

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS**

**"CARACTERIZACION PATOGENICA Y DETERMINACION ESPECIFICA
DE CINCO POBLACIONES DE Meloidogyne spp. EN Coffea arabica L. VARIEDAD CATUAI"**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

AMAURI RENDOLFO MOLINA ALVAREZ

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

Guatemala, octubre de 1996.

**PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central**

01
T(1634)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. JAFETH ERNESTO CABRERA FRANCO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. JOSE ROLANDO LARA ALECIO
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr. JUAN JOSE CASTILLO MONT
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Agr. WILLIAM ESCOBAR LOPEZ
VOCAL TERCERO:	Ing. Agr. CARLOS ROBERTO MOTTA
VOCAL CUARTO:	P. Agr. HENRY ESTUARDO ESPAÑA
VOCAL QUINTO:	Br. MYNOR JOAQUIN BARRIOS OCHAETA
SECRETARIO:	Ing. Agr. GUILLERMO E. MENDEZ B.

Guatemala, octubre de 1,996.

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente.

Distinguidos Señores:

De conformidad con las normas establecidas por la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a consideración de ustedes, el trabajo de tesis titulado:

"CARACTERIZACION PATOGENICA Y DETERMINACION ESPECIFICA DE CINCO POBLACIONES DE Meloidogyne spp. EN Coffea arabica L. variedad CATUAI".

Presentándolo como requisito previo a optar por el título profesional de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el presente trabajo de investigación merezca su aprobación, me es grato presentarles las muestras de mi más alta consideración.

Respetuosamente,


Amauri Rendón Molina Álvarez.

ACTO QUE DEDICO

A: DIOS LUZ QUE GUIA MI CAMINO

**MIS PADRES GUILLERMO A. MOLINA ESCOBAR
 MARILI ALVAREZ DE MOLINA**

MI HERMANA NELLY B. MOLINA DE SOLIS

MI ESPOSA MONICA PORTILLO DE MOLINA

**MIS HIJAS SARA MARIA MOLINA PORTILLO
 MONICA SOFIA MOLINA PORTILLO**

**MIS SOBRINOS HUGO ALFONSO SOLIS MOLINA
 JOSUE MANUEL SOLIS MOLINA**

MI FAMILIA EN GENERAL

TESIS QUE DEDICO

A:

MI PATRIA GUATEMALA

ALDEA ACEQUIA, EL PROGRESO, JUTIAPA

LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

LA FACULTAD DE AGRONOMIA

LA ASOCIACION NACIONAL DEL CAFE -ANACAFE-

LA CAFICULTURA NACIONAL

AGRADECIMIENTOS

A:

Dr. Francisco Anzueto

Por su apoyo y conocimientos aportados
en el desarrollo de la presente investigación.

Ing. Agr. Nematólogo Luc Villain

Ing. Agr. M Sc. Juan Carlos Toledo

ing. Agr. M Sc. Edil Rodriguez

Por su desinteresada colaboración en la
revisión y corrección de la presente
investigación.

PROMECAFE/IICA

ASOCIACION NACIONAL DEL CAFE -ANACAFE-

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCION.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
3. MARCO TEORICO.....	3
3.1 El Cafeto y su cultivo.....	3
3.1.1 Las especies de café cultivadas.....	3
3.1.2 Aspectos Agronómicos del cultivo de café.....	4
3.2 Nematodos parásitos del café.....	6
3.3 Nematodos del género <u>Meloidogyne</u> spp.....	6
3.3.1 Daños que provocan las principales especies de <u>Meloidogyne</u> spp... ..	8
3.3.2 Ciclo biológico de <u>Meloidogyne</u> spp.....	9
3.3.3 Síntomas Primarios.....	11
3.3.4 Síntomas Secundarios.....	11
3.3.5 Importancia Económica.....	12
3.3.6 Patogenicidad.....	12
3.3.7 Razas Fisiológicas.....	13
3.3.8 Criterios para la identificación de especies.....	14
4. MARCO REFERENCIAL.....	17
4.1 Región del Suroccidente.....	17
4.2 Región de la Costa Sur.....	18
4.3 Región Norte.....	18
5. OBJETIVOS.....	20
6. HIPOTESIS.....	20
7. METODOLOGIA.....	21
7.1 Obtención del inóculo.....	21
7.2 Preparación del suelo.....	23
7.3 Incremento del inóculo.....	23
7.4 Recuperación y Cuantificación del inóculo reproducido.....	23
7.5 Inoculación de las poblaciones en plantas de la var. Catuai.....	24
7.6 Variables Estudiadas.....	25
7.7 Análisis de variables.....	26
7.8 Análisis de variables cualitativas.....	27
7.9 Métodos para la determinación de especies.....	28
7.9.1 Estudio Mediante la Morfología Perineal de Hembras.....	28
7.9.2 Análisis de isoesterasas.....	28
8. RESULTADOS Y DISCUSION.....	29
8.1 Variables vegetativas.....	29
8.1.1 Altura de plantas.....	29
8.1.2 Peso raíz de las plantas.....	31
8.1.3 Peso foliar de las plantas.....	32
8.2 Variables cualitativas de daño a las plantas.....	34
8.2.1 Vigor vegetativo de plantas.....	34

8.2.2 Índice de daño de raíces.....	35
8.3 Variables de reproducción.....	36
8.3.1 Reproducción del nematodo y número de masas de huevos.....	36
8.4 Determinación específica de las poblaciones.....	39
8.4.1 Caracterización taxonómica mediante isoenzimas.....	39
8.4.2 Caracterización taxonómica mediante morfología perineal de hembras.....	40
9. CONCLUSIONES.....	42
10. RECOMENDACIONES.....	43
11. BIBLIOGRAFIA.....	44
12. ANEXOS.....	49

CUADROS

Cuadro 1. Distribución geográfica de <i>Meloidogyne</i> en café.....	7
Cuadro 2. Datos climáticos promedio año 95 de áreas de colecta.....	21
Cuadro 3. Resultados de Análisis químico de fertilidad de suelo según el laboratorio de suelos de ANACAFE.....	23
Cuadro 4. Calculos previos a análisis de covarianza.....	29
Cuadro 5. ANCOVA para la variable altura final de plantas.....	29
Cuadro 6. Prueba de medias para altura final de plantas.....	30
Cuadro 7. ANDEVA para la variable peso de raíz.....	31
Cuadro 8. Prueba de medias para la variable peso de raíz de plantas.....	32
Cuadro 9. ANDEVA de la variable peso foliar.....	32
Cuadro 10. Prueba de medias para la variable peso foliar de las plantas.....	33
Cuadro 11. Análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis y prueba de rangos de Mann & Whitney para la variable vigor vegetativo de plantas.....	34
Cuadro 12. Análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis y prueba de rangos de Mann & Whitney para la variable índice de daño de raíces.....	35
Cuadro 13. ANDEVA de número de masas por gramo de raíz.....	37
Cuadro 14. Presentación de medias del número de masas por gramo de raíz.....	37
Cuadro 15. ANDEVA de la cuantificación final de nematodos.....	37
Cuadro 16. Presentación de medias del número de huevos y J2 por gramo de raíz.....	38
Cuadro 17. Perfil electroforético de enzimas para las diferentes poblaciones..	39

FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Meloidogyne</i> spp.....	10
Figura 2. Fenotipos específicos de Malato deshidrogenasa (MDH) y de esterasas (EST) para nueve especies de <i>Meloidogyne</i>	16
Figura 3. Distribución geográfica de nematodos por departamento en Guatemala.....	22

Figura 4. Comparación entre la altura final de plantas inoculadas con las poblaciones y el testigo.....	31
Figura 5. Comparación de peso de raíz, peso foliar y peso total de las plantas inoculadas con las poblaciones y el testigo.....	33
Figura 6. Comparación entre el vigor vegetativo e índice de daño de las plantas inoculadas con las poblaciones y el testigo.....	36
Figura 7. Comparación entre el número de masas de huevos y número final de nematodos.....	38

“CARACTERIZACION PATOGENICA Y DETERMINACION ESPECIFICA DE CINCO POBLACIONES DE Meloidogyne spp. EN Coffea arabica L. VARIEDAD CATUAI”

“PATHOGENIC CHARACTERIZATION AND SPECIFIC DETERMINATION OF FIVE Meloidogyne spp. POBLATIONS ON Coffea arabica L. CATUAI CULTIVAR”

RESUMEN

Los programas de selección de cultivares resistentes y/o tolerantes de Coffea spp. para el control de nematodos del género Meloydogine spp., originaron la necesidad de conocer la biodiversidad de este género en las zonas cafetaleras del país. Con este propósito se seleccionaron 5 poblaciones de diferentes áreas cafetaleras, con el fin de realizar su caracterización patogénica y determinación específica.

