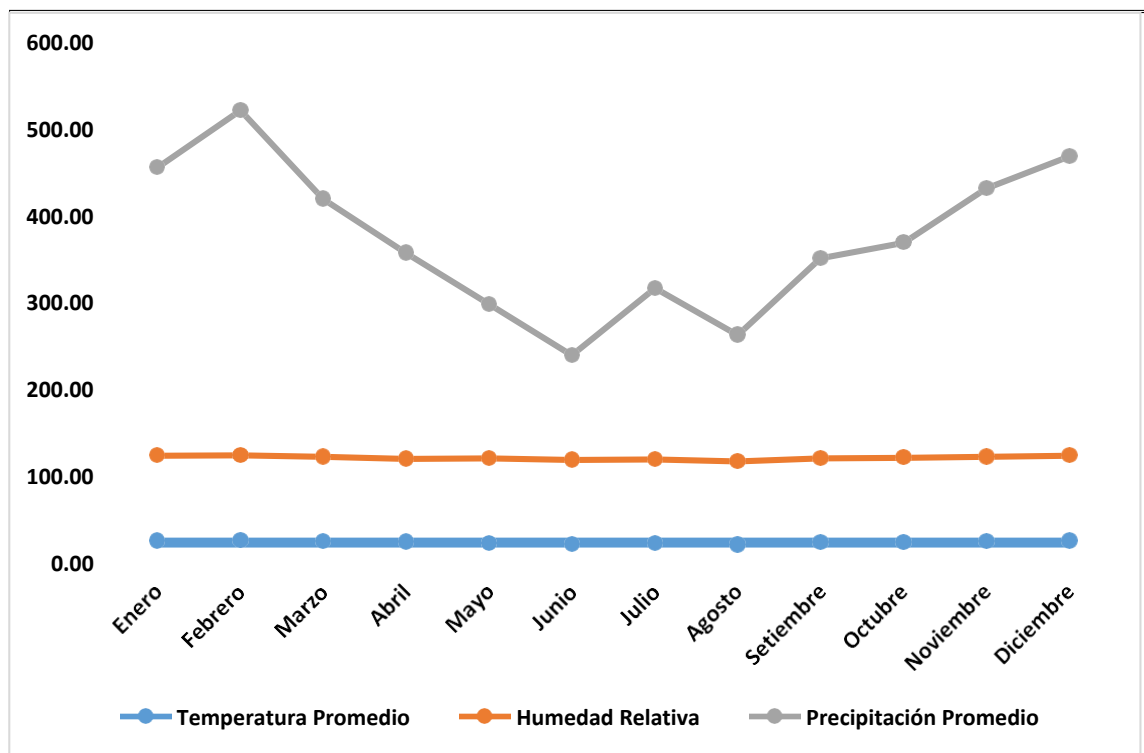


Figura 12. Histograma de datos meteorológicos de la campaña agrícola 2016 del distrito de San Gabán.

Fuente: SENAMHI (2016).



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Características de géneros de nematodos fitoparásitos en las zonas cafetaleras de puno

Para el primer objetivo planteado en el presente trabajo de investigación, donde a partir de la colecta de muestras de suelo, que fueron procesados por los métodos anteriormente descritos; se encontraron en total 10 géneros de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de café (*Coffea arabica*) en tres distritos de la región selvática de Puno estos son: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Dorylaimus*, *Tylenchus*, *Hemicycliophora*, *Mononchus* y *nematodos* de Vida Libre, los mismos que a continuación son caracterizados:

##### 4.1.1. Caracterización del género *Meloidogyne*

Individuos del estado juvenil extraídos de muestras de suelo se observaron con las siguientes características: parte anterior redondeada como en punta roma y la porción posterior aguzada, con cuerpo vermiforme de 383.50  $\mu\text{m}$  de longitud total (Figura 13 A) y diámetro de 13.5  $\mu\text{m}$ , y estilete de 13.138  $\mu\text{m}$  (figura 13 B), resultados que son comparados con Flores (2017). quien encontró individuos del estado juvenil con la parte anterior conoide a redondeada con terminación estrecha y redondeada, con una longitud promedio del cuerpo de 364.48  $\mu\text{m}$ , las diferencias respecto a la longitud del cuerpo del nematodo podría estar en relación con el ámbito de muestreo pues este autor realizo su investigación en la zona altiplánica de la región Puno donde las temperaturas varían de



-0 °C a 17 °C siendo climas más fríos que el ámbito de estudio de esta investigación ya que el distrito de San Juan del Oro presenta temperaturas que varían de 13 a 25 °C entonces los individuos se desarrollan más en climas cálidos. Por otro lado, el resultado obtenido en esta investigación se acerca más a los de Araya (2008) quien indica que en cuatro poblaciones evaluadas en Costa Rica la longitud promedio del cuerpo vario desde 371 a 392  $\mu\text{m}$ , para larvas del segundo estadio de *Meloidogyne exigua*; ubicando entre estos rangos los resultados de este trabajo, la aproximación de las longitudes podría ser porque este autor también realizo su evaluación en cultivo de café; así mismo Ferreira (2010) detalla en su investigación que la longitud de cuerpo para *Meloidogyne incógnita* presento un rango de 342-420  $\mu\text{m}$ , siendo longitudes un tanto mayores, estas diferencias podrían ser por variabilidad de las especies identificadas. Por otro lado, Monzón (2010), realizó la evaluación del “nematodo del nódulo de la raíz” en el cultivo del café en San Juan de Oro (1200-1800 msnm); determinó a través de evaluaciones morfológicas que el nematodo que ataca el cultivo, es la especie *M. incógnita*, lo que no coincide con la presente investigación; además, en esta investigación se observó el estilete con un diámetro de 11.2  $\mu\text{m}$ , con nódulos prominentes y redondeados y un disco labial pequeño y redondeado. Longitud que igualmente difieren con Flores (2017), pues este autor encontró que la longitud promedio del estilete es de 14.123  $\mu\text{m}$  siendo mayores a la longitud de estilete de nuestros individuos, pero estando entre los rangos que encontró Escalona (2006) que es de 10-12  $\mu\text{m}$ , así también Flores (2017) encontró individuos con una longitud de estilete de 9.1 a 10.2  $\mu\text{m}$  siendo muy próximo a nuestros resultados. Las diferencias con el primer autor podría ser más una característica de *M. Hapla* que es la especie que identifico en el cultivo de papa en su investigación.

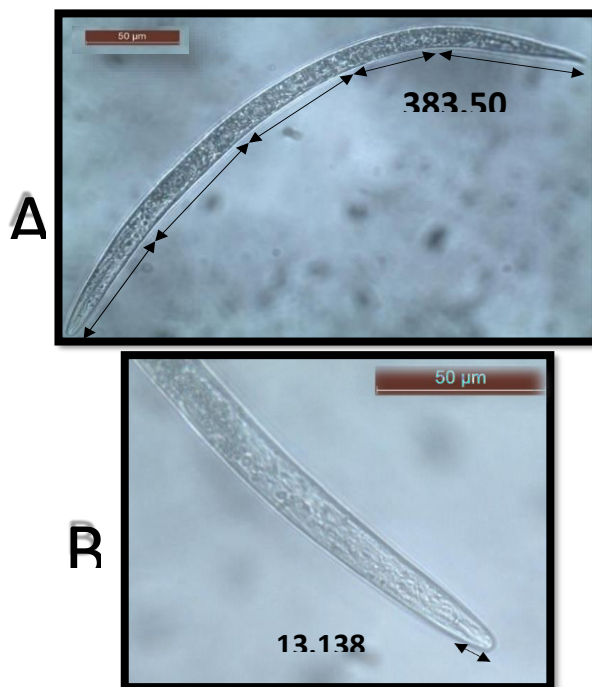


Figura 13. Género *Meloidogyne*: A longitud total de cuerpo y B Longitud del estilete

#### 4.1.2. Caracterización del género *Pratylenchus*

Los individuos extraídos y analizados del cultivo de café de la región Puno, se observó el cuerpo vermiforme cilindroide con la presencia de una vulva casi en la terminación de la cola, con una longitud promedio del cuerpo de 682.555  $\mu\text{m}$  (figura 14), con una cabeza con la región labial baja y con un estilete notorio, la longitud del estilete de 18.279  $\mu\text{m}$  (figura 14), la cola con una forma redondeada.

Las características morfológicas mencionadas en estado vermiforme, se contrasta con lo mencionado por Mai y Mullin (1996) y Agrios (2011) quienes indican que dichas características morfológicas pertenecen al género *Pratylenchus*. En referencia a las características morfométricas, han sido comparadas con Gonzaga (2006) quien indica que las longitudes del cuerpo en todos sus estadios varían de 580 a 780  $\mu\text{m}$  (figura 14) en la cual se encontrarían las muestras analizadas y la longitud del estilete varia de 14 a 17  $\mu\text{m}$ , siendo el estilete medido más largo de lo descrito para el género *Pratylenchus*.

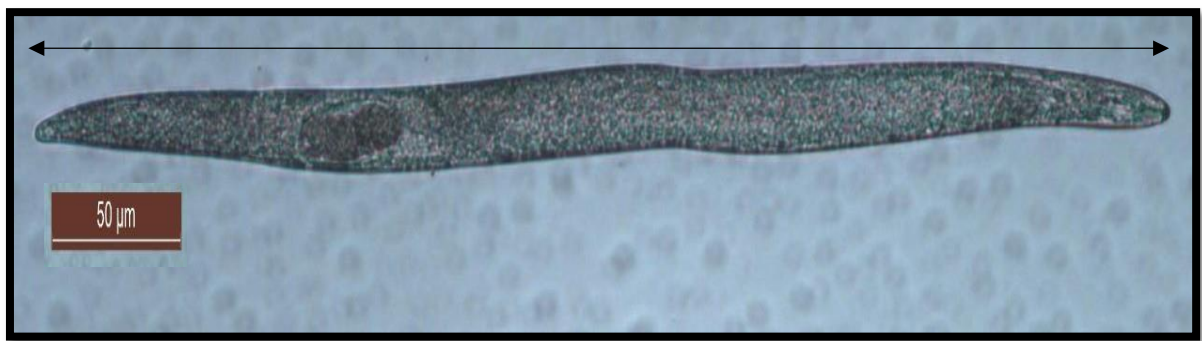


Figura 14. Género *Pratylenchus*; longitud total de cuerpo.



Figura 15. Género *Pratylenchus*; longitud del estilete.

#### 4.1.3. Caracterización del género *Helicotylenchus*

Individuos extraídos de las muestras de suelo de café de la región Puno, presentaron una estructura cefálica bien desarrollada y la región de cabeza alta, cónica y redondeada; presencia de vulva en la parte media del cuerpo, también se determinó que tiene un estilete robusto donde sus bulbos medios son redondeados y notorios (figura 16), también se determinó que la longitud promedio del cuerpo es 549.265  $\mu\text{m}$  con una cola en terminación curvada y una longitud de estilete de 20.597  $\mu\text{m}$ . (figura 17) Estas características mencionadas se verifican con lo mencionado por Main y Mullin (1996) quienes refieren que la cabeza es cónica y redondeada, lo cual es una característica fundamental para la evaluación morfológica del género *Helicotylenchus*, mientras que Ferris (1999) menciona que la terminación de la cola es curvada; lo cual confirma las características del género *Helicotylenchus*.



Figura 16. Género *Helicotylenchus*; longitud del cuerpo de la hembra.

Schreck *et al.* (2010) indica que la longitud del cuerpo del género *Helicotylenchus* varia de 150 a 890 µm en hembras y 530 a 700 µm en machos; la longitud del estilete puede variar de 22 a 26 µm en hembras y de 20 a 23 µm en machos; validando los datos recolectados en la imagen (figura 17).

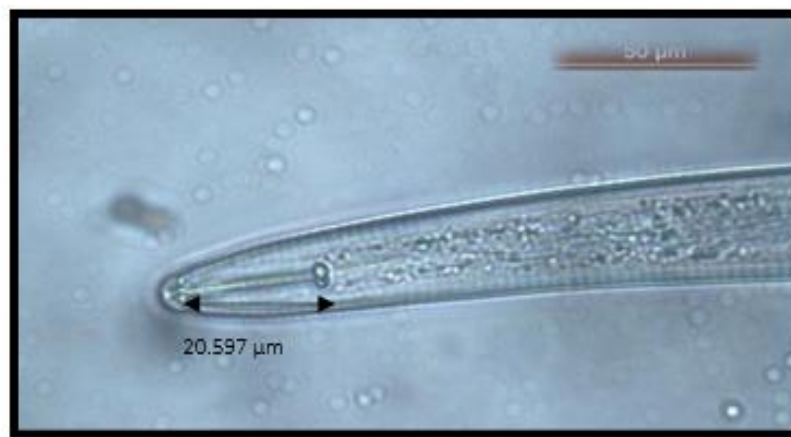


Figura 17. Longitud de estilete del género *Helicotylenchus*.

#### 4.1.4. Caracterización del género *Mesocriconema*

Los individuos (nematodos) extraídos y analizados del cultivo de café de la región Puno, presentaron una cutícula gruesa e intensamente anillada y de cuerpo corto, con una longitud máxima de cuerpo de 516.864 µm (figura 18) una longitud mínima de cuerpo de 402.292 µm y la longitud de estilete vario de 74.28 µm a 77.163 µm (figura 19); estas características morfológicas fueron comparadas con lo mencionado por Ferris (1999),

quien refiere que el género *Mesocriconema* son nematodos de cutícula gruesa y de cuerpo corto, robusto e intensamente anillado, confirmando la característica y la presencia de este género en el cultivo de café en la región de Puno.

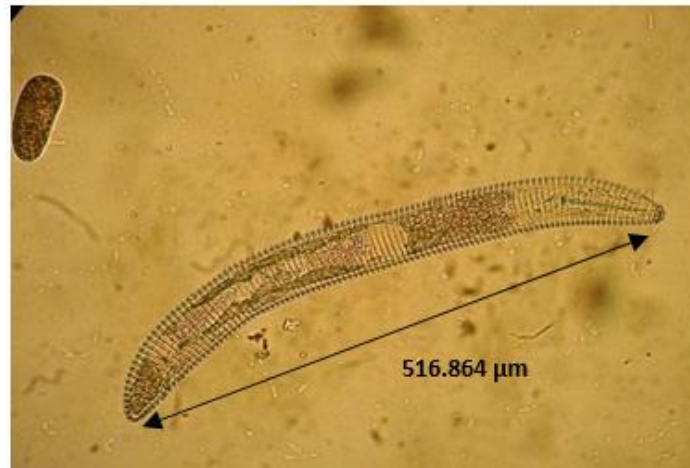


Figura 18. Género *Mesocriconema*; longitud total de cuerpo.

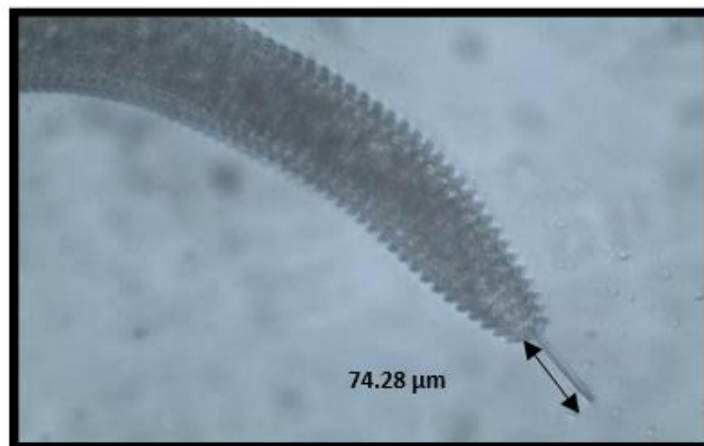


Figura 19. Género *Mesocriconema*; longitud de estilete.

Las características morfométricas evaluadas se compararon con lo mencionado por Tihohod (2000) que refiere que la longitud del estilete varía de 59 a 64  $\mu\text{m}$ , que es menor a la longitud del estilete máxima y mínima, encontradas en las muestras de suelo y según Perry & Moens (2014) mencionan que la longitud de cuerpo varía de 200 a 1000  $\mu\text{m}$ ; esta encaja con las longitudes de cuerpo encontradas para este género en las muestras de suelo de la región Puno.

#### 4.1.5. Caracterización del género *Dorylaimus*

Los individuos extraídos y analizados del cultivo de café de la región Puno, presentaron un cuerpo bastante largo, en la terminación de la cola es ligeramente curvada (figura 20); con un estilete (odontoestilete), características que son similares a las descritas por Mulvey y Anerson (1979), quienes refieren que en machos el extremo superior es ventralmente más curvado que en hembras y la longitud del cuerpo es de 1,145.5 a 2,016  $\mu\text{m}$  y la longitud del estilete puede variar de 174 a 210  $\mu\text{m}$  mientras que en la especie más pequeña la longitud del cuerpo puede variar de 2,200  $\mu\text{m}$  a más.

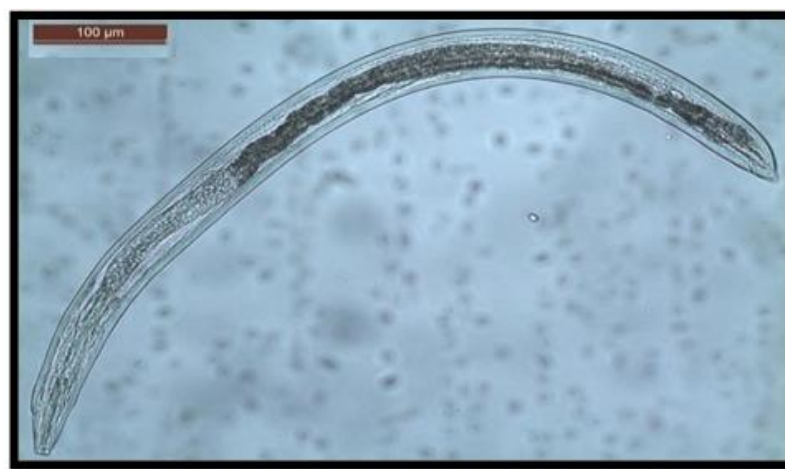


Figura 20. Género *Dorylaimus*.

#### 4.1.6. Caracterización del género *Xiphinema*

Los individuos colectados y analizados, en las muestras de suelo de la región Puno; presentaron un cuerpo vermiforme, con una longitud de cuerpo y longitud de estilete bastante largo (figura 21 B), las características morfológicas son coincidentes con lo citado por Ferris (1999) que indica que el cuerpo es bastante largo con un odontoestilete y una longitud de estilete de 150  $\mu\text{m}$  o más (figura 21 B) son características propias del género *Xiphinema*.

Así mismo Vergel *et al.* (2000) indica que son nematodos de cuerpo largo de 1.5 a 5 mm, con odontoestilete, son ectoparásitos cuyos estadios están presentes en el suelo y son vectores de virus fitopatógenicos, con lo que se confirma la caracterización y la presencia de género *Xiphinema* en la región Puno.



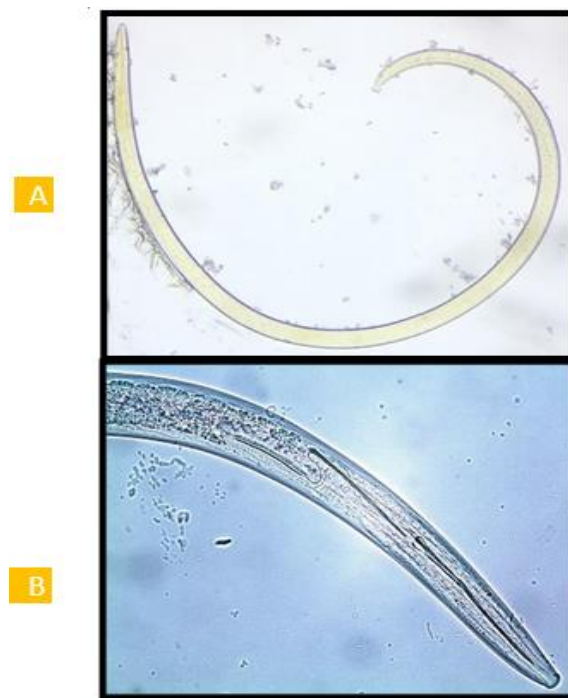


Figura 21. Género *Xiphinema*; A: vista del cuerpo y B: Vista del estilete.

#### 4.1.7. Caracterización del género *Tylenchus*

Este nematodo es pequeño o de tamaño medio (0,4 a 1,3 mm) ventralmente curvado durante la relajación, cutícula moderadamente gruesa (1 a 2  $\mu\text{m}$ ) campos laterales distintamente anillados, estilete de 8 a 21  $\mu\text{m}$  de largo y una longitud de cuerpo de 13 a 15  $\mu\text{m}$  de largo (figura 22); sin embargo (Siddiqui, 2000); los clasifica como nematodos de tamaños muy pequeños (menores a 0.5 mm), con cutícula tilencolaimoidea con un tamaño corporal que varía de 0.70 a 0.85  $\mu\text{m}$  y un estilete que varía de 20 a 47  $\mu\text{m}$ .



Figura 22. género *Tylenchus*

#### 4.1.8. Caracterización del género *Hemicycliophora*

El cuerpo de las hembras está cubierto por dos cutículas la externa se asemeja a una vaina y protege a la cutícula interna; las hembras tienen una longitud de 0.2 a 2 mm de longitud, poseen un estilete muy largo de 80 a 120  $\mu\text{m}$  y bien desarrollado. Tienen un ovario y una vulva que se encuentran en la parte posterior del cuerpo. Este género es un ectoparásito que al alimentarse de las plantas es capaz de inducir agallas pequeñas en la raíz y estimular la formación de raíces laterales.

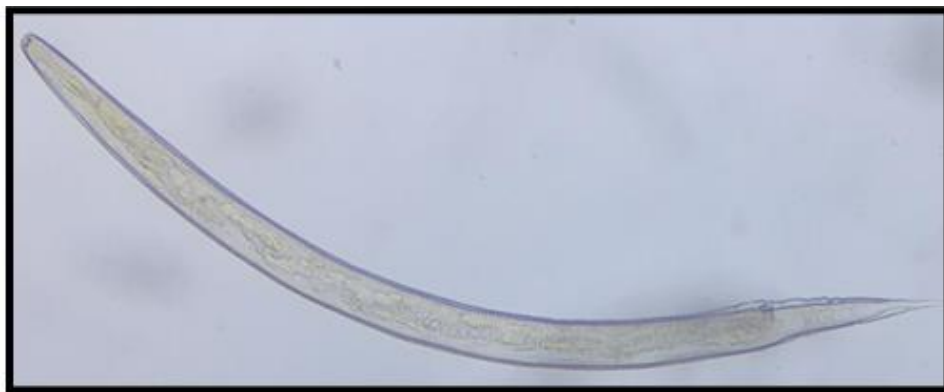


Figura 23. Género *Hemicycliophora*.

#### 4.1.9. Caracterización del género *Mononchus* (nematodo de vida libre)

El género *mononchus*, se caracteriza por presentar una estructura en la cavidad bucal con un robusto diente dorsal situado en su tercio anterior en forma de diente y con el ápice dirigido. Lo que se puede corroborar con Sidiqui (2000), quien indica que el



cuerpo más largo oscila entre 5 a 6 mm y el más corto de 0.9 a 2.5 mm, la cavidad bucal varía de 19 a 50  $\mu\text{m}$ .



Figura 24. Género *Mononchus*.

#### 4.1.10. Otros nematodos de vida libre

Los individuos extraídos y analizados en los cafetales de la región Puno, se han observado nematodos con longitudes de cuerpo bastante largas, de forma cilíndrica cutícula gruesa y con presencia de odontoestilete (figura 25). Estas características morfológicas son coincidentes con las mencionada por Ruppert y Barnes (1996) quienes señalan que la mayoría de nematodos de vida libre no presentan estilete y miden aproximadamente de 1000  $\mu\text{m}$  a más, también Tihohod (2000) indica, que presentan una cavidad bucal esclerotizada con una estoma cilíndrica y en algunos géneros presentan un odontoforo; lo cual confirma la presencia de nematodos de vida libre en el cultivo de café de la región Puno.

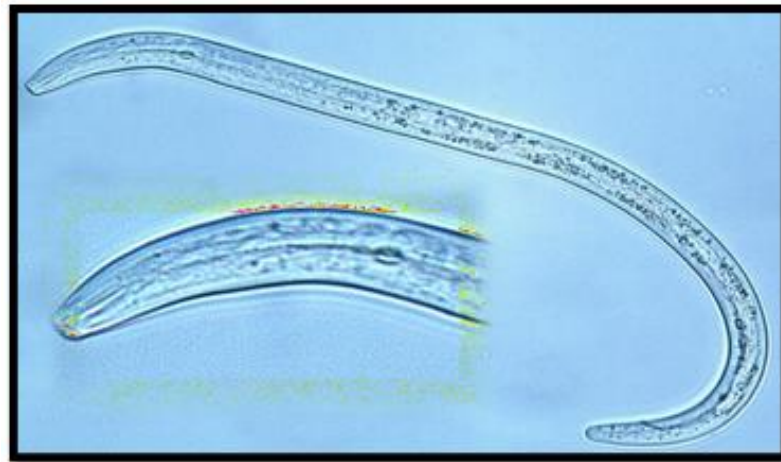


Figura 25. Género de vida libre.

## 4.2. Identificación de especies del género *Meloidogyne*

### 4.2.1. Identificación morfológica y morfométrica

Se observaron hembras con una coloración blanca lechosa como una perla y también blanco translucido dentro de raíces de café (figura 26) que presentaron una longitud del cuerpo de 428.9  $\mu\text{m}$ , con un cuello muy definido y alargado un cuerpo esferoidal con un diámetro de 320.7  $\mu\text{m}$ , (figura 26A) se observó también el estilete con 11.5  $\mu\text{m}$ , además los individuos presentaron una vulva de 16.9  $\mu\text{m}$  en forma de labios. Medidas que son contrastadas con Villain *et al.* (2013) quien menciona que la hembra crece rápidamente hasta alcanzar un largo que varía de 280 a 450  $\mu\text{m}$  y un ancho de 300 a 600  $\mu\text{m}$  ubicando nuestras longitudes dentro de estos rangos; además Guzmán (2012) ratifica que el Género *Meloidogyne* tiene un marcado dimorfismo sexual en la cual las hembras adultas adoptan la forma piriforme a esférico, siendo esta la forma en que encontramos a los individuos en esta investigación. (figura 26 A) Pero el género *Meloidogyne spp* no es el único género que presenta dimorfismo sexual si no también los géneros *Globodera spp.*, *Rotylenchulus spp.* y *Tylenchulus spp.*; adquieren formas globosas, piriformes o reniformes (Godoy *et al.*, 2003); siendo el cuello alargado una característica propia del género *Meloidogyne spp*. Características que confirman que los individuos observados en este trabajo pertenecen a este género.