La selección de las poblaciones se realizó de acuerdo a los archivos de diagnóstico del Laboratorio de nematología de ANACAFE, tomando 5 fincas distribuidas dentro del área cafetalera del país, las cuales presentaron los mayores daños ocasionados por Meloidogyne spp. y que se nombran a continuación: 1. Finca Elvira, San Francisco Zapotitlán, Suchitépéquez; 2. Finca Don Bosco, Santa Cruz, Alta Verapaz; 3. Finca Panorama, San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos; 4. Finca los Manaques, Colomba Costa Cuca, Quetzaltenango y 5. Finca Providencia, Palín, Escuintla.

La evaluación se llevó a cabo en La Finca Buena Vista, San Sebastián, Retalhuleu, en condiciones de invernadero. La metodología consistió en la colecta de las poblaciones, incremento de las poblaciones mediante su multiplicación en tomate, recuperación del inóculo incrementado y su inoculación en plantas de Coffea arabica L. var. catuai. La inoculación se realizó cuando las plantas de café presentaron su primer par de hojas verdaderas bien desarrolladas, con 2000 huevos de nematodo por planta y la toma de datos de las diferentes variables se realizó 90 días después de la inoculación. Al mismo tiempo en que se realizó la inoculación en las plantas de café, del inóculo de las poblaciones recuperado de las plantas de tomate, se realizaron montajes de diseños perineales y se enviaron junto con masas de huevos a los laboratorios de nematología del CIRAD-ORSTOM de Montpellier, Francia para

su determinación específica por medio de perfiles isoenzimáticos y por medio de comparación de diseños perineales.

De acuerdo a la evaluación realizada se encontró que las cinco poblaciones presentan un elevado y similar grado de patogenicidad sobre cafetos de la variedad Catuai de Coffea arabica L.. La estrecha base genética que tienen las variedades comerciales de Coffea arabica L. permite suponer que la patogenicidad observada sería igualmente alta en cualquier otra variedad de esta especie de café.

El estudio de determinación específica mediante perfiles isoenzimáticos reveló la existencia de dos grupos diferentes: Meloidogyne mayaguensis Rammah & Hirschmann, para la población Don Bosco, y un segundo grupo que corresponde a un nuevo patrón enzimático, que podría tratarse de una nueva o nuevas especies para las otras cuatro poblaciones estudiadas. Este nuevo hallazgo viene a modificar los señalamientos anteriores que solamente hacían mención de Meloidogyne exigua Goeldi y Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, como especies predominantes en el cultivo de café.

Resultados diferentes obtenidos de nuevas asociaciones enzimáticas, revelan biodiversidad entre las poblaciones estudiadas sugiriendo la existencia de razas o subespecies, sin que al momento sean determinantes debido al poco tiempo de estudio de estas asociaciones.

El estudio de comparación de diseños perineales confirmó la determinación isoenzimática de Meloidogyne mayaguensis Rammah & Hirschmann, para la población de Don Bosco, mientras que las otras poblaciones manifestaron facetas parecidas a Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, pero con ciertas variantes.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio se recomienda seguir con los estudios de caracterización de otras poblaciones de Meloidogyne spp. de otras áreas cafetaleras, con el fin de llegar a conocer la biodiversidad existente de este género en el cultivo de café.

1. INTRODUCCION

El café es el producto agrícola de exportación más importante, actualmente ocupa el segundo lugar en el comercio mundial después del petróleo. Según Charrier (11), la producción total de café sobrepasa los cuatro millones de toneladas; de los cuales un poco más del 70% proviene de Coffea arabica L. y el 30% restante de Coffea canephora Pierre.

Para los países productores como Guatemala, la caficultura juega un papel muy importante desde el punto de vista económico y social, aportando según datos de registro de ANACAFE (1993 a 1994) un 21% del total de ingresos de divisas.

La producción de café, posee numerosos problemas de plagas y enfermedades, entre los cuales, los nematodos son uno de los más importantes, provocando según Sasser (53), una disminución del 10% de la producción en México, Centro América y El Caribe, principalmente a causa de Meloidogyne spp. género cuyas características de infección, diseminación y persistencia hacen necesario un mejor conocimiento de las especies existentes y de sus diferentes niveles de patogenicidad sobre el cafeto. Esta información básica tendría aplicación en los programas de control y en el desarrollo de cultivares resistentes.

Partiendo de la importancia que presenta el ataque de nematodos en Guatemala, el presente estudio contempla la caracterización patogénica y determinación específica de cinco poblaciones de Meloidogyne spp. distribuidos geográficamente dentro del área productora de café más importante del país, estudio necesario previo al inicio de pruebas de resistencia de materiales de Coffea spp.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Entre los géneros de nematodos de mayor importancia como parásitos del cultivo de café en Guatemala tenemos a Pratylenchus spp. y Meloidogyne spp.. Este último, presentando mayores dificultades para su control con cultivares resistentes, debido a su biología con un estadio adulto hembra endoparásito sedentario y con un gran potencial de reproducción, características que hacen que el control químico tenga poca eficiencia sobre este parásito. Este hecho y la importancia de conservar el medio ambiente, hace necesario proponer alternativas económicas al productor como la utilización de germoplasma resistente para el control de este nematodo. Sin embargo, la alta capacidad reproductiva y partenogenética de este nematodo hace posible y rápida la diferenciación de razas fisiológicas con posibles diferencias en cuanto a su patogenicidad contra sus hospederos.

Los diferentes grados de patogenicidad entre poblaciones de Meloidogyne spp. pueden reducir la utilidad de materiales de café definidos como resistentes frente a determinada(s) especie(s) o poblaciones de nematodos. Esto indica el imperativo que previo al inicio de programas de evaluación de resistencia de materiales de Coffea, se tenga definido el grado de patogenicidad, la especie y la existencia, o no, de razas fisiológicas de Meloidogyne spp. en las diferentes zonas cafetaleras del país, estudios no efectuados a la fecha no obstante su importancia dentro del marco de los programas de mejoramiento orientados a la solución del problema nematodos.

3. MARCO TEORICO

MARCO CONCEPTUAL

3.1. EL CAFETO Y SU CULTIVO

3.1.1. LAS ESPECIES DE CAFE CULTIVADAS

Los cafetos del género Coffea spp. pertenecen a la familia de las Rubiaceas, todas de origen africano o malgache. Actualmente son conocidas más de cien especies de Coffea, de las cuales básicamente dos son las cultivadas, Coffea arabica L. y Coffea canephora Pierre. Aproximadamente 75 % de la producción mundial corresponde a Coffea arabica L.

Coffea arabica L. menciona Charrier (11), es la única especie tetraploide y autógama, con una tasa de polinización cruzada que varía entre 5 y 20%. El centro de diversificación de Coffea arabica L. se ubica en zona de altitud de 1500 m. a 2500 m. en el bosque inferior de la montañas del Sur oeste de Etiopía. Fue introducido y cultivado en Yemen a partir del siglo XIV. La expansión mundial del cultivo de Coffea arabica L. fue realizado a partir de los cafetos de Yemen. Se llevó en el siglo XVII a India y Ceylan, luego a Indonesia en la Isla de Java. Este material de Java se trasladó al Jardín Botánico de Amsterdam -una sola planta- e introducido en Surinam, la Guyana Francesa y el Jardín Botánico de París. En la misma época señala Carvalho (8), un segundo origen yemenita fue introducido a la isla Reunión, antiguamente llamada Bourbón de la cual esta variedad tomó su nombre, luego se llevó al Brasil a mediados del siglo XIX. Es a partir de estos dos orígenes bien identificados de Coffea arabica L. que el cultivo del cafeto se extendió en América. Como consecuencia, menciona Charrier (11), prácticamente todas las variedades de Coffea arabica L. cultivadas en nuestro continente poseen una base genética muy estrecha. Esto ha sido demostrado con la dispersión de la Roya Anaranjada (Hemileia vastatrix Berk et Br.) en los países latinoamericanos desde 1970, donde esta enfermedad ataca prácticamente a todas las variedades de Coffea arabica L. cultivadas. En lo que respecta a los nematodos se constata una situación análoga, o sea, una susceptibilidad generalizada de los "Arábicas" cultivados en América frente a estos parásitos. Campos, (7); Gonçalves, (25); Schieber, (56).