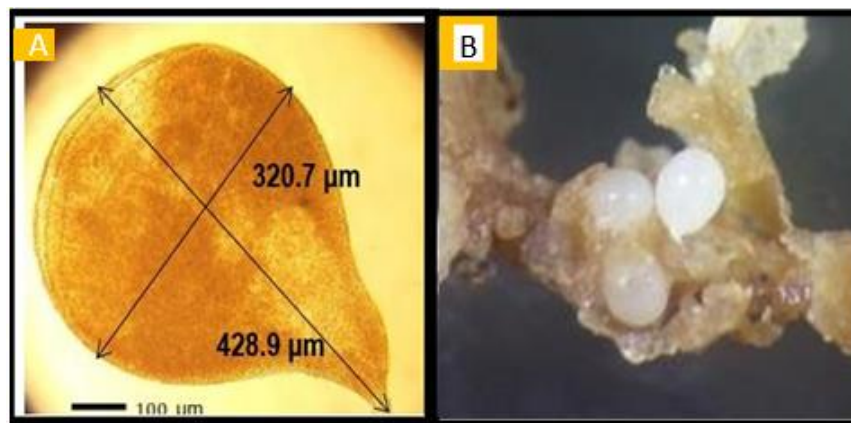


Figura 26. Biometría de la hembra adulta de *Meloidogyne exigua*.  
A) Longitud y diámetro de la hembra B) hembra dentro de la raíz del cafeto.

#### 4.2.2. Identificación de la especie del género *Meloidogyne* por medio del patrón perineal

La identificación de especímenes del género *Meloidogyne* fue a través de la evolución de los montajes realizados con las características del patrón perineal propio de cortes en la región posterior del cuerpo donde se ubica la vulva de las hembras extraídas de las muestras de raíces del sector Challohuma y Yanamayo.

Observando características de arco dorsal ligeramente curvada con estriaciones lisas o ligeramente onduladas formando un cuadrado, no se observa estrías en la parte de la vulva, así como tampoco es visible las líneas laterales, presenta línea gruesas y espaciadas algunas bifurcadas, las líneas son quebradas en la parte por encima del ano, y se observa el ano muy visible en la parte superior a la vulva, pero la punta de la cola no se llega a observar, presentan forma esférica. Determinando que la especie de *Meloidogyne* a quien corresponde las características del patrón perineal es a *M. exigua*. (Figura 27 M-K) Resultados que son contrastados con Duran (2010), quien refiere que esta especie presenta forma redondeada con un arco poco elevado y cuadrado, con líneas o estrías gruesas y espaciadas las estrías cercanas al ano son gruesas y dobladas donde no se llega a observar claramente la formación del campo lateral, además menciona que el patrón perineal de *Meloidogyne exigua* se caracteriza por estriaciones transversales en la región latero anal. Confirmando nuestros resultados.

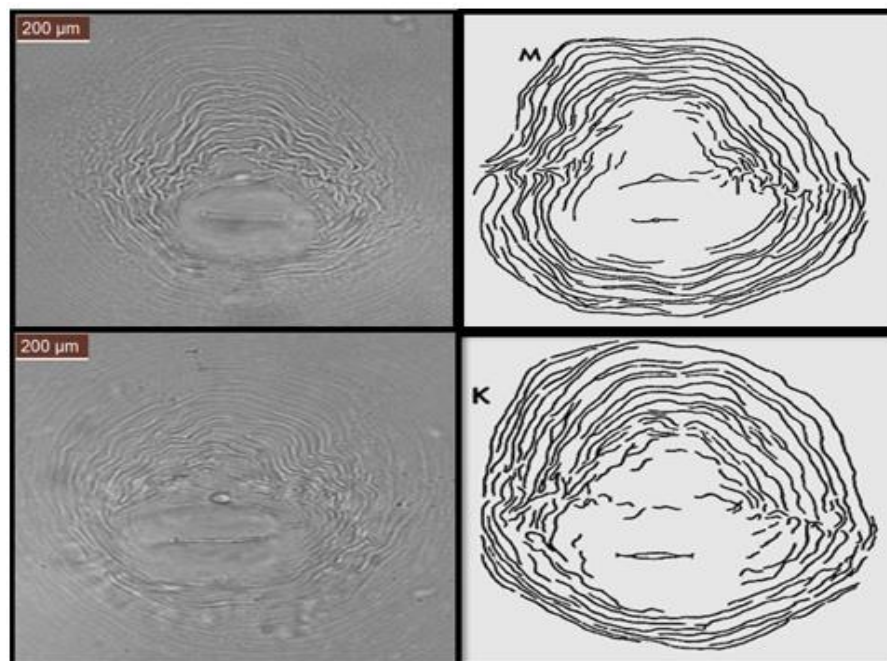


Figura 27. Patrón perineal de *Meloidogyne exigua*. M y K comparación de figuras para la identificación del patrón perineal de *M. exigua*.

Por otro lado, la figura 27 también es contrastado con lo referido por Chitwood (2009); Lordello y Zamith (1958), es la forma redondeada a hexagonal que presentan estos patrones. El arco dorsal varía desde bajo a redondeado, un poco elevado y cuadrado. Las líneas o estrias son gruesas y ampliamente espaciadas. El campo lateral en esta especie no se llega a observar claramente; algunas de las estrias que se encuentran cerca al ano son curvadas y dobladas que también llegan a cubrir la parte del ano. Los fasmidios se encuentran espaciados; sin embargo, existe una diferencia con la investigación de Monzón (2010), quien realizó la evaluación del “nematodo del nódulo de la raíz” en el cultivo del café en San Juan de Oro (1200-1800 msnm); determinó a través de evaluaciones morfológicas que el nematodo que ataca el cultivo, es la especie *M. incógnita*.

#### 4.2.3. Identificación de la especie del género *Meloidogyne* por medio del análisis de isoenzimas en el cultivo de café

La identificación del patrón perineal es una identificación clásica para el género *Meloidogyne* según lo referido por Hunt & Handoo (2009), este método común mente usado no siempre es exacto por la variabilidad de las características que se presentan de especie a especie. Por lo tanto en este trabajo también se realizó la identificación isoenzimática de las poblaciones presentes en los once sectores evaluados, que se realizó en geles de poliacrilamida con enzima esterase, la posición de las bandas que mostraron nuestras muestras fueron comparadas al padrón *Meloidogyne Javanica* esterase J3, teniendo como resultado dos fenotipos esterase, la población de *M. exigua* de una banda fenotipo esterase E1 (Rm 1,6) en 20% de las muestras (Figura 28 A-B) y de dos bandas fenotipo esterase E2 (Rm 1.6 a 1,9) en 80% de las muestras. Lo que nos demuestra que a nivel de la especie *M. exigua* se ha encontrado 02 razas y/o fenotipos.

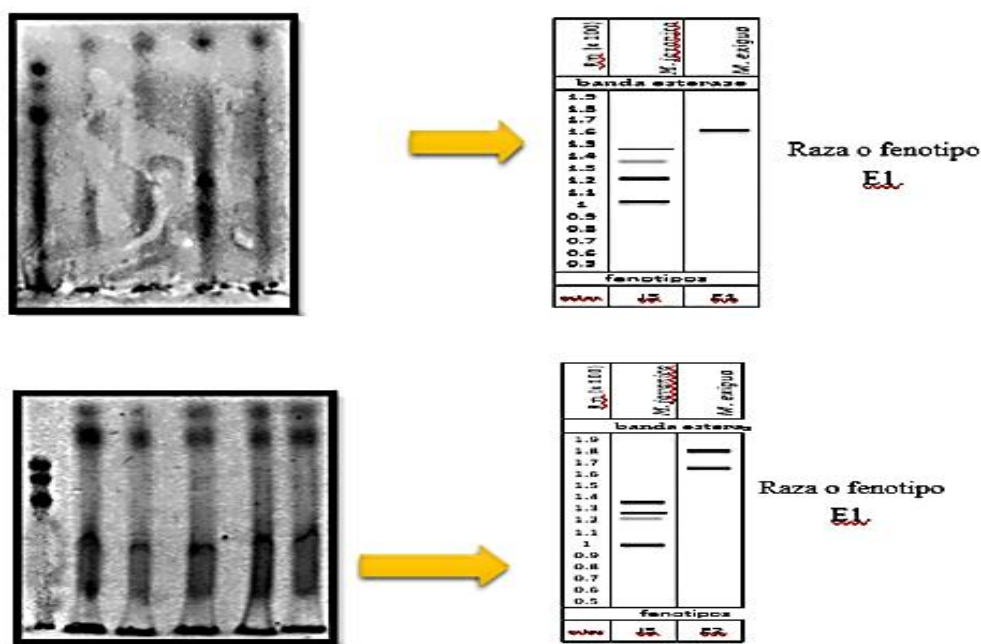


Figura 28. B Identificación de *M. exigua* E2, a través de isoenzimas en gel de poliacrilamida.

Esbenshade & Triantaphyllou (1985) y Carneiro *et al.* (2000), refieren que el fenotipo esterese típico para *M. exigua*, es VF1 (Rm. 1,60), el cual fue encontrado en el 20% de las muestras evaluadas. Así mismo Oliveira *et al.* (2005), identificaron a *M. exigua* (VF1), en 22.8% y encontró que la mayoría de la población exhibió un fenotipo de dos bandas (VF2), en 77,2% resultados muy parecidos a los obtenidos en este trabajo.

Oliveira *et al.* (2005), concluye que *Meloidogyne exigua* es la segunda especie más distribuida seguida de *M. paranaensis* siendo una de las principales especies de nematodos de agallas en café, encontrando en cinco de las 18 muestras analizadas a *M. exigua* con fenotipo esterese E1.

#### 4.3. Estimación de la fluctuación poblacional del género *Meloidogyne* y otros géneros en el cultivo de café.

##### 4.3.1. Frecuencia del género *Meloidogyne* en el cultivo de café en la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; donde se observa que el género *Meloidogyne*, es el más abundante entre los 10 géneros descritos y también el más perjudicial para los cultivos de café.

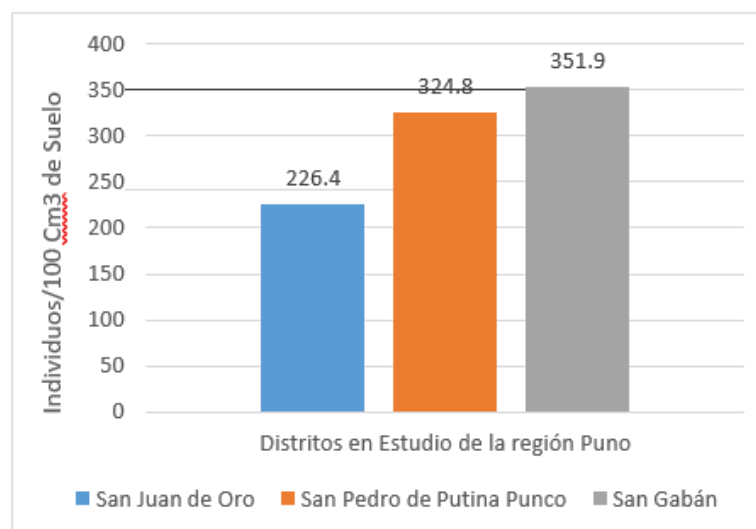


Figura 29. Frecuencia del género *Meloidogyne* en el cultivo de café; en la región Puno.



Los resultados de análisis de suelo sugieren (figura 29), que el género *Meloidogyne* fue el más común en estos suelos, se registró que la más alta densidad promedio fue de 351.9 (39%) en 100 cm<sup>3</sup> de suelo para San Gabán, seguido de San Pedro de Putina Punco con 324 (36 %) en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente en San Juan de Oro con 226.4 (25%) en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y este último es seguido por los nematodos de vida libre (Tabla 08 del Anexo) en altitudes de 841 y 1416 msnm.

Estos resultados se pueden explicar debido a que el género *Meloidogyne* se identifica como endoparásito sedentario, por lo que debe establecer un sitio de alimentación (en este caso el cultivo de café específicamente; el cilindro vascular de la raíz) y puede permanecer indefinidamente en un cultivo, como es de café; ya que los cultivos evaluados tienen entre 2 a 12 años de edad, desde que fueron plantados.

Los cultivos evaluados carecían de medidas de control para este nematodo y los dueños de finca desconocían la existencia de este nematodo alegando los problemas a otras plagas y enfermedades. Otros programas que auspician la producción de café con nuevas plantaciones de café, también desconocen la existencia de este nematodo; y continúan la siembra de nuevos plántones sin realizar un control en los suelos infectados.