La especie Coffea canephora Pierre, como todas las otras especies silvestres de Coffea es diploide y estrictamente auto-incompatible, por lo tanto, las descendencias de Coffea canephora Pierre, provienen de fecundaciones cruzadas y manifiestan un importante polimorfismo.

Berthaud citado por Anzueto (1), menciona que según los análisis de diversidad genética de Coffea canephora Pierre provenientes de poblaciones silvestres y tomados en el área de repartición de esta especie en Africa, demuestran que existe al interior de la especie, dos grupos principales: el grupo "Guineense" y el grupo "Congolés".

Según Shieber y Zentmyer (58) los daños provocados por la roya anaranjada en las plantaciones de Coffea arabica L. en Ceylan e Indonesia a finales del siglo XIX así como los problemas de su aclimatación en regiones tropicales de baja altitud, fomentan el cultivo de algunas especies silvestres de Africa, como Coffea canephora Pierre, cuyo producto comercial es conocido como café Robusta, su cultivo es relativamente reciente, un siglo aproximadamente. Chitwood y Berge (13) y Schieber y Sosa (55) mencionan que dentro de las especies diploides, el café Robusta se impone por su adaptación a baja altitud, vigor, productividad y resistencia a la roya anaranjada y posteriormente en Centro América se ha demostrado su resistencia a nematodos.

El cultivo comercial de otras especies de Coffea es insignificante. Coffea liberica Bull, aun es cultivada en ciertas regiones africanas y del sudeste asiático. Algunos autores señalan que esta especie puede tener resistencia tanto a nematodos como a cochinillas de las raíces del cafeto. Eskes, (20), García, (21).

3.1.2. ASPECTOS AGRONOMICOS DEL CULTIVO DEL CAFETO.

En esta parte solo se discutirán algunos aspectos técnicos que pudieran relacionarse con los problemas ocasionados por nematodos.

La germinación de la semilla en el semillero tarda entre 40 y 60 días, en la fase de "soldadito" o "mariposa" son generalmente transplantadas a bolsas de polietileno llenas de

tierra preparada; establecido el almácigo o vivero, las plantas van a permanecer de 6 a 12 meses. Posteriormente serán plantadas en campo definitivo, teniendo como objetivo generalmente, renovar una antigua plantación. Muchas veces se establecen entre cafetales adultos que van a arrancarse progresivamente en el tiempo. La densidad de siembra en una nueva plantación se sitúa entre 3,500 y 5,000 plantas por hectárea. En el caso del pequeño productor es común encontrar cultivos asociados (Musas, cítricos, ...).

El ciclo productivo del cafeto se inicia entre el segundo y tercer año. Varios años después la operación esencial será la poda, buscando la producción máxima de tejido nuevo y la eliminación de la madera improductiva. Los cafetos producen más a pleno sol, pero esta productividad debe sostenerse con aporte de fertilizantes. En nuestro medio las malezas se desarrollan abundantemente, utilizándose en alternancia herbicidas y control mecánico. Actualmente se estima que la vida económicamente productiva de una plantación se ubica entre 20 y 30 años, al término de los cuales se replantará generalmente con café.

Los nematodos asociados al cafeto son igualmente parásitos de algunas especies de árboles de sombra y de malas hierbas presentes en los cafetales. García (21), Calderon-Vega (6), Lordello (37).

Campos (7), menciona que tanto las plantitas de semillero como de almácigo son muy susceptibles a nematodos, las medidas de control preventivo son indispensables en esta fase inicial, en almácigo debe controlarse el agua de riego ya que podría estar contaminada por nematodos. Estos aspectos son a menudo despreciados, siendo según Arango, *et al.* (2) y Gonçalves *et al.* (24), sin duda el transporte de plantas de almácigo infestadas por nematodos la principal causa de su diseminación.

Por otro lado menciona Miguel *et al.* (41), la poda de la parte aérea de cafetos adultos conlleva una importante reducción de la masa radicular, en plantas recepadas ésta es del orden del 84%. La relación entre el nivel poblacional de nematodos y una masa radicular significativamente reducida provocaría un impacto más fuerte del parásito sobre la planta. Esto coincide con algunas observaciones de campo que muestran una mala respuesta a la poda en áreas donde prevalecen nematodos muy agresivos.

3.2. NEMATODOS PARASITOS DE CAFE.

Jobert (31) en 1878, descubrió en Brasil cafetos afectados por nematodos parasíticos, más tarde Goeldi (23) en 1887, identificó el nematodo encontrado por Jobert, el nematodo era la causa de la enfermedad que denominaban "enfermedad de araracura", debido al agallamiento producido en las raíces.

Zimmerman (63), veinte años más tarde demostró los efectos de patogenicidad de los nematodos que producen lesiones en las raíces. Rahm (46), reporta en 1929 a Meloidogyne exigua Goeldi, en Sao Paolo, Brasil. Salas y Echandi (48), reportaron en 1960 el mismo nematodo en Costa Rica, República Dominicana y Venezuela.

Shieber (57), reveló en Guatemala la existencia de nematodos parasíticos en café, encontrándose a dos géneros como responsables del daño, Meloidogyne exigua Goeldi, como responsable de las agallas en raíces y Pratylenchus coffeae Zim. como responsable de las lesiones en raíces. Taylor y Sasser (59), mencionan que entre los nematodos que afectan el cafeto, Meloidogyne spp. es el de mayor distribución geográfica en relación a cualquier otro grupo de nematodos parasíticos, lo cual coloca este género de nematodos entre los patógenos más importantes que afectan la producción de café.

3.3. LOS NEMATODOS DEL GENERO Meloidogyne spp.

Son endoparásitos sedentarios, polífagos, ampliamente distribuidos en el mundo y que provocan grandes pérdidas en la agricultura. Chitwood (13) separa la especie Heterodera marioni Goeldi del género Heterodera y lo convierte en un género distinto denominado Meloidogyne, él describe a Meloidogyne exigua Goeldi, como la especie "tipo". La mayoría de las especies se reproduce por partenogénesis.

Los Meloidogyne provocan la formación de agallas sobre las raíces que parasitan, por lo cual pueden identificarse fácilmente. En caso de fuerte ataque las agallas pueden invadir todo el sistema radicular. Los cafetos infestados muestran por un lado una falta de vigor seguido de clorosis y defoliación, y por otro una mayor sensibilidad a situaciones climáticas como la sequía. Arruda y Reiss (3) señalan que Meloidogyne incognita (Kofold & White)

Chitwood, puede provocar una disminución del 30% en la altura de las plantas, y una baja del 50% en la producción en las dos primeras cosechas.

En las raíces de Coffea arabica L. menciona Lordello (37) y Witthehead (62), se pueden encontrar varias especies del género Meloidogyne spp.. Por lo menos menciona Campos et al (7) 13 diferentes especies han sido descritas en el mundo en asociación con el cafeto. (ver cuadro 1)

Cuadro 1. Distribución Geográfica Mundial de especies de Meloidogyne spp. en café. Campos et al. (7).

ESPECIE	PAISES
<u>Meloidogyne incognita</u>	Brasil, Tanzania, Jamaica, Venezuela, Guatemala, Costa de Marfil, India.
<u>Meloidogyne exigua</u>	Brasil, Guatemala, República Dominicana, Nicaragua, Costa Rica, Puerto Rico, Colombia, Perú, El Salvador, Venezuela, Bolivia.
<u>Meloidogyne coffeicola</u>	Brasil.
<u>Meloidogyne javanica</u>	Brasil, Tanzania, Zaire, El Salvador, India.
<u>Meloidogyne hapla</u>	Brasil, Tanzania, Zaire, India
<u>Meloidogyne africana</u>	Kenia, Zaire.
<u>Meloidogyne decalineata</u>	Tanzania, Sao Tomé.
<u>Meloidogyne kikuyensis</u>	Tanzania.
<u>Meloidogyne arenaria</u>	Jamaica.
<u>Meloidogyne megadora</u>	Angola, Uganda.
<u>Meloidogyne inomata</u>	Guatemala.
<u>Meloidogyne oteifae</u>	Zaire.
<u>Meloidogyne thamesi</u>	India.

Las más citadas según Lordello (37) son Meloidogyne exigua Goeldi, Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, y Meloidogyne coffeicola Lordello & Zamith.

Recientemente una nueva especie ha sido señalada por Lopez (34) parasitando al cafeto en Costa Rica, se trata de Meloidogyne arabicida Lopez & Salazar.

3.3.1. DAÑOS QUE PROVOCAN LAS PRINCIPALES ESPECIES DE Meloidogyne spp.

Meloidogyne exigua Goeldi, es la especie más comúnmente citada como nematodo fitoparásito del cafeto en Latinoamérica. Jobert (31) ya había indicado que los nematodos eran responsables del agotamiento y muerte de cafetos en una región del Brasil. Goeldi (23) haría la descripción formal de la especie algunos años más tarde. Según Lopez (34) esta especie provoca la formación de agallas "redondeadas" típicas y la masa de huevos se desarrolla al interior de la epidermis de las raíces. En general no hay una destrucción de las raíces ni mortalidad de las plantas. Contrariamente las plantas de almácigo contaminadas menciona Gonçalves (25) pueden expresar en el campo una reducción de crecimiento y defoliación, seguido de un marchitamiento severo en la época seca. Con la utilización de plántulas sanas a la salida del almácigo y un adecuado manejo de las plantaciones, la presencia de este nematodo en campo afecta generalmente muy poco a la producción. Sin embargo cuando los cafetos son plantados en suelos arenosos o degradados, o bajo condiciones de deficiencia hídrica, los daños pueden ser significativos.

Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, fue señalado por primera vez como parásito de cafeto en Guatemala por Chitwood y Berger (13). Diez años después Lordello y Mello Filho (36) indican su presencia en Brasil, país donde este nematodo provoca grandes daños sobre el cafeto. En campo señala Lordello (35), las raíces parasitadas presentan una fuerte destrucción de los tejidos corticales, las plantas contaminadas se agotan paulatinamente, llegando a morir. Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, es un factor extremadamente limitante para el establecimiento de nuevas plantaciones, así como para el manejo de los cafetales contaminados. Esta especie es por lo tanto según Moraes y Lordello (43), considerada como más patógena que Meloidogyne exigua Goeldi. Siendo los tratamientos nematicidas según Curi *et al.* (10) poco eficaces contra Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood.

Meloidogyne coffeicola Lordello & Zamith, fue descrita en Brasil en 1960, no se tiene información sobre su presencia en otros países, aún en Brasil su distribución es limitada. Este nematodo provoca igualmente la destrucción de tejidos corticales de las raíces, sin observarse la formación de agallas. Lordello y Zamith (35).

Meloidogyne arabicida Lopez & Salazar, es nueva especie descrita en Costa Rica, está asociada con la degeneración de las raíces del cafeto, pudiendo llegarse a la muerte de las plantas en pocos años. Las raíces principales y la pivotante menciona Sarah, (50) presentan agallas gruesas de apariencia "corchosa" que son rápidamente destruidas.

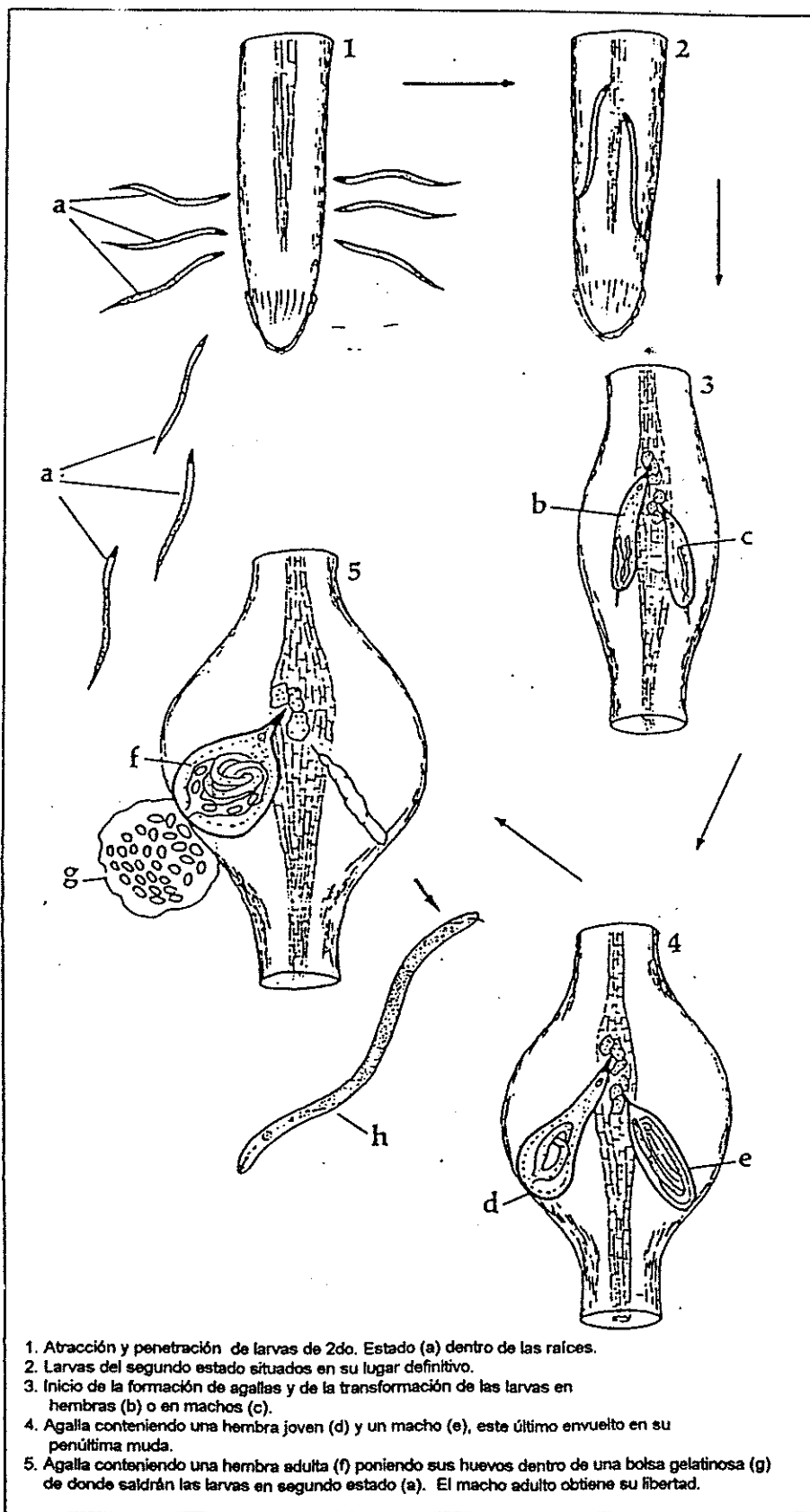
Calderon-Vega (6), señala la presencia de hongos de los géneros Fusarium, Cylindrocladium y Phialophora en asociación con el nematodo Meloidogyne arabicida Lopez & Salazar, como responsables de la degeneración de los cafetos.

3.3.2. CICLO BIOLÓGICO DE Meloidogyne spp.

De acuerdo a Boneti (5), los nematodos del género Meloidogyne son endoparásitos sedentarios. Su ciclo biológico, comprende una fase preparasitaria y una fase parasitaria (figura 1). La sucesión de estados preparasitarios, comienza con la postura de huevos en el interior de las raíces dentro de una sustancia gelatinosa. Según Méndez et al. (40), rara vez son depositados fuera de las raíces.

Dentro del huevo menciona Boneti (5), el embrión se desarrolla hasta formar la larva del primer estadio "J1" éste ya con el estilete formado. La eclosión del huevo se realiza después de que el nematodo ha alcanzado su segundo larvario "J2" y constituye el único estado móvil e infectivo del género.

De acuerdo a Méndez et al. (40), la larva se moviliza dentro del suelo, penetra la raíz con su estilete y se desplaza intracelularmente en el interior de la raíz; al cabo de corto tiempo el nematodo se encuentra rodeado de células gigantes, fijado nivel del sistema vascular, en donde se forman las agallas; en este estado se inicia la etapa parasitaria del nematodo, la cual se caracteriza por la inmovilización de los mismos.



**FIGURA 1 : CICLO BIOLÓGICO DE Meloidogyne spp.
DEGURAN 1983.**

Inguza (28), los adultos no aparecen más, hasta después que se da un nuevo estado larvario; la mayor parte de progenie de nematodos de éste género son hembras y la reproducción es de forma partenogenética. El sexo en el segundo estado larvario del nematodo, es indeterminado y se determina de acuerdo a las condiciones de desarrollo. Cuando las condiciones son desfavorables es muy frecuente la desviación hacia el sexo masculino (reversión sexual). Taylor y Sasser (59), observaron que la reproducción de nematodos del género *Meloidogyne* sin macho parece ser regular y normal. Por aislamientos repetidos, una familia se desarrolló por 12 generaciones en ausencia de machos, las hembras depositan sus huevos y se reproducen normalmente.