#### **4.3.2. Frecuencia del género *Pratylenchus* en el cultivo de café de la región Puno**

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; en donde se observa la presencia del género *Pratylenchus*, (Tabla 08 del Anexo).

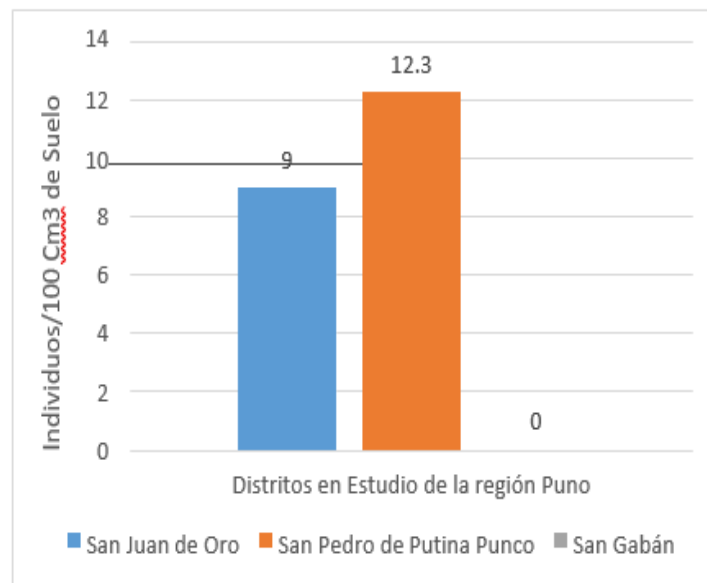


Figura 30. Frecuencia del género *Pratylenchus* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que no existe presencia del género *Pratylenchus* en cafetales en San Gabán; mientras que para San Juan de Oro tiene una densidad promedio de 9 (42%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y San Pedro de Putina Punco 12.3 (58%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo; por lo cual es uno de los géneros con densidades poblacional más baja y no representan un problema para el cultivo de café, porque son superados por los nematodos de vida libre. Estos resultados se pueden justificar debido a que el género *Pratylenchus* se caracteriza por ser endoparásito migratorio además es capaz de sobrevivir en suelo por más de seis meses (Suarez y Rosales, 2004).

#### 4.3.3. Frecuencia del género *Helicotylenchus* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrifuga; en donde se observa que el género *Helicotylenchus*, es el tercero más abundante entre los 10 géneros descritos (figura 31).



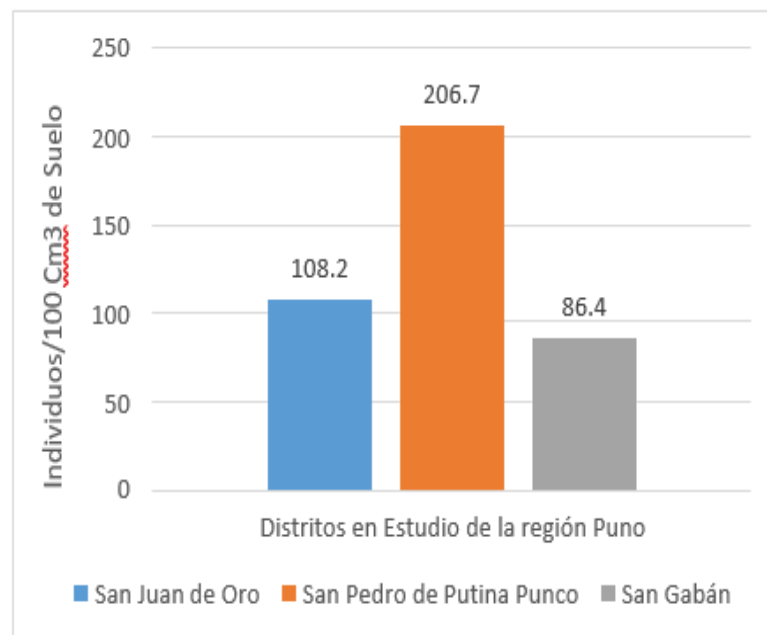


Figura 31. Frecuencia del género *Helicotylenchus* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados de análisis de suelo (figura 31), muestran que el género *Helicotylenchus* fue más abundante en San Pedro de Putina Punco con una densidad promedio de 206.7 (52%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido de 108.2 (27 %) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo para San Juan de Oro, la menor población fue en San Gabán con 86.4 (22%) individuos por cm<sup>3</sup> (tabla 12 del Anexo); cabe resaltar que todas la poblaciones del género *Helicotylenchus* fueron superadas por los nematodos de vida de libre , estos datos fueron registrados en altitudes de 841 y 1416 msnm.

Los resultados obtenidos se pueden explicar debido a que este género se identifica como ectoparásito, que puede comportarse como endoparásito migratorio; y este género completa su ciclo de vida en raíz (los síntomas ocasionados son parecidos a los causados por los nematodos fitoparasitos) y el síntoma más notorio es que puede causar necrosis en el cultivo de café (Suárez y Rosales, 2004).

Los cultivos evaluados carecían de medidas de control para este nematodo y los dueños del cafetal desconocían la existencia de este nematodo. Otros programas que auspician la producción de café, también desconocen de la existencia de este nematodo; ya que al

sembrar los primeros plántones no realizan un control en los suelos infectados y no proponen un control orgánico para el control de este nematodo.

#### 4.3.4. Frecuencia del género *Mesocriconema* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; en donde se observa que el género *Mesocriconema*, tiene una población considerable entre los 10 géneros descritos.

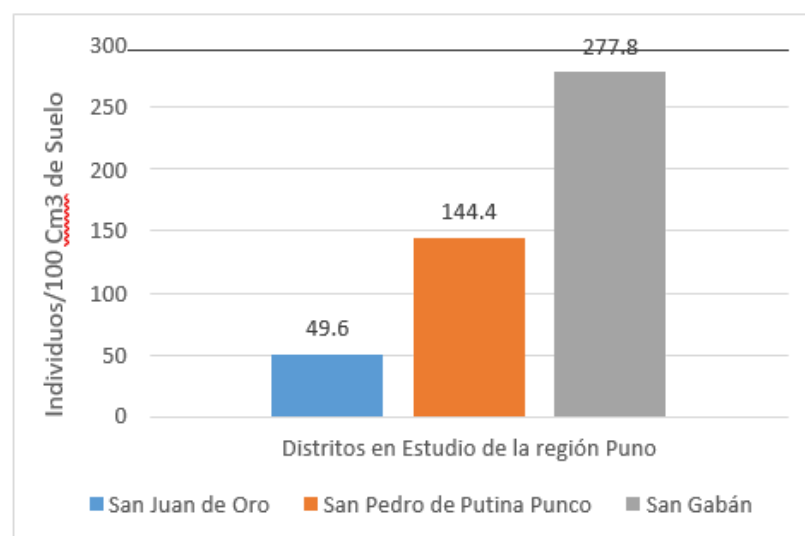


Figura 32. Resultado de análisis de suelo.

Los resultados de análisis de suelo nos indican (figura 32), que el género *Mesocriconema* fue el cuarto género más común en los suelos infectados por *Meloidogyne*; la densidad promedio más alta fue para San Gabán con 277.8 (59%) individuos por cm<sup>3</sup>, seguido por San Pedro de Putina 144.4 (31%) en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente 49.6 (11%) en 100 cm<sup>3</sup> de suelo para San Juan de Oro, estos datos fueron colectados en altitudes de 841 y 1416 msnm.

Los resultados obtenidos se pueden explicar debido a que este género se identifica como ectoparásito de hábitos alimenticios cercanos a la raíz (introducen su estilete y se alimentan de células radicales).

Los cultivos evaluados carecían de medidas de control para este nematodo y los dueños de finca desconocían la existencia de este nematodo. Otros programas que auspician la producción de café con nuevas plantaciones de café, también desconocen la existencia de este nematodo; ya que al sembrar los primeros plantones no realizan un control en los suelos infectados.

#### 4.3.5. Frecuencia del género *Dorylaimus* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; muestran como resultado que el género *Dorylaimus* ocupa el octavo lugar en población, entre los 10 géneros descritos (Anexo: Tabla 08 del Anexo).

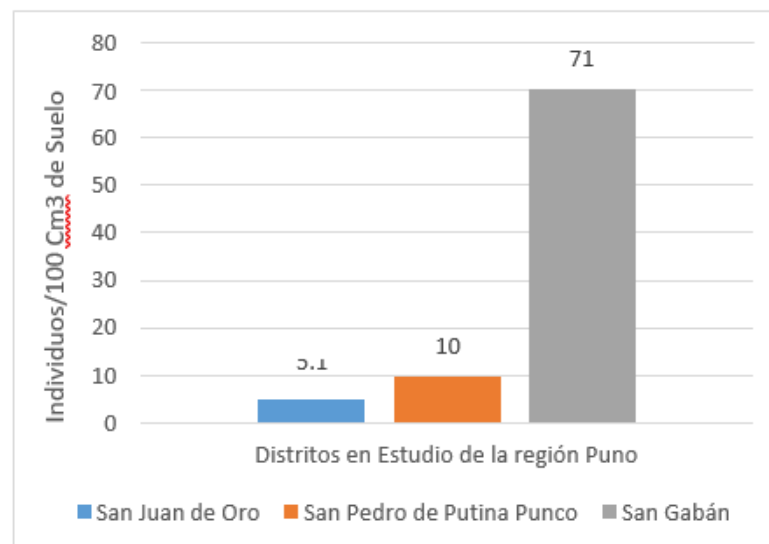


Figura 33. Frecuencia del género *Dorylaimus* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados indican que la mayor población de este género fue encontrada en el distrito de San Gabán 71 (82%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, donde existe una humedad muy alta, seguido por la densidad promedio de San Pedro de Putina Punco con una densidad promedio de 10 (12%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente San Juan de Oro con 5.1 (6%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo; estas densidades promedio son relativamente bajas (Tabla 12 del Anexo).

#### 4.3.6. Frecuencia del género *Xiphinema* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; muestran como resultado que el género *Xiphinema* ocupa el quinto lugar de población, entre los 10 géneros descritos (Tabla 08 del Anexo).

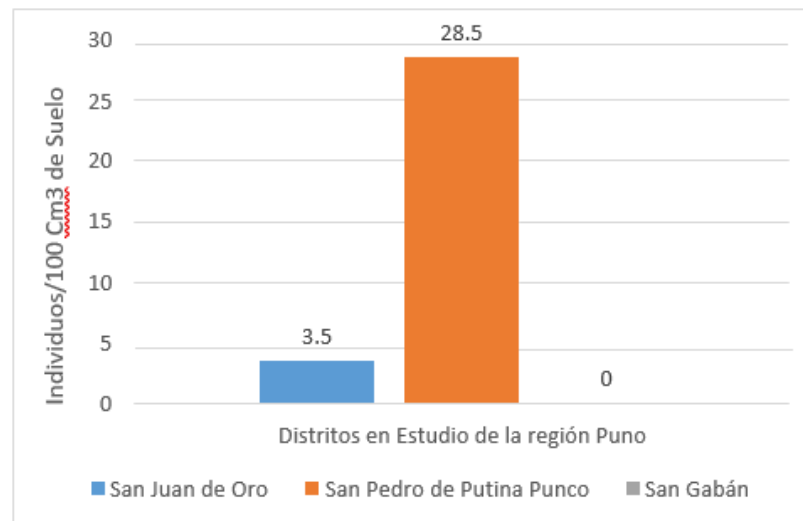


Figura 34. Frecuencia del género *Xiphinema* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que no existe, la presencia del género *Xiphinema* en San Gabán; mientras que San Juan de Oro cuenta con una densidad promedio de 3.5 (11%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y San Pedro de Putina Punco 28.5 (89%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo; estos resultados muestran una densidad promedio baja de estos nematodos y no representan un problema para el cultivo de café ya que son superados por los nematodos de vida libre.

#### 4.3.7. Frecuencia del género *Tylenchus* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; demuestran la presencia del género *Tylenchus*, en la región Puno (tabla 08 del Anexo).

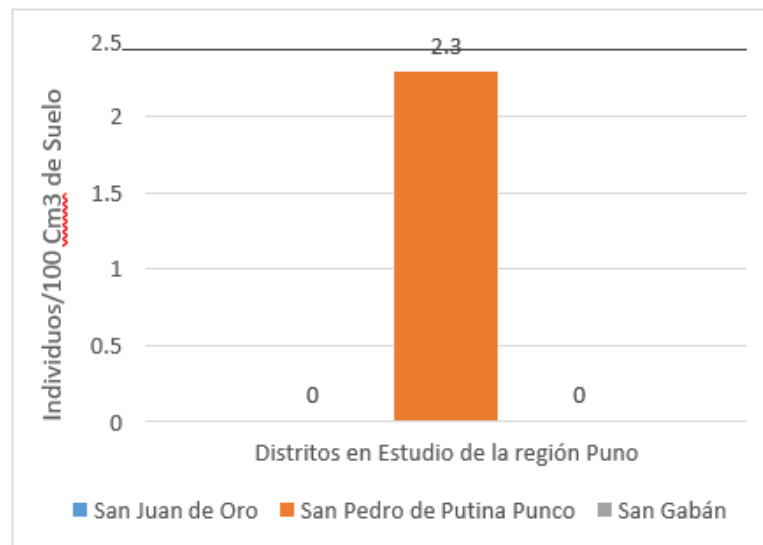


Figura 35. Frecuencia del género *Tylenchus* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que no existe presencia del género *Tylenchus* en San Gabán y San Pedro de Putina Punco; sin embargo, en el distrito de San Juan del Oro se tiene una población mínima de 2.3 (100%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo (tabla 12 del Anexo).

#### 4.3.8. Frecuencia del género *Hemicyclopora* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; donde se observa la presencia del género *Hemicyclopora*, en la región Puno (Tabla 08 del Anexo).

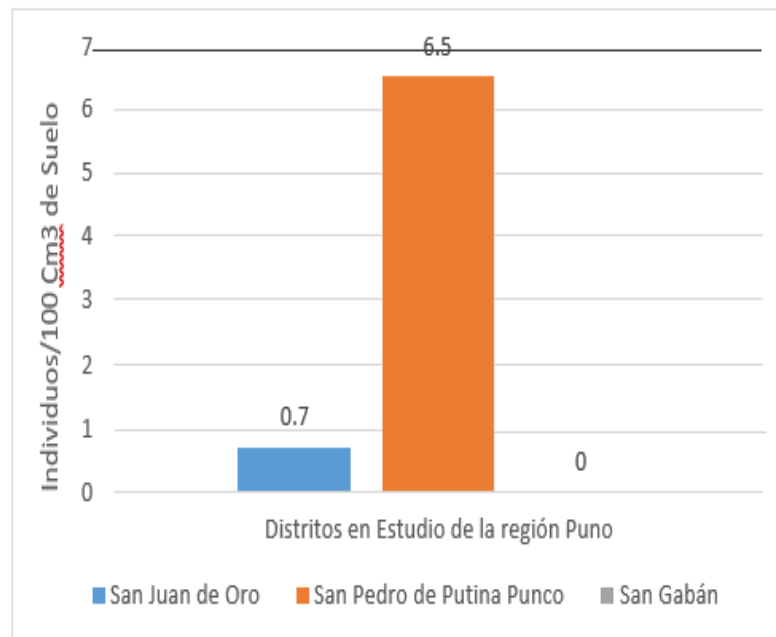


Figura 36. Frecuencia del género *Hemicyclophora*, en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que no existe presencia del género *Hemicyclophora* en San Gabán; tiene una presencia menor a los nematodos de vida libre en San Juan de Oro 0.7 (10%), mientras que San Pedro de Putina Punco tiene una población de 6.5 (90%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo.

#### 4.3.9. Frecuencia del género *Monochus* en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; donde se observa al nematodo de vida libre del género *Monochus* (Tabla 08 del Anexo).

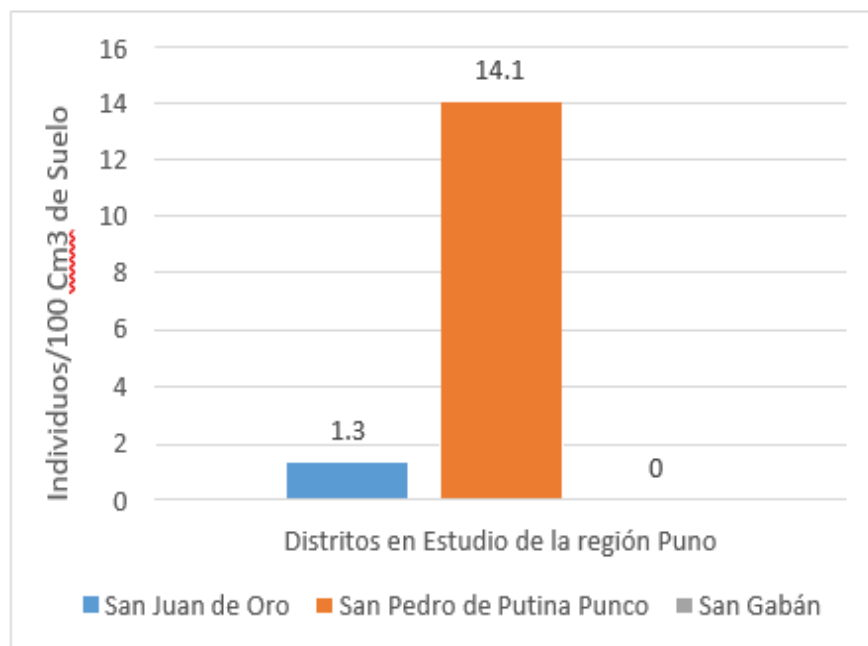


Figura 37. Frecuencia del género *Mononchus* en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que no existe presencia del nematodo de vida libre del género *Monochus* en San Gabán, mientras que San Juan de Oro 1.3 (8%), y en el distrito de San Pedro de Putina Punco tiene una población de 14.1 (92%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo.

#### 4.3.10. Frecuencia de los nematodos de vida libre en el cultivo de café de la región Puno

Las muestras analizadas de los tres distritos San Juan de Oro, San Gabán y San Pedro de Putina Punco de la región Puno; por el método de fluctuación centrífuga; nos demuestran la presencia de nematodos de vida libre con alta densidad poblacional (Tabla 08 del Anexo).

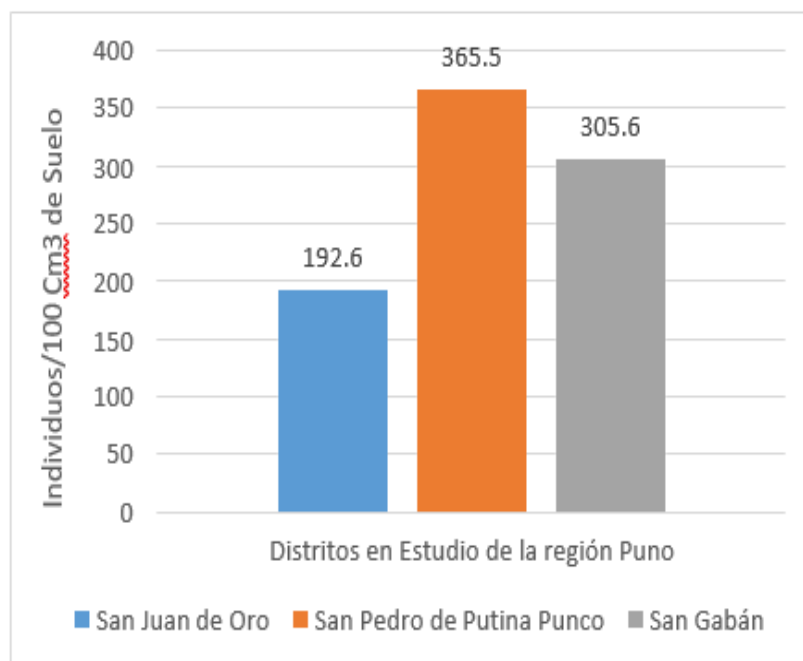


Figura 38. Frecuencia de nematodos de vida libre en el cultivo de café; en la región Puno.

Los resultados muestran que la presencia de los nematodos de vida libre en San Pedro de Putina Punco tiene una población de 365.5 (42%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, mientras que en Gabán se tiene una población de 305.6 (35%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente en San Juan de Oro se tiene una población de 192.6 (22%) individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo.

#### 4.4. Estimación de la fluctuación poblacional de los géneros identificados por distrito

##### 4.4.1. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Juan del Oro de la región Puno

Los resultados de la figura N° 39 muestran que existe gran población de los nematodos caracterizados en el distrito de San Juan del Oro, donde predomina la población del género *Meloidogyne* con 226.4 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido de géneros de vida libre con 192.6 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, en seguida se encuentra el género *Helicohylenchus* con una población de 108.2 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido



del género *Mesocriconema* con una población de 49.6 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente existen poblaciones de los demás géneros en poblaciones mínimas. Así mismo podemos observar que el género *Thylenchus* no se encuentra en el distrito de San Juan del Oro.

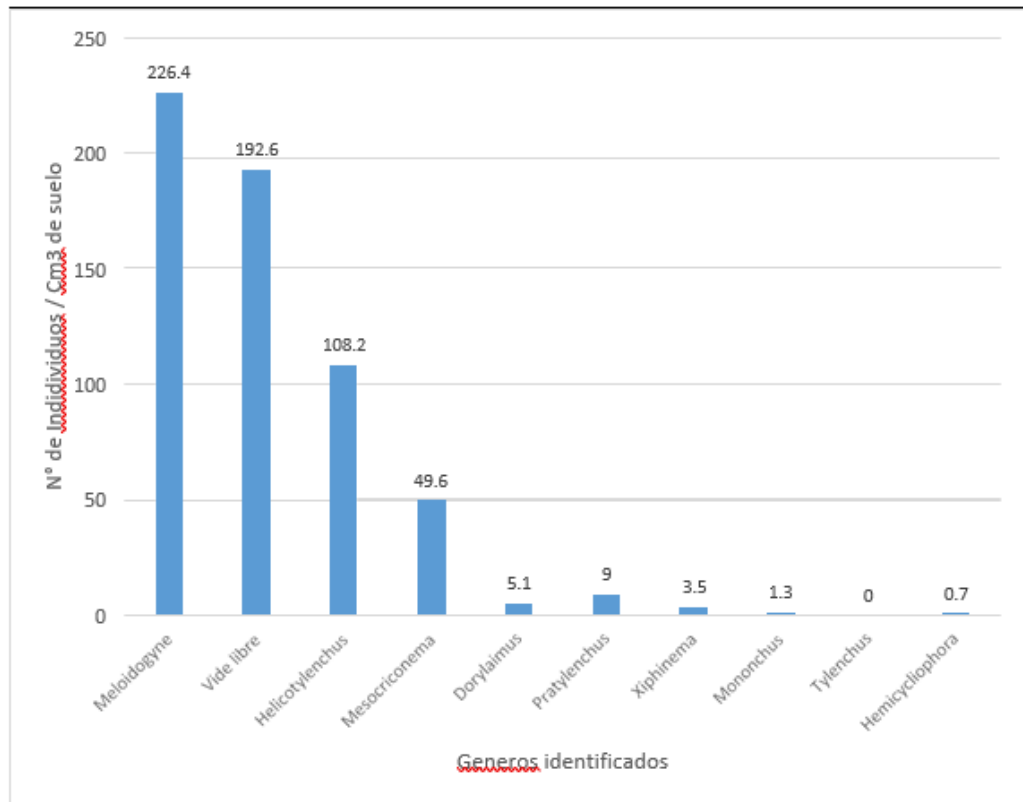


Figura 39. Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Juan del Oro.

#### 4.4.2. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Pedro de Putina Punco de la región Puno

Los resultados de la figura N° 40 muestran que también existe gran población de los nematodos caracterizados en el distrito de San Pedro de Putina Punco, donde predomina la población de géneros de vida libre con 365.5 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido del género *Meloidogyne* con 324.8 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguidamente se encuentra el género *Helicotylenchus* con una población de 206.7 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido del género *Mesocriconema* con una población de 144.4 individuos en

100 cm<sup>3</sup> de suelo y finalmente existen poblaciones de los demás géneros en poblaciones mínimas.