De acuerdo a Lima (32), la duración del ciclo biológico de *Meloidogyne* oscila entre 32 y 42 días a temperaturas entre 25° y 30° grados centígrados.

3.3.3. SINTOMAS PRIMARIOS.

Lordello (37) menciona que la formación de agallas es un síntoma típico del ataque de nematodos del género *Meloidogyne*. De acuerdo a Deguran y Netcher (16), tan pronto como los nematodos penetran la raíz, la larva del segundo estado larval (j2), provoca la hipertrofia de las células corticales a causa de una secreción expulsada a través del estilete, seguidamente se desplaza a la zona vascular, en donde se inmoviliza, las células se agrandan al mismo tiempo que sus núcleos se dividen por mitosis, las membranas desaparecen y se van uniendo las células adyacentes, dando lugar a la formación de células gigantes polinucleadas lo cual se conoce como **syncytium**.

3.3.4. SINTOMAS SECUNDARIOS.

Gonçalves *et al.* (24), menciona como síntoma de las raíces infestadas de nematodos, la baja capacidad de las plantas, por lo que se desarrollan síntomas similares a los de falta de nutrimento.

Como resultado menciona Lordello (37), las plantas afectadas muestran síntomas de deficiencia de zinc y nitrógeno con hojas amarillentas y plantas poco desarrolladas, en algunos

casos se observa la caída prematura de las hojas. En general todos los síntomas mostrados por la planta, conducen a la disminución de la producción de la planta.

3.3.5. IMPORTANCIA ECONOMICA DE LOS DAÑOS PROVOCADOS POR Meloidogyne spp.

Campos (7), menciona que el mayor reporte de daños producidas por Meloidogyne proviene de Brasil, en donde por más de 100 años, se producen daños de tal grado que se hace necesario el abandono del cultivo de café. Según estimación de Lordello (37) la reducción en la producción de café en Brasil debido a nematodos deja un 20% de pérdidas y del total, las especies de Meloidogyne spp. son responsables del 15%.

Según Girón (22), en Guatemala en la región cafetalera de los departamentos de San Marcos y Quetzaltenango ubicados en la zona sur-occidente de Guatemala de 117,031 Mz. cultivadas 899 Mz. se pierden a causa del ataque de nematodos.

3.3.6. PATOGENICIDAD.

Bauer (4), expresa que los nematodos se consideran como fitopatógenos debido a que como respuesta al daño que ocasionan, las plantas presentan síntomas similares a los del ataque por agentes infecciosos. La patogenicidad, expresa la misma autora, es la habilidad de un agente para causar enfermedad, que resulta de una serie de eventos desde la infección hasta el desarrollo del patógeno dentro de la planta y la subsecuente producción de síntomas. Mientras tanto la virulencia la define como el grado de patogenicidad de un agente causal dado. Por lo cual, grado de patogenicidad y virulencia son términos que se encuentran utilizados de la misma manera en la diferente literatura.

Lordello (38) menciona que, en el cultivo del café se tienen pocas referencias de los grados de patogenicidad de poblaciones de Meloidogyne spp., la mayor cantidad de estos reportes vienen de Brasil, donde se han evidenciado la existencia de diferentes razas dentro de Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood.

Curi et al. (10), efectuaron observaciones en cafetales de Brasil infestados por distintas poblaciones de Meloidogyne y en el estudio una de ellas inducía a la formación de agallas bien

desarrolladas o fuertes engrosamientos en la raíz que constituían un problema, mientras otras dos poblaciones no inducían agallas, pero una de ellas produjo rajaduras y hendiduras en las raíces de mayor diámetro por lo que resultó mas nociva que las otras dos.

Macedo (39), observó dos poblaciones de Meloidogyne exigua Goeldi en Brasil que mostraban diferentes grados de patogenicidad. Las plantas atacadas por una de éstas, presentaban raíces bastante ramificadas, con muchas agallas de diámetro pequeño. La otra indujo sistemas radicales poco ramificadas sin agallas, las cuales se tomaron quebradizas, presentaban necrosis y desprendimiento cortical; concluyendo en que las poblaciones son fisiológica y genéticamente diferentes.

Lopez (33) trabajó con poblaciones de Meloidogyne exigua Goeldi, recolectadas en dos localidades de Costa Rica y encontró que una de ellas se reprodujo poco en tomate mientras otra se reprodujo muy bien en este hospedante. Notó además diferencias morfológicas entre los machos de ambas poblaciones, así como distintos patrones enzimáticos.

Morera (44), Trabajó con tres poblaciones de Meloidogyne exigua Goeldi, en cafetos de la variedad Catuai y encontró diferentes niveles de daño en las plantas, concluyendo que esta especie está compuesta por varias razas.

3.3.7. RAZAS FISIOLÓGICAS.

De acuerdo con Zuckerman, Mitchel et al. y Triantaphillou, citados por Toledo (60), la especialización es un fenómeno inherente a la vida. Por lo tanto, deben esperarse diferencias en biología, fisiología y requerimientos ecológicos entre poblaciones de una misma especie de diferente origen geográfico y habitats. Estas variaciones dentro de una misma especie, son comúnmente llamadas "razas fisiológicas" las cuales no representan (o muy pocas) diferencias morfológicas entre sí, no obstante que son diferentes en su biología o en su capacidad patogénica a determinadas plantas. Sasser (51) define las razas, biotipos o patotipos de nematodos, como aquellas poblaciones dentro de una especie que son morfológicamente indistinguibles y que reaccionan diferentemente sobre una planta dada, esta definición surge

de varias especies vegetales ante poblaciones de una misma especie, con distintas procedencias.

Sasser (52) menciona que los cambios en el grado de patogenicidad o el desarrollo de nuevas razas, ocurre algunas veces cuando los cultivares resistentes son sembrados repetidamente en suelos infestados. Tal hecho reduce la utilidad y hace evidente la necesidad de que el fitomejorador tenga un buen conocimiento de la variación patogénica entre poblaciones.

3.3.8. CRITERIOS PARA LA IDENTIFICACION DE LAS ESPECIES DE Meloidogyne spp.

La identificación rigurosa de una población de nematodos presenta gran interés para los estudios fundamentales sobre las relaciones huesped-parásito, y también para el desarrollo y utilización de variedades vegetales resistentes.

De acuerdo a Netscher (45), dentro del género Meloidogyne spp. uno de los principales criterios utilizados hasta los últimos años ha sido la morfología del patrón perineal de la hembra, existiendo sin embargo una gran variabilidad al interior de la descendencia de una sola hembra para este carácter, lo que limita el valor de este criterio y hace incierta la identificación de las especies. Más recientemente el microscopio electrónico de barradura a permitido evidenciar ciertos caracteres específicos en la región cefálica de los estados juveniles, hembras y machos adultos, sin embargo su interpretación demanda un alto nivel de conocimiento y el método es muy trabajoso para el estudio de numerosas poblaciones.

De acuerdo a Eisenback (18), entre los caracteres morfológicos, los modelos perineales de las hembras y la forma de la cabeza de los machos parecen ser los caracteres más relevantes. Los detalles más útiles del diseño perineal pueden ser apreciados mejor en un microscopio electrónico, pero debido a que no todos cuentan con este para llevar a cabo los estudios, se pueden utilizar claves pictóricas de diseños perineales para interpretar lo observado en un microscopio óptico. Dentro de los detalles de relevancia en la morfología perineal de hembras se toman en cuenta: Término de la cola, fasmidia, arco dorsal, línea lateral, puntuaciones, ano, vulva y estrías.

Otro criterio utilizado para la diferenciación intra e inter-específica es el uso de huéspedes diferenciales, el cual fue utilizado por Sasser (53), pero en el caso de mezcla de especies el sistema es poco práctico.

Recientes trabajos han mostrado el interés en nematología de la caracterización de especies por medio del análisis de sus sistemas de isoenzimas. Los primeros estudios en *Meloidogyne* fueron realizados por Hussey *et al.* (27), pero fue necesaria señalar Dalmaso y Berge (15), la miniaturización de las técnicas para obtener perfiles isoenzimáticos individualizados. Con la utilización de este método, Dalmaso y Berge (15) y Janati (30) estudiaron numerosos sistemas isoenzimáticos con hembras tomadas individualmente, demostrando que las isoesterasas permitían una identificación precisa de las especies *Meloidogyne incognita* (Kofold & White) Chitwood, *Meloidogyne javanica* (Treubl.) Chitwood, *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood y *Meloidogyne hapla* Chitwood.