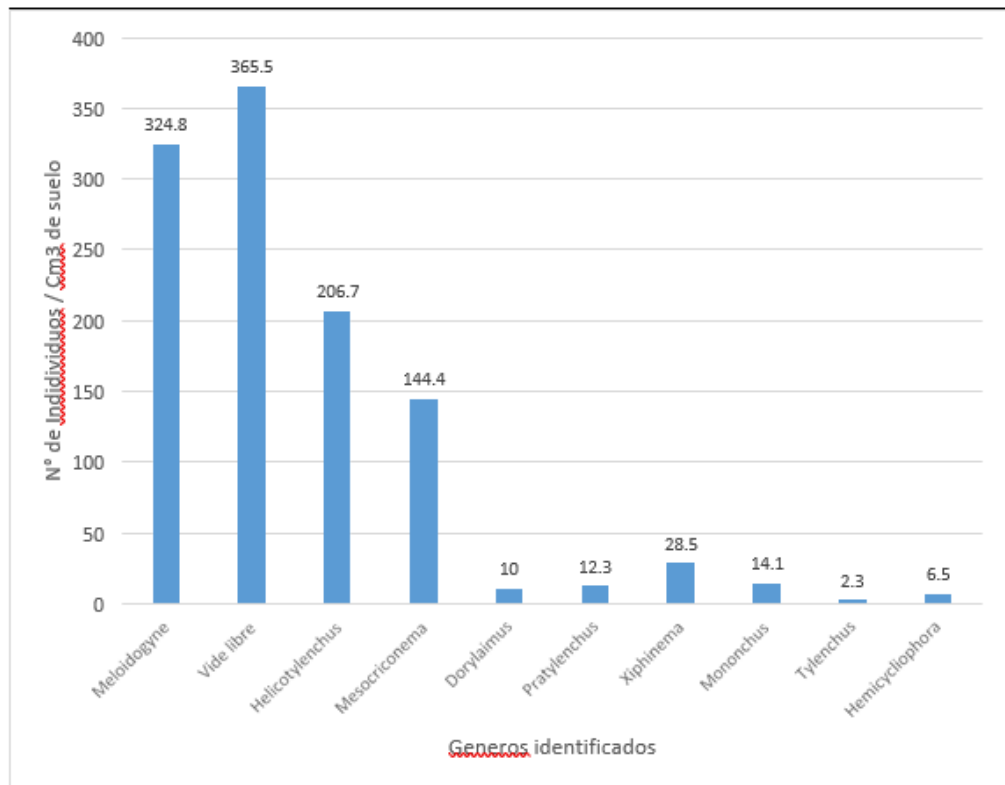
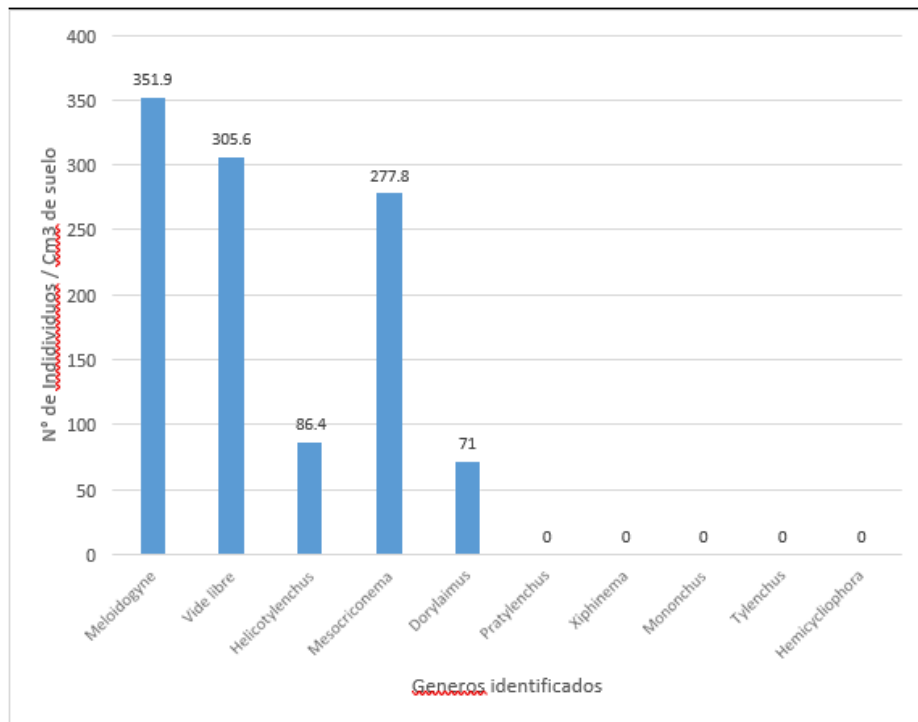


Figura 40. Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Juan del Oro.

#### 4.4.3. Frecuencia de géneros de nematodos en el distrito de San Gabán de la región Puno

Los resultados de la figura N° 41 muestra la presencia de poblaciones de nematodos caracterizados en el distrito de San Gabán, donde predomina la población del género de *Meloidogyne* con 351.9 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, seguido de géneros de vida libre con 305.6 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo, en seguida se encuentra el género *Mesocriconema* con una población de 277.8 individuos en 100 cm<sup>3</sup> de suelo. Los demás géneros *aracterizados* se encuentran en poblaciones mínimas; así mismo podemos observar que los géneros *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Mononchus*, *Tylenchus* y *Hemicycliophora* no se encuentran en el distrito de San Gabán.



*Figura 41.* Frecuencia de poblaciones de nemátodos en el distrito de San Gabán.

## CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Se identificaron 10 géneros de nematodos fitoparásitos: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Dorylaimus*, *Tylenchus*, *Hemicycliophora*, *Mononchus* y otros nematodos de vida Libre.
2. Por el método de electroforesis de isoenzimas se ha identificado la especie *Meloidogyne* exigua con fenotipos E1 y E2.
3. La densidad poblacional del género *Meloidogyne* fue de 95% del total de la población en el cultivo de café siendo el nematodo más perjudicial para este cultivo.



## RECOMENDACIONES

Se recomienda:

1. Continuar con más trabajos de investigación, sobre los problemas ocasionados por los nematodos en el cultivo de café en la región Puno.
2. Evaluar la interacción entre los principales géneros identificados como *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Mesocriconema*.
3. Evaluar la resistencia de *Meloidogyne* a las variedades cultivadas de café.
4. Planificar y ejecutar medidas de prevención de nematodos y control para evitar pérdidas en el cultivo de café.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad, P., Castagnone, S., Rosso, M., De Almeida, J., y Favery, B. (2009). *Invasion feeding and development* In Perry, R.N.; Moens, M.; Starr, J.L. eds. Root-knot nematodes. London, UK. CAB International, 163-176 p.
- Agrios, G. N. (1996). México. Segunda Edición. Limusa S.A. de CV Grupo Noriega Editores, 838 p.
- Agrios, G. (2011). México. Editorial Limusa S.A. de CV Grupo Noriega Editores. 2011. 745-749 p.
- Anzueto, F., Molina, A., Figueroa, P., y Martínez, A. (2000). *situación de los nematodos del café en Guatemala*. In Memoria: Taller mejoramiento sostenible del café arabica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, con énfasis en la resistencia a los nemátodos, Segunda Edición, 89 p.
- Araya, B. E. (2008). *Identificación, cuantificación y caracterización de densidades poblacionales de nematodos asociados al cultivo de arroz (Oriza sativa L.) en la región huerta norte de Costa Rica*. Trabajo final de graduación presentado a la escuela profesional de Agronomía como requisito para optar el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Primera Edición, 120 p.
- Bermudez R. J. (1985) Manual práctico del cafetalero. La Molina, Lima Perú, Primera Edición, 120 p.
- Campos, V. P., Villain, L. (2005). *Nematode parasites of coffee and cocoa*. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; Bridge, J. (ed.). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Segunda edición Wallingford, UK: CAB International, 529-579 p.
- Carneiro, R., Almeida, M., y Quénhervé, P. (2000). *Enzyme phenotype of Meloidogyne spp. populations*. Nematology 2; 645-654 p.
- Castañeda, P. E. (2000). El ABC del café – cultivando calidad. Editorial TECNATROP. Primera Edición. Lima-Perú; 179 p.



- CENICAFE, (2000), CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ – Reconocimiento y frecuencia de *Meloidogyne* spp. en una localidad de la zona cafetera central de Colombia.
- Chitwood, D. J., y Perry, R. N. (2009). *Reproduction Physiology and Biochemistry*. In Perry, R., Moens, M., Starr, J. eds. Root-knot nematodes. London, UK. CAB International. 182-194 p.
- Cronquist, A. (1981). *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Gunawan, D. Mulyani, S. (2010). Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 106 - 107, 112, 114 – 122. Badan Standar Nasional. (1995). SNI 06-3953-1995
- Cruz, L. (2013), Identificación del nematodo agallador de la raíz del cafeto en la región centro de Veracruz
- Di Vito, M. R. C., y Vovlas, N. (200). Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*Coffea Arabica* L.) in pots, Istituto di Nematologia Agraria, *Nematropica* 30; 2000. 55-61 p.
- Duran, F. (2010). *Cultivo del Café*. Grupo Latino Editores. Colombia. 511 pág.
- Duicela, L., Corral R., Fernandez, F. (2001). *Producción de café arábico, guía para el caficultor ecuatoriano*. Quito, Ecuador, 190 p.
- Eisenback, J. D., Hirschmann, H., Sasser, J. N., y Triantaphyllou, A. C. (1983). Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.) con una clave pictórica. Traducida al español, por: C. Sosa- Moss. Departments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University Departamento de Fitopatología; 55 p.
- Enriquez, G. (1993). Ecofisiología del cultivo. Manual del cultivo del café FUNDAGRO. GTZ. Ecuador 40 p.
- Ferreira, A. (2010). *Caracterización de poblaciones de Meloidogyne spp. en cafetales del estado de Espírito Santo y la zona de Mata de Minas Gerais*. Primera edición, 98 p.



- Ferris, H. (1999). Nematode Plant Expert Information System (NEMAPLEX). University of California. Recuperado de: <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/index.htm>
- Flores, Y. (2017). Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo. “Caracterización del nematodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la región Puno.
- García, J. (2012), Densidad y diversidad de nematodos en sistemas agroforestales de café en asocio con bananos y sombra de leguminosas en Jinotega, Nicaragua, 120 p. Godoy, R. C. B., Scotti, C. A. y Bueno, L. A. P. (2003). A Batata no Estado do Paraná. Pp. 23-25. In Pereira, A. da S., Daniels, J. O cultivo da batata na Região Sul do país. 1ed. Brasília: EMBRAPA.
- Gonzaga, V. (2006). *Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de Pratylenchus Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil*. Universidade Estadual Paulista Câmpus De Jaboticabal Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias – Brasil, 94.
- Guzmán, O., Villegas, B., y Castaño, J. (2012). Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica.
- Hartman, K. M., Sasser, J. N. (1985). *Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology*. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Ed.). An advanced treatise on Meloidogyne. Raleigh, NC: North Carolina State University Graphics, 1985. v. 2, p. 69-77.
- Hiroshi, S. Tumoru, S. Ribeiro, A. C., De Batista, F. Shiguer, I. D., Seidi, K. F. & Barreto P. C. (2009). *Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode Meloidogyne paranaensis*, Article in crop breeding and applied biotechnology.
- Hunt, D. J., & Handoo, Z. A. (2009). *Taxonomy, identification and principal species*. In Perry, R., Moens, M., Starr, J. eds. Root-knot nematodes. London, UK. CAB International; 55-88 p.





- Hurchanik, D. P., Schmitt, N. V., & Sipes, B. S. (2003). *Relación entre densidades de poblaciones de Meloidogyne konaensis y el estado nutricional de raíces y hojas de café*. University of Hawaii, Department of Plant and Environmental Protection Sciences. Nematropica 33; 55-64 p.
- Hussey, R.S., & Janssen, G. (2001). Root-knot nematodes: Meloidogyne species. In Starr, J., Cook, R., Bridge, J., eds. *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. London, UK. CAB International; 43-70 p.
- Hussey, R. S., & Mims, C. W. (1991). *Ultraestructure of esophageal glands and their secretory granules in the root-knot nematode Meloidogyne incognita*. Protoplasma 156; 9-18 p.
- Hussey, R. S., & Barker, K. B. (1973). A comparison of methods of collecting inocula for Meloidogyne spp. including a new technique. *Plant Disease* 57; 1025-1028 p.
- ICAFFE. (1998). *Manual de recomendaciones para el cultivo del café*, instituto del café Costa Rica. Segunda edición, San José Costa Rica.
- Jenkins, W. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant disease reporter*; 692 p.
- Julca, O. A., Carhuallanqui, R., Bello, A., Crespo, C. R., Echevarría, y Borjas, R. (2000). Efecto de la sombra y la fertilización sobre las principales plagas del café variedad "Catimor" en Villa Rica (Pasco, Perú). *Universidad Nacional Agraria La Molina*, 135 p.
- Karszen, G., & Moens, M. (2006). Root-knot nematodes. In Perry, RN; Moens, M. eds. *Plant Nematology*. London, UK. CAB International; 59-88 p.
- Leon, J. (2001). *Botánica de cultivos tropicales*. San José de Costa Rica. Primera Edición, 125 p.
- Lima, M. I. y Casa, C. V. H. (2016). *Nematología agrícola*. Especialización en nematología agrícola y prácticas de rutina para el diagnóstico, primera edición, 105 p.

- Lordello, L. G. E., & Zamith, A. P. L. (1958). On the morphology of the coffee root knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. *Proc. Helmin. Soc. Wash.* 25: 133-137.
- Lorente, H. J. (1997). *Biblioteca de la Agricultura lexis*. Editorial industria gráfica España. 120 p.
- Main, W., & Mullin, P. (1996). *Plant parasite nematodes*. Quinta Edición. Editorial Cornell University Press, Ithaca-Londres; 04 p.
- Medina, I. L., Coila, V. H. C., Gomes, C. B., Arione, S. P. & Nilceu, R. N. (2014). Ocorrência de *Meloidogyne ethiopica* no Paraná e reação de cultivares de batata ao nematoide das galhas. *Horticultura Brasileira*; 32 p.
- MINAGRI. (2013). *Informe especial N° 001*. Situación del mercado de café en grano. Disponibles en Google minagri 2013. Accesado el 5 de octubre del 2015.
- MINAGRI. (2015). *Síntesis agronómica del café*. Dirección general de políticas agrarias, dirección de estudios económicos e informativos de la agraria; Disponible en google minagri 2015 pdf. Accesado el 5 de octubre del 2015.
- Moens, M., Perry, R. N. & Starr, J. L. (2009). *Meloidogyne species a diverse group of novel and important plant parasites*. In Perry, R.N., Moens, M. Starr, J.L. eds. *Rootknot nematodes*. London, UK. CAB International; 1-13 p.
- Monzon, G. A. (2010). “*Evaluación del nematodo de las gallas (Meloidogyne ssp.) en la fructificación del café orgánico del distrito de San Juan del Oro-Puno*”. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología Puno-Perú, 124 p.
- Mulvey, R. H. & Anderson, R. V. (1979). Benthic species of *Dorylaimus* Dujardin, 1845 (nematode: Dorylaimidae) and *Arctidorylaimus* n. gen. from the Mackenzietories, Canada. *Can. J. Zool.*, 57, 743 – 755.
- Noir, S., Anthony, F., Bertrand, B., Combes, M., & Lashermes, P. (2003). Identification of a major gene (Mex-1) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. *Plant Pathology* vol N°52; 97-103 p.

- Oliveira, D. S., Oliveira, R. D. L. & Silva, R. V. (2005). Caracterização Fisiológica de Populações de *Meloidogyne exigua* Associadas a Cafeeiros na Zona da Mata de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 29:279-283. 2005b. Perry RN. y Moens, M. *Plant Nematology*. USA: UK by Biddles Ltd, King's Lynn; 2014. 463 p.
- Rodríguez, M. (2000). *Identificación y caracterización de Meloidogyne mayaguensis (Nemata: Meloidogynidae) en el café en Cuba*. Tesis Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Cuba. Universidad Agraria de la Habana, 135 p.
- Rojas, M., y Salazar, L. (2013). *Densidad crítica de Meloidogyne exigua en plantas de almacigo de variedad caturra*. *Agronomía Costarricense* Segunda edición; 115-123 p.
- Ruppert, E. E. & Barnes, R. D. (1996). *Zoología de los Invertebrados*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 6ta Edición. México, D.F., 208 – 304.
- Sasser, J. N., Eisenback, J. D., Carter, C. C., & Triantaphyllou, A. C. (1983). The International Meloidogyne Project-Its Goals and Accomplishments. *Annual Review of Phytopathology* 21; 271-288.
- Scurrah, M. (2008). *Manual de manejo de nematodos en campos de papa del Perú, realizado por el proyecto INCO DEV "Evaluating new traits for potato in Central Andes with an appropriate poverty focus"*, Lima-Perú; 73 p.
- Schereck, R. C., Vieira, D. S. M. C., Marais, M., Santos, M. S., Duyts, H., Freitas, H., Van Der Putten, W. M., & Abrantes, I. (2010). First record of *Helicotylenchus varicaudatus* Yuen, 1964 (nematoda: Haplolaimidae) parasitizing *Ammophila arenaria* (L.). Link in Portuguese coastal sand dunes. *Phytopathology Mediterranean* 49, 212 – 226.
- Siddiqi, M. R. (2000). *Tylenchida: Parasites of plants and insects*. CAB International, UK; 833 p.
- Souza, R. M., Volpato, A. R., & Viana, A. P. (2007). *Field assessment of different sampling strategies for coffee plantations parasitized by Meloidogyne exigua*. *Universidade Estadual do Norte Fluminense, Nematropica* 37; 345-355 p.



- Taylor, A. L., & Sasser, J. N. (1983). *Biología, Identificación y control de los nematodos de nódulos de la raíz. Proyecto Internacional de Meloidogyne*. Publicación cooperativa entre el departamento de Fitopatología de la Universidad de Estado de Carolina del Norte y la agencia de EEUU para el desarrollo Internacional. Carolina del Norte.
- Tihohod, D. (2000). *Nematología Agrícola Aplicada*. Jaboticabal-Brasil: FAPESP; 2000. 472 p.
- Vera, O. N. (2014). Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en fitopatología, *Técnica Molecular de PCR para identificar las principales especies de Meloidogyne spp.* en poblaciones provenientes de Perú, 98 p.
- Vergel, C., Leguizamon, C., Cortina, G., y Torres, T. (2000). Reconocimiento y frecuencia de *Meloidogyne spp.* en una localidad de la zona cafetera central de Colombia CENICAFÉ 51 p.
- Villain, L., Sarah, J. L., Hernández, A., Bertrand, B., Anthony, F., Lashermes, P., Charmetant, P., Anzueto, F., Figueroa, P., & Carneiro, R. G. (2013). Diversity of root-knot nematodes associated with coffee orchards in Central America. *Nematropica* 43; 194-206 p.
- Vovlas, N., & Di Vito, M. (1991). *Effect of root- nematodes Meloidogyne incognita and M. javanica on the growth of coffea (coffea arabica L.) in pots*. Istituto di Nematologia Agrarian, C.N.R. *Nematology* 19; 253-258 p.
- Wyss, U., Grundler, F. M., & Münch, A. (1992). The Parasitic Behaviour of Second- Stage Juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Nematologica* 38; 98-111 p.
- Xu, J., Liu, P., Meng, Q., & Long, H., (2004). *Characterisation of Meloidogyne species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism*. *European Journal of Plant Pathology* 110; 309–315 p.



# ANEXOS

Anexo 1. Factores climatológicos del distrito de San Juan del Oro en el año 2016.

Meses del año	T°C promedio	T°C Máxima	T°C Mínima	% HR promedio	Prep. total mm
Enero	23.25	30.7	15.8	98	180
Febrero	23.50	30.8	16.2	98	280
Marzo	22.80	30.2	15.4	97	215
Abril	22.40	29.8	15	96	98.5
Mayo	21.00	28.5	13.5	98	56.5
Junio	20.00	28	12	97	55.4
Julio	20.40	28.5	12.3	97	36.7
Agosto	21.60	29.4	13.8	97	31.6
Setiembre	22.30	30	14.6	96	97.8
Octubre	22.20	28.8	15.6	95	87
Noviembre	22.75	29	16.5	97	105.4
Diciembre	22.75	28.9	16.6	96	170.7
<b>TOTAL</b>	<b>264.95</b>	<b>352.60</b>	<b>177.30</b>	<b>1162.00</b>	<b>1414.60</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>22.08</b>	<b>29.38</b>	<b>14.78</b>	<b>96.83</b>	<b>117.88</b>

Anexo 2. Factores climatológicos del distrito de San Gabán en el año 2016.

Meses del año	T°C promedio	T°C Máxima	T°C Mínima	% HR promedio	Prep. total mm
Enero	24.35	32.2	16.5	98.5	332.5
Febrero	24.60	32.3	16.9	98.5	398
Marzo	23.15	30.2	16.1	98.3	297.5
Abril	22.80	29.9	15.7	96	238
Mayo	21.35	28.5	14.2	98	178
Junio	20.60	28.1	13.1	97	121
Julio	21.05	28.5	13.6	97	198
Agosto	20.05	27	13.1	96	145.6
Setiembre	22.30	30	14.6	97	231
Octubre	22.35	29.1	15.6	98	248
Noviembre	23.35	30.2	16.5	98	310
Diciembre	24.35	32.1	16.6	98	345.5
<b>TOTAL</b>	<b>270.30</b>	<b>358.10</b>	<b>182.50</b>	<b>1170.30</b>	<b>3043.10</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>22.53</b>	<b>29.84</b>	<b>15.21</b>	<b>97.53</b>	<b>253.59</b>

Anexo 3. Datos generales de las zonas evaluadas en la región de Puno.

Fecha	Departamento	Distrito	Sector	Muestras	Coordenadas	Café	PROPIETARIA	ALTURA (m.s.n.m.)
16/11/2016	Puno	San Juan de Oro	Belen	10	19L 0483457 UTM 8428038	8 AÑOS	UNA-PUNO	1370
12/11/2016	Puno	San Juan de Oro	Belen	10	19L 04822801 UTM 8426050	8 AÑOS	MARIBEL YUCRA SEJE	1360
14/11/2016	Puno	San Juan de Oro	Yanamayo	10	19L 0482760 UTM 8426016	8 AÑOS	GERARDO FLORES COA	1093
14/11/2016	Puno	San Juan de Oro	Yanamayo	10	19L 0489054 UTM 8429470	15 AÑOS	EULOGIA GARCIA CARCUSTO	1257
15/1/2016	Puno	San Juan de Oro	Challuma	10	19L 0483446 UTM 8428044	2 AÑOS	MARIA QUISPE FLORES	1227
15/11/2016	Puno	San Juan de Oro	Challuma	10	19L 0483856 UTM 8428753	4 AÑOS	MARIA AYALA LOPE	1309
30/12/2016	Puno	Putina Punco	Chunchusmayo	6	19L 0496818 UTM 8441043	8 AÑOS	ERNESTO VALENCIA SEJE	888
30/12/2016	Puno	Putina Punco	Chunchusmayo	6	19L 0502803 UTM 8442907	8 AÑOS	UMBERTO SEJE PERALTA	841
30/12/2016	Puno	Putina Punco	Huaranca	6	19L 0502789 UTM 8442917	10 AÑOS	HABRAAN JUSTO JUSTO	1030
30/12/2016	Puno	Putina Punco	Huaranca	6	19L 0502789 UTM 8442917	8 AÑOS	SAMUEL SARABIA CALLO	1130
28/12/2016	Puno	Putina Punco	Santa fe	6	19L 0497192 UTM 8438972	8 AÑOS	LUIS QUISPE MOLINA	1339
28/12/2016	Puno	Putina Punco	Santa fe	6	19L 0496002 UTM 8439620	16 AÑOS	LUCIANO SACACA UBANO	1113
28/12/2016	Puno	Putina Punco	Arco Punco	6	19L 0500722 UTM 8446568	11 AÑOS	CLAUDIO ENRRIQUE QUISPE	987
18/12/2016	Puno	Putina Punco	Arco Punco	6	19L 0500729 UTM 8446564	11 AÑOS	NOE VILCA ENRRIQUE	1002
29/12/2016	Puno	Putina Punco	Tunquipata	6	19L 0500729 UTM 8440564		MATEO VILCA	1100
29/12/2016	Puno	Putina Punco	Tunquipata	6	19L 0500729 UTM 8440564		ELIAS VILLASANTE ARMAO	1124
24/12/2016	Puno	San Gaban	Sangari	3	Sur 13°31.803 Oeste 070° 25.982		HILDA ENRIQUEZ TITO	863
25/12/2016	Puno	San Gaban	Churumayo	3	Sur 13°35.239 Oeste 070° 27.209		TEOFILA ZAPANA SANCHES	1056
26/12/2016	Puno	San Gaban	Casahuire	3	Sur 13°38.375 Oeste 070° 27.608		ELSA ROQUE MACEDO	1416



Anexo 4. Datos generales de promedios de nematodos evaluados en cafetales (Vr. catimor) en el distrito de San Juan del Oro de la región Puno.

Distrito	Géneros nematodos	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vide libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylainus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicylophora</i>
San Juan Del Oro	1 - A										
	Challuma	1.1	417	67	92	83	0	0	0	0	0
		1.2	367	167	108	0	0	0	0	0	0
		1.3	167	42	92	0	0	0	0	0	0
	1227 msnm	1.4	117	50	33	0	0	0	0	0	0
		1.5	142	58	75	0	0	0	0	0	0
	2 AÑOS	1.6	242	0	0	0	0	0	0	0	0
		1.7	208	175	83	0	0	0	0	0	0
	Vr. Catimor	1.8	383	142	92	42	0	0	0	0	0
		1.9	167	158	200	0	0	0	0	0	0
	1.10	150	417	108	0	0	0	0	0	0	
San Juan Del Oro	2 - A										
	Challuma	2.1	108	108	83	92	0	0	0	0	0
		2.2	375	117	217	0	0	0	0	0	0
		2.3	183	125	117	0	0	0	0	0	0
	1309 msnm	2.4	183	517	92	0	0	0	0	0	0
		2.5	300	292	142	0	0	0	0	0	0
	4 AÑOS	2.6	258	83	117	42	0	0	0	0	0
		2.7	458	383	42	0	308	0	0	0	0
	Vr. Catimor	2.8	333	67	67	0	0	0	0	0	0
		2.9	325	192	83	67	0	0	0	0	0
	2.10	508	133	83	0	0	0	0	0	0	
Yanamayo	1 - B										
		1.1	33	292	133	42	0	50	0	0	0
		1.2	167	275	117	350	0	0	0	0	0
		1.3	208	92	292	133	0	75	0	0	0



<b>1093 msnm</b>	<b>1.4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>8 AÑOS</b>	<b>1.5</b>	<b>67</b>	<b>250</b>	<b>158</b>	<b>158</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>42</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Vr. Catimor</b>	<b>1.6</b>	<b>292</b>	<b>75</b>	<b>325</b>	<b>117</b>	<b>0</b>	<b>108</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Anexo 5. Datos generales de los promedios de nematodos evaluados en cafetales (Vr. Catimor y Typica) evaluados en el distrito de San Pedro de Putina Punco de la región Puno.