Entre los estudios realizados reporta Janati (30), existen cinco poblaciones provenientes de raíces de cafetos de Brasil, Perú y Surinam que muestran zimogramas que no corresponden a especies de *Meloidogyne* conocidas. Su perfil enzimático para isoesterasas corresponde al fenotipo denominado "F1", del inglés "Fast", debido a su velocidad de migración durante la electroforesis.

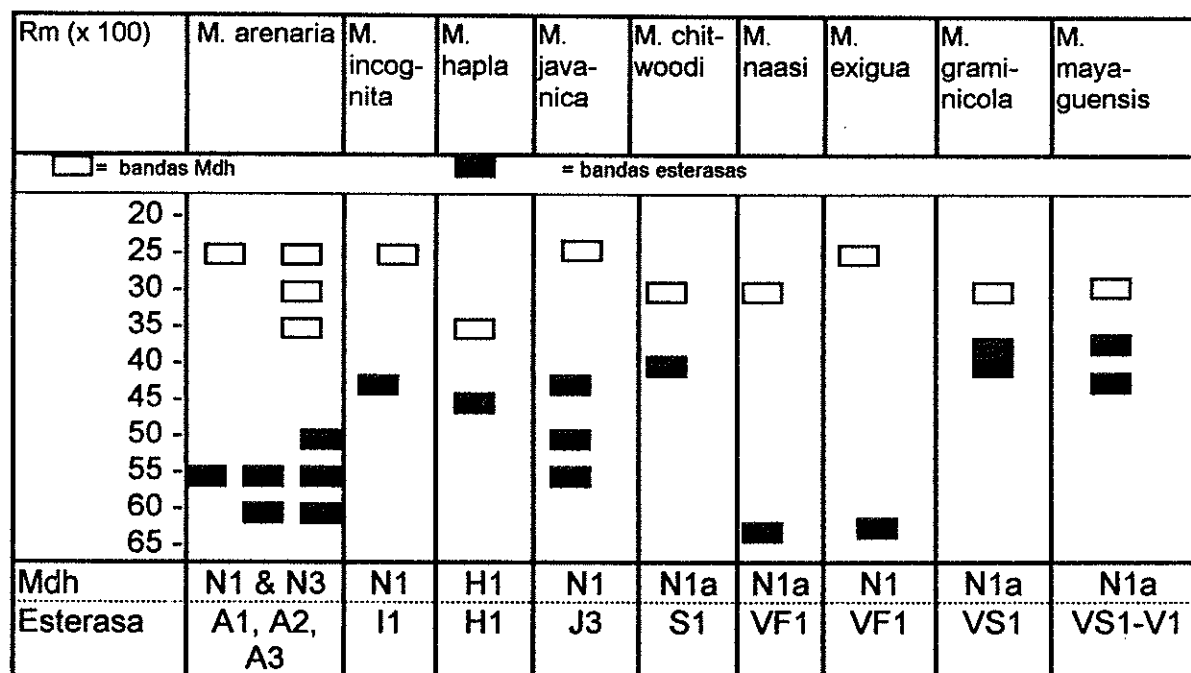
Un importante estudio conducido por Santos y Hirschmann-Triantaphyllou (46) incluyó 88 poblaciones de *Meloidogyne* colectadas en diferentes regiones cafetaleras del Brasil, obteniendo estos investigadores cinco diferentes fenotipos isoenzimáticos o zimogramas.

- I1 = *Meloidogyne incognita* (Kofold & White) Chitwood. (23 poblaciones)
- VF1 = *Meloidogyne exigua* Goeldi. (17 poblaciones)
- J3 = *Meloidogyne javanica* (Treubl.) Chitwood. (13 poblaciones)
- F1 = especie no identificada (15 poblaciones)
- I2 = especie no identificada (10 poblaciones)
- ausencia de bandas (1 población)
- sin resultados (9 poblaciones)

Estos resultados cuestionan la idea clásica de que las únicas especies importantes de *Meloidogyne* que parasitan al cafeto en los diferentes países son *Meloidogyne incognita* (Kofold & White) Chitwood y *Meloidogyne exigua* Goeldi. La evidencia indica que existen otras especies agresivas asociadas al cultivo en varios países productores.

En la figura 2, se muestran los diferentes zimogramas que corresponden a nueve especies de *Meloidogyne* spp. respectivamente, esto permite ilustrar el valor de dicho recurso bioquímico en la identificación y caracterización de las especies de *Meloidogyne* spp. particularmente las que no han sido descritas previamente o aquellas que han sido erróneamente caracterizadas.

Figura 2. Fenotipos específicos de Malato Deshidrogenasa (Mdh) y de esterasas para la diferenciación de nueve especies de *Meloidogyne*. Esbenshace y Trianthaphyllou (19).



Sobre el mismo gel de policramida (10-15 % gradientes), las bandas Mdh son de color gris azulado y las de esterasas son de color negro.

4. MARCO REFERENCIAL

La presente investigación se realizó en el período comprendido de octubre de 1993 a marzo de 1996, en las instalaciones del laboratorio de nematología y vivero de la finca Buena Vista, San Sebastián, Retalhuleu; geográficamente localizado en los 14° 36' 50" Latitud Norte y 91° 40' 30" Longitud Oeste, con una altitud de 440 metros sobre el nivel del mar. (27).

Las condiciones de vivero durante la realización del estudio fueron controladas a temperatura entre 25° y 30° grados centígrados y una humedad relativa que osciló entre los 70% y 100%.

Las cinco poblaciones de *Meloidogyne*, fueron colectadas en tres diferentes zonas cafetaleras del sur-occidente del país, dos en la zona del Suroccidente, dos en la zona Sur y una en la zona Norte.

4.1. REGION DEL SUROCCIDENTE.

Esta región menciona Molina et al. (42), es fronteriza con México e incluye los departamentos de San Marcos y Quetzaltenango. Actualmente es la principal región cafetalera del país con una producción de 1.187 millones de quintales oro (cosecha 93/94), equivalente al 27% de la producción nacional, con 66,204 hectáreas cultivadas con café (25.3% del área total).

De acuerdo a De la Cruz (14), el clima prevaleciente es cálido y semi-cálido húmedo sin estaciones frías y secas bien definidas. La lluvia es abundante y bien distribuida durante el año, teniendo precipitaciones de hasta 3000 mm. El rango de alturas varía entre 500 y 1600 metros sobre el nivel del mar y una temperatura media entre 18 y 25 ° C.

Predominan los suelos francos profundos y fértiles, esta zona ha recibido muchos depósitos de ceniza volcánica y la mayoría de las tierras cultivadas están situadas sobre esta ceniza. Simmons et al. (54).

4.2. REGION DE LA COSTA SUR.

De acuerdo a Molina et al. (42) comprende los departamentos de Retalhuleu, Suchitepequez y Escuintla situados sobre el litoral del Pacífico. Esta región produce 0.69 millones de quintales oro (93/94), o sea 15.7% de la producción nacional, en una superficie de 48,023 hectáreas (18.3% del área).

Según De la Cruz (14), predomina el clima cálido húmedo sin estaciones frías y secas bien definidas. La precipitación pluvial oscila entre 1900 y 3200 mm anuales. Las alturas varían entre 500 y 1500 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media entre 18 y 24 ° C.

Las faldas de los volcanes hacia el sur están formadas de lava y ceniza volcánica, materiales que proporcionan la base de los suelos volcánicos en los cuales se cultiva café. Estos suelos están desarrollados sobre material reciente a elevaciones medianas, son suelos jóvenes, profundos y fértiles, las pendientes al pie de los volcanes, son variadas y se ubican alrededor del 30%. Simmons et al. (54).

4.3. REGION NORTE.

Esta es una zona geográficamente extensa localizada al norte del territorio nacional. Comprende los departamentos de Huehuetenango, Quiché, Alta Verapaz, Baja Verapaz e Izabal. Esta región produce 0.69 millones de quintales de café oro (93/94), o sea un 15.7 de la producción nacional, la superficie cultivada con café es de 39,884 hectáreas (15.2% del área total). Molina et al. (42).

En general sus condiciones ecológicas son diferentes al resto de las regiones cafetaleras, fundamentalmente por la influencia de la cuenca del Atlántico. Es una zona donde predomina el bosque sub-tropical muy húmedo. Las condiciones climáticas de gran parte de esta región están regidas por lluvias abundantes, distribuidas en casi todo el año, la precipitación promedio anual oscila entre 1900 y 2300 mm. El ambiente es nuboso con pocas horas luz al día. Estas condiciones de lluvia y nubosidad, hacen que en el ambiente se mantenga una humedad relativa muy alta que llega a alcanzar porcentajes entre 80 y 90%.

Las altitudes sobre el nivel del mar se sitúan entre 1200 y 1500 metros, con una temperatura entre los 15 y 23 °C. Los suelos de esta región son profundos y desarrollados sobre caliza, se caracterizan por ser productivos. De la Cruz (14), Simmons et al (54).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA CENTRAL

5. OBJETIVOS

General

- Realizar la caracterización patogénica y determinación específica de cinco poblaciones de Meloidogyne spp. procedentes de las diferentes zonas cafetaleras de país.

Específicos

- Determinar la posible existencia de diferencias de patogenicidad entre las cinco poblaciones de Meloidogyne estudiadas.
- Determinar la especie o especies de las cinco poblaciones de Meloidogyne estudiadas.

6. HIPOTESIS

- Existe variabilidad patogénica entre especies de Meloidogyne y entre poblaciones de la misma especie (razas fisiológicas).
- Al menos existen dos especies de Meloidogyne entre las diferentes poblaciones estudiadas.

7. METODOLOGIA

7.1. OBTENCION DE INOCULO

La fase de obtención de inóculo, consistió en coleccionar plantas infestadas con Meloidogyne spp. de las principales zonas cafetaleras del país. Las zonas de colecta se definieron de acuerdo al archivo de diagnósticos de los laboratorios de nematología de la Asociación Nacional de Café -ANACAFE- (ver figura 3), seleccionando las fincas más afectadas dentro de las zonas con reporte de daños por este nematodo, siendo las siguientes:

- Finca Don Bosco, Sta. Cruz, Alta Verapaz.
- Finca La Providencia, Palín, Escuintla.
- Finca Elvira, San Francisco Zapotitlán, Suchitepéquez.
- Finca Los Manaques, Colomba Costa Cuca, Quetzaltenango.
- Finca Panorama, San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos.

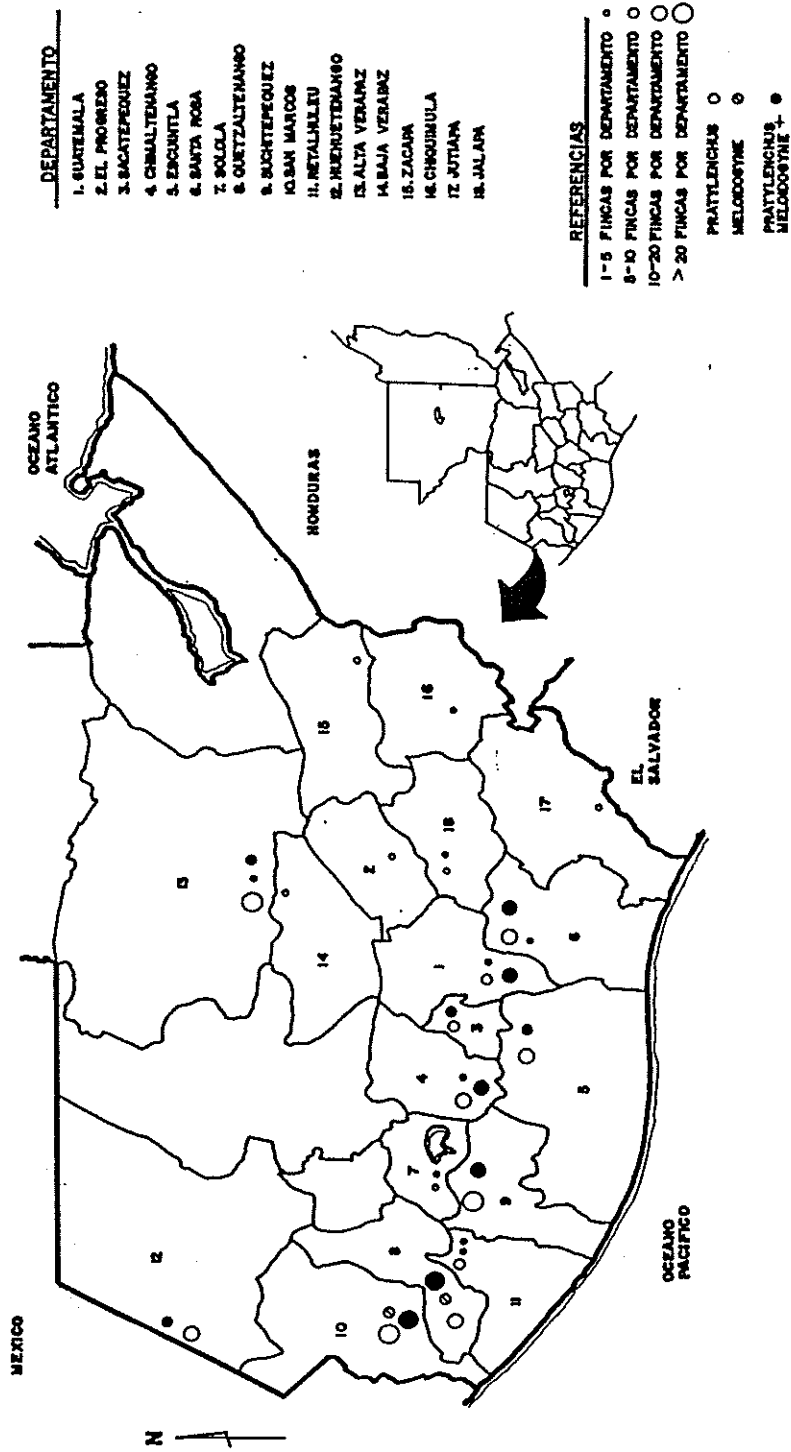
Los datos climáticos correspondientes a los municipios a los que pertenecen las fincas seleccionadas se presentan en el cuadro 2.

CUADRO 2. DATOS CLIMATICOS PROMEDIO DEL AÑO 1995, DE LOS MUNICIPIOS DE COLECTA DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS. (INSIVUMEH).

Municipios	temperatura en Grados Centigrados		H. R. en %	precipitación en milímetros (días)	tipo de estación	Número estación
	min.	max.				
Sta. Cruz	13°	21°	87%	2120.8 (234)	A	1.1.8
Palin	21.2°	33.9°	71%	2659.3 (170)	B	5.1.17
Sn. Fco. Zapotitlan	17°	32.3°	84%	3654.3 (154)	B	20.1.3
Colomba, Costa cuca	4.9°	21.4°	78%	912.7 (135)	B	13.14.1
Sn. Rafael, Pie de la C.	5.8°	19.9°	81%	1295.4 (151)	B	17.1.3

La verificación de la presencia del patógeno se realizó en el laboratorio de nematología, observando las raíces en estereoscopio.

**Figura 3.: DISTRIBUCION DE NEMATODOS POR DEPARTAMENTO
REPUBLICA DE GUATEMALA**



FUENTE: ANACAFE

7.2. PREPARACION DE SUELO.

Para el presente estudio se utilizó una mezcla suelo-arena de 1:1, la esterilización de suelo se realizó en una pila de desinfección según diseño Jaehn, A. y Revel, E. K. (29), con bromuro de metilo. Previo al inicio de las diferentes fases del estudio se realizó el análisis de una muestra de suelo en el Laboratorio de suelos de la Asociación Nacional del Café ANACAFE y se observa en el cuadro 3.

CUADRO 3. RESULTADOS DE ANALISIS QUIMICO DE MUESTRA DE SUELO SEGUN EL LABORATORIO DE SUELOS DE ANACAFE.

pH	ppm	meq.			microgramos.			
		K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
5.70	F 19.28	0.38	8.21	1.03	2.8	11.20	9.70	3.90
5.5-6.5	10-15	0.33-0.41	3-6	0.8-1.7	1-2.5	10-20	5-20	2-4

Datos ultima linea correspondientes a rangos adecuados para cultivo de café según Laboratorio de suelos de -ANACAFE-

7.3. INCREMENTO DEL INOCULO

Teniendo colectadas las poblaciones a estudiar, se procedió a incrementar el inóculo, utilizando para el efecto plantas de tomate variedad "Roma". Las plantas de tomate se colocaron en macetas de 2.5 Kilogramos de capacidad, llenadas con el sustrato suelo-arena descrito anteriormente. Al mes de transplantadas las plantas de tomate en las macetas en mención se procedió a su inoculación. Para cada población se tomaron 10 macetas y la inoculación se realizó con 10 masas de huevos de Meloidogyne por maceta. El patógeno se dejó en reproducción por un periodo de 60 días.

7.4. RECUPERACION Y CUANTIFICACION DEL INOCULO REPRODUCIDO.

Después de 60 días de la reproducción del patógeno en las plantas de tomate se procedió a la recuperación y cuantificación del inóculo, para el efecto se procedió a sacar las raíces de las plantas de tomate. Para cada número de raíces obtenidas por población se realizó el siguiente procedimiento: Se lavaron las raíces y se cortaron en fracciones de

aproximadamente un centímetro de largo, en seguida se colocaron en 250 ml. de agua y se agitaron en licuadora por 40 segundos. La suspensión obtenida se pasó a través de los tamices de 200 y 400 Mallas. Los huevos suspendidos pasaron a través del tamiz de 200 Mallas en el cual quedaron los residuos de raíz y fueron recuperados en el tamiz de 400 Mallas. A continuación los huevos fueron lavados a una probeta de 1000 ml., en la cual se ajusto el volumen. Para la cuantificación se tomaron 3 alicuotas de 1 ml de cada probeta de 1000 ml., de la cual se obtuvo un promedio de huevos por volumen; conocido este dato se realizó el calculo de volumen necesario para la inoculación de las diferentes poblaciones sobre las plantas de café para su caracterización patogénica.

7.5. INOCULACION DE LAS POBLACIONES DE Meloidogyne spp. EN LAS PLANTAS DE Coffea arabica L. VAR. CATUAI.

Para determinar posibles diferencias de patogenicidad dentro de las poblaciones de Meloidogyne spp. colectados, se utilizaron plantas de Coffea arabica var. Catuai que es reconocida como variedad susceptible. Las plantas de café en su estado de fosforito fueron transplantadas a macetas de un kilogramo, las cuales contenían un sustrato tierra-arena en relación 1:1 previamente desinfectado como se describió anteriormente, en el momento del trasplante se realizó una fertilización en forma disuelta según recomendación -ANACAFE- con la formula 20-20-0 haciendo una dilusión de 30 g. del fertilizante por litro de agua y aplicando 50 c.c. de la solución por maceta.

Las plantas se inocularon con las poblaciones cuando tenían un par de hojas verdaderas bien desarrolladas con 2,000 huevos c/u, quedando el estudio de la siguiente manera:

- 5 orígenes
- 25 repeticiones (una repetición = una planta)
- 1 testigo sin inóculo

Los tratamientos y repeticiones se distribuyeron según un diseño completamente al azar.

7.6. VARIABLES EVALUADAS.

Variables Cuantitativas:

- Altura (cms.)
- Peso fresco partes aéreas (grs.)
- Peso fresco de raíces (grs).
- Número de agallas o masas de huevos.
- Población final de nematodos en raíces.

Variables Cualitativas:

- Vigor vegetativo
- Índice de daño de raíz.

Las observaciones y lectura de variables se realizó 90 días después de la inoculación de las plantas.

La cuantificación de masas presentes se llevó a cabo mediante el uso de un estereoscopio y la cuantificación de las poblaciones de nematodos se realizó colocando las raíces en una solución de NaOCl al 1% para continuar con el proceso de extracción de manera similar a la metodología de recuperación de inóculo en plantas de tomate.

Para el estudio de la variable cualitativa vigor vegetativo de plantas, se modificó la escala de vigor vegetativo utilizada por Carvalho y Mónaco (9) en trabajos de fitomejoramiento del cafeto.

0 = planta muerta.

1= planta viva sin desarrollo, deficiente y clorótica.

2 = planta viva con muy poco desarrollo, deficiente y clorótica

3 = planta viva, desarrollada con deficiencias y clorótica.

4 = planta viva, desarrollada, sin deficiencias ni clorosis.

5 = planta bien desarrollada, sin deficiencias, sin clorosis.

Para índice de Daño de raíces se desarrolló la escala siguiente:

0= Raíz sana, sin masas de huevos exteriores y/o agallas.

1= Raíz limpia sin necrosis, presencia de masas y/o agallas.

2= Raíz con necrosis (25 %), presencia de masas y/o agallas.

3= Raíz con necrosis (25 - 50%), presencia de masas y/o agallas.

4= Pivotante corchosa y necrosada (50 - 75%), pocas raíces secundarias.

5= Pivotante necrosada (75 - 100%), ausencia de raíces secundarias.

Tomando en cuenta estos valores se realizó la toma de datos para ambas variables.

7.7. ANALISIS DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS.

Para el análisis de la variable cuantitativa altura se realizó una covarianza con el fin de eliminar el efecto de la variable altura inicial sobre altura final y poder tener una mayor precisión, mientras que para las otras variables cuantitativas se realizó un análisis de varianza. Tanto para el análisis de covarianza como para los análisis de varianza se utilizó el programa estadístico STATITCF y Newman & Keuls para la separación de medias.

Modelo Estadístico del Análisis de Covarianza.

$$Y_{ij} = \mu_y + a_i + \beta (X_{ij} - \mu_x) + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor de observación para el tratamiento i en la repetición j de la variable Y.

X_{ij} = Valor de observación para el tratamiento i en la repetición j de la covariable X.

μ_y = media general de la variable y.

μ_x = media general de la covariable x.

β = Coeficiente de Regresión.

a_i = Efecto del tratamiento i.

e_{ij} = error experimental.

Modelo Estadístico del Análisis de Varianza.

$$X_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$$

Donde:

X_{ij} = Valor de observación para el tratamiento i en la repetición j .

μ = Media general.

a_i = Efecto del tratamiento i .

e_{ij} = error experimental.

7.8. ANALISIS DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS.

Tomando en cuenta los valores establecidos en las escalas para vigor vegetativo e índice de daño de raíz se realizó la toma de datos para ambas variables, su posterior transformación a rangos y el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis. La significancia entre tratamientos se calculó mediante la fórmula propuesta por el programa STATITCF; la prueba de Mann & Whitney:

$$| S_u - S_v | > Z \alpha_{uv}$$

$$\alpha_{uv} = \left| \frac{N(n+1)}{12} \left(\frac{1}{n_u} + \frac{1}{n_v} \right) \right|^{1/2}$$

Donde:

S = rango medio

Z = valor encontrado según tabla de distribución normal al nivel de significancia utilizado.

N = Número total de observaciones.

n = número de repeticiones por tratamiento.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

7.9. METODOS PARA LA DETERMINACION DE ESPECIES.

7.9.1. ESTUDIO MEDIANTE LA MORFOLOGIA PERINEAL DE HEMBRAS.

De las raíces de las plantas de tomate utilizadas en el incremento del inóculo, se tomaron algunas partes con agallas, de las cuales con ayuda de un estereoscopio se extrajeron algunas hembras, estas se sumergieron en lactofenol puro. Una parte se montó en porta objetos cóncavos con lactofenol puro sellándolos y las otras hembras fueron montadas en porta objetos plástico y su parte anterior se corto con una hoja de afeitar, estas porciones se montaron luego en lactofenol puro en porta objetos de vidrio cubiertas con cubre objetos y selladas; la parte posterior del cuerpo fue sumergida en ácido láctico al 45%, los tejidos internos fueron removidos y la región perineal se cortó y montó en porta objetos de vidrio en lactofenol puro y se sellaron. Los montajes se enviaron al Laboratorio de nematología del CIRAD-FLHOR en Francia para su determinación específica.

7.9.2. ANALISIS DE ISOESTERASAS.

De raíces de tomate infestadas se extrajeron masas de huevos de cada población en estudio. Las masas se colocaron en pequeñas bolsas de nylon conteniendo arena volcánica y una solución de 0.3 M. de NaCl, para evitar la eclosión de los huevos. Este material se envió al Laboratorio de nematología del CIRAD-FLHOR, Francia para su determinación por electroforésis.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

8.1. VARIABLES VEGETATIVAS.

8.1.1. ALTURA DE PLANTAS.

El análisis de covarianza y prueba de medias para la variable altura final se observa en los cuadros 4, 5 y 6.

CUADRO 4. CALCULOS PREVIOS AL ANALISIS DE COVARIANZA DE LA VARIABLE ALTURA DE PLANTAS.

Fuente de Variacion	GL	SC	SP	SC
		Alt final	Alt f * Alt i	Alt i
Factor	5	282	-38.3101	1.79
Residuo	144	936.47	417.1236	189.51
Total	149	1218.47	378.8135	191.3

Para Altura final $F_{obs} = 8.67 > F