Distrito San Pedro de Putina Punco	Géneros nematodos	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vite libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylaimus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicyclophora</i>
	Codigo										
Chunchusmayo  888 msnm  8 AÑOS  Vr. Catimor	1 - D										
	1.1	222	347	153	375	0	0	0	0	0	0
	1.2	458	375	264	167	0	0	0	0	0	0
	1.3	333	444	181	139	0	0	0	0	0	0
	1.4	486	569	250	167	0	0	0	0	0	0
	1.5	292	569	125	125	0	0	0	0	0	0
1.6	264	250	278	69	0	0	0	0	0	0	
Chunchusmayo  841 msnm  8 AÑOS  Vr. Catimor	2 - D										
	2.1	569	486	42	28	69	0	0	0	0	0
	2.2	208	139	333	431	0	222	0	0	0	0
	2.3	500	153	333	222	0	0	0	0	0	0
	2.4	1083	611	222	597	139	0	0	0	0	0
	2.5	194	278	125	0	0	0	0	0	0	0
2.6	208	458	167	181	0	0	0	0	0	0	
Huaranka  1030 msnm  10 AÑOS  Vr. Typica	1 - E										
	1.1	556	472	111	97	0	0	0	0	0	0
	1.2	69	292	167	28	0	0	194	0	0	0
	1.3	347	319	69	56	0	0	139	0	0	0
	1.4	125	236	167	167	0	0	0	0	0	0
	1.5	56	306	222	0	0	0	42	0	0	0
1.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Huaranka  1130	2 - E										
	2.1	306	250	181	0	0	0	0	0	0	0
	2.2	139	153	306	0	0	0	28	0	0	0
	2.3	139	514	375	542	0	0	0	0	0	0



<b>8 AÑOS</b>  <b>Vr. Typica</b>	<b>2.4</b>	<b>125</b>	<b>306</b>	<b>28</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	<b>2.5</b>	<b>264</b>	<b>125</b>	<b>194</b>	<b>0</b>	<b>111</b>	<b>0</b>	<b>69</b>	<b>111</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	<b>2.6</b>	<b>222</b>	<b>194</b>	<b>194</b>	<b>222</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Anexo 6. Datos generales del promedio de nematodos evaluados en cafetales (Vr. Catimor y Typica) evaluados en el distrito de San Gabán de la región Puno.

Distrito San Gabán	Géneros nematodos	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vida libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylainus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicyclophora</i>
	Código										
Sangari  Vr. Catimor	1 - I										
		278	250	0	222	0	0	0	0	0	0
		1083	278	0	1111	0	0	0	0	0	0
		83	694	278	333	0	0	0	0	0	0
Churumayo	2 - I										
Vr. Catimor		111	56	278	0	111	0	0	0	0	0
		556	306	83	0	0	0	0	0	0	0
		278	139	139	0	0	0	0	0	0	0
Casahuiri	3 - I										
Vr. Typica		278	250	0	222	0	0	0	0	0	0
		222	250	0	0	0	0	0	0	0	0
		278	528	0	611	528	0	0	0	0	0

Anexo 7. Frecuencia de nematodos encontrados en muestras.

DESCRIPCION GENERAL		Departamento	Distrito	Sector	Muestra	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vida Libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylainus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemityclophora</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Quistes</i>	
Puno	San Juan de Oro	Belen	19	19	19	19	19	1	1	1	13	0	0	1	0	20	
			18	18	18	18	8	14	0	0	5	0	0	0	2	20	
			20	19	20	20	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	20
	San Pedro de Putina Punco	Chunchusmayo	12	12	12	12	12	1	1	0	11	2	0	0	0	0	12
			12	11	11	11	0	5	1	0	6	1	0	0	1	1	12
			12	10	9	10	4	3	2	1	7	2	1	3	4	12	
			12	12	12	12	1	8	0	0	11	0	0	0	1	1	12
			12	12	11	11	2	4	0	1	9	0	1	0	1	1	12
			3	3	3	3	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3
			3	3	3	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	San Gabán	Casahuire	3	3	3	3	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	3
			129	120	117	117	17	26	8	2	81	8	2	4	9	126	
			%	93	91	91	13	20	6	2	63	6	2	3	7	98	
Total, de muestras		100															

Anexo 8. Porcentaje que representa cada género en el distrito de San Juan de Oro, Sandia, Puno.

Distrito	Sector	Código	Géneros de nematodos	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vide libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylamus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicyclophora</i>	Total
San Juan de Oro	Challuma	1 - A	Total	2358	1275	883	125	0	0	0	0	0	0	0
	Challuma	2 - A	Total	3033	2017	1042	200	308	0	0	0	0	0	0
	Yanamayo	1 - B	Total	1475	2108	1642	1325	0	333	0	42	0	0	0
	Yanamayo	2 - B	Total	2392	1392	1067	500	0	200	192	33	0	0	0
	Belén	1 - C	Total	1800	1525	975	192	0	0	0	0	0	0	0
	Belén	2 - C	Total	2525	3167	883	633	0	8	17	0	0	42	0
		100	Suma total por género	13583	11483	6492	2975	308	542	208	75	0	42	35708
	Porcentaje por género			38.04	32.16	18.18	8.33	0.86	1.5	0.58	0.21	0.00	0.12	

Anexo 9. Porcentaje que representa cada género en San Pedro de Putina Punco, Sandia, Puno.

Distrito	Sector	Código	Géneros nematodos	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vide libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylamus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicycliphora</i>	Total
San Pedro de Putina Punco	Chunchusmayo	1 - D	Total	2056	2556	1250	1042	0	0	0	0	0	0	
	Chunchusmayo	2 - D	Total	2764	2125	1222	1458	208	222	0	0	0	0	
	Huaranka	1 - E	Total	1153	1625	736	347	0	0	375	0	0	0	
	Huaranka	2 - E	Total	1194	1542	1278	764	111	0	97	111	0	0	
	Santa Fé	1 - F	Total	2958	2694	1625	778	0	69	97	306	83	236	
	Santa Fé	2 - F	Total	2083	2139	1194	278	278	250	125	208	0	153	
	Arco Punko	1 - G	Total	903	1778	1014	736	0	0	125	0	0	0	
	Arco Punko	2 - G	Total	1694	2472	1806	1611	0	125	556	167	0	0	
	Tunki Pata	1 - H	Total	2264	2611	1444	903	0	42	42	0	0	0	
	Tunki Pata	2 - H	Total	2417	1403	833	750	0	28	292	56	56	0	
100			Suma Total	19486	20944	12403	8667	597	736	1708	847	139	389	65917
	Porcentaje por género			29.56	31.77	18.82	13.15	0.91	1.12	2.59	1.29	0.21	0.59	



Anexo 10. Porcentaje que representa cada género en San Gabán.

Distrito	Sector	Código	Géneros	Géneros													
				<i>Meloidogyne</i>	<i>Vide libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylamus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicyclophora</i>	Total			
San Gabán	Sangari	1 - I	Total	1444	1222	278	1667	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Churumayo	2 - I	Total	944	500	500	0	111	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Casahuiri	3 - I	Total	778	1028	0	833	528	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Suma				3167	2750	778	2500	639	0	0	0	0	0	0	0	0	9833
Total				32.20	27.97	7.91	25.42	6.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Porcentaje de nematodos por género																	

Anexo 11. Densidad promedio de los géneros de nematodos encontrados en 100 cm<sup>3</sup> de suelo. en los tres distritos evaluados.

Región Puno	Promedio de géneros de nematodos en 100 cm <sup>3</sup> de suelo									
	<i>Meloidogyne</i>	<i>Vide libre</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Dorylaimus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Mononchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Hemicyclophora</i>
San Juan de Oro	226,4	192,6	108,2	49,6	5,1	9,0	3,5	1,3	0,0	0,7
San Pedro de Putina Punco	324,8	365,5	206,7	144,4	10,0	12,3	28,5	14,1	2,3	6,5
San Gabán	351,9	305,6	86,4	277,8	71,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Anexo 12. Análisis descriptivo de los distritos de la región Puno.

Región Puno	<i>Meloidogyne</i>		<i>Helicotylenchus</i>		<i>Mesocriconema</i>		<i>Dorylaimus</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Xiphinema</i>		<i>Hemicyclophora</i>		Total fitoparásitos		<i>Vida libre</i>		<i>Mononchus</i>		<i>Tylenchus</i>		
	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	X	±	
Distrito																							
San Juan de Oro	226,4	± 2,1	108,2	± 1,1	49,6	± 1,1	5,1	± 0,7	9,0	± 0,4	3,5	± 0,2	0,7	± 0,1	402,5	± 3,1	192,6	± 2,3	1,3	± 0,1	0,0	± 0,0	
San Pedro de Putina Punco	324,8	± 3,9	206,7	± 1,9	144,4	± 2,4	10,0	± 0,6	12,3	± 0,6	28,5	± 0,9	6,5	± 0,5	733,1	± 6,4	365,5	± 3,6	14,1	± 0,7	2,3	± 0,2	
San Gabán	351,9	± 33,9	86,4	± 13,2	277,8	± 41,6	71,0	± 19,5	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	787,0	± 69,3	305,6	± 21,5	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	

Anexo 13. Análisis descriptivo de las localidades de la región Puno.

Distrito	Localidad	<i>Meloidogyne</i>		<i>Helicotylenchus</i>		<i>Mesocriconema</i>		<i>Dorylaimus</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Xiphinema</i>		<i>Hemicyclitophora</i>		Total fitoparásitos		<i>Vida libre</i>		<i>Mononchus</i>		<i>Tylenchus</i>	
		X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE	X	EE
San Juan de Oro	Challuma	269,6 ± 6,6	3,9	16,3 ± 4,8	15,4 ± 3,4	0,0	1,6 ± 0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	397,5 ± 10,3	164,6 ± 6,6	0,0 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
		193,3 ± 10,6	4,9	91,3 ± 4,0	0,0 ± 0,0	26,7 ± 2,5	9,6 ± 1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	456,3 ± 14,6	178,8 ± 10,7	3,8 ± 0,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
		216,3 ± 11,0	5,0	41,3 ± 7,8	0,0 ± 1,7	0,4 ± 0,4	0,8 ± 0,2	2,1 ± 0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	353,8 ± 21,1	234,6 ± 8,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
San Pedro de Putina Puno	Chunchusmayo	401,6 ± 12,8	9,0	208,3 ± 13,3	17,4 ± 2,7	18,5 ± 0,0	0,0 ± 5,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	851,9 ± 23,0	390,0 ± 11,3	0,0 ± 2,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
		195,6 ± 23,3	14,0	92,6 ± 10,8	9,3 ± 4,5	0,0 ± 3,7	39,4 ± 3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	504,6 ± 37,6	273,1 ± 25,1	9,3 ± 6,1	0,0 ± 2,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	420,1 ± 10,3	7,7	88,0 ± 9,3	23,1 ± 0,0	26,6 ± 3,0	18,5 ± 6,4	32,4 ± 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	843,8 ± 26,7	452,5 ± 17,5	42,8 ± 4,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0		
	216,4 ± 20,1	9,1	195,6 ± 10,3	0,0 ± 0,0	10,4 ± 1,2	56,7 ± 4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	714,1 ± 28,5	368,1 ± 18,9	13,9 ± 1,3	0,0 ± 1,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0		
	390,0 ± 25,4	9,9	137,7 ± 31,2	0,0 ± 14,6	5,8 ± 0,0	27,8 ± 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	751,2 ± 52,0	343,8 ± 16,2	4,6 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0		
San Gabán	San Garami	481,5 ± 55,5	34,5	555,6 ± 24,5	0,0 ± 1,7	0,0 ± 2,1	0,0 ± 5,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	122	407,4 ± 60,9	0,0 ± 2,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	Churumayo	314,8 ± 12,0	11,2	0,0 ± 28,4	37,0 ± 10,0	0,0 ± 1,7	0,0 ± 2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	34,4	166,7 ± 4,2	0,0 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	Casahuiri	259,3 ± 26,0	13,3	277,8 ± 22,4	176 ± 5,9	0,0 ± 6,4	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,5	342,6 ± 15,7	0,0 ± 0,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	

Anexo 14. Nódulos en 10g de raíz del cultivo de café para el conteo de individuos juveniles y huevos.

Departamento	Distrito	Sector	Cultivo	Variedad	Coordenadas	Edad	ALTURA (m.s.n.m.)	Especie	Fenotipe esterasa	Incidencia %
Puno	San Juan de Oro	Belén	café	Catimor	19L 04822801 UMT 8426050	8 AÑOS	1360	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Juan de Oro	Yanamayo (Nogalami)	café	Catimor	19L 0482760 UTM 8426016	8 AÑOS	1093	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Juan de Oro	Yanamayo (Nueva esperanza)	café	Catimor	19L 0489054 UTM 8429470	15 AÑOS	1257	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Juan de Oro	Challuma	café	Catimor	19L 0483446 UTM 8428044	2 AÑOS	1227	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Juan de Oro	Challuma	café	Catimor	19L 0483856 UTM 8428753	4 AÑOS	1309	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Juan de Oro	UNA (CIP- UNA)	café	Catimor	19L 0483457 UTM 8428038	8 AÑOS	1370	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Pedro de Putina Punco	Chunchusmayo	café	Catimor	19L 0496818 UTM 8441043	8 AÑOS	888	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Pedro de Putina Punco	Chunchusmayo	café	Catimor	19L 0502803 UTM 8442907	8 AÑOS	841	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Pedro de Putina Punco	Huaranca	café	Typica	19L 0502789 UTM 8442917	10 AÑOS	1030	<i>M. exigua</i>	E2	100

Puno	San Pedro de Putina Punco	Huaranca	café	Typica 19L 0502789 UTM 8442917	8 AÑOS	1130	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Pedro de Putina Punco	Santa fe	café	Typica 19L 0497192 UTM 8438972	8 AÑOS	1339	<i>M. exigua</i>	E2	100
Puno	San Pedro de Putina Punco	Santa fe	café	Typica 19L 0496002 UTM 8439620	16 AÑOS	1113	<i>M. exigua</i>	E2	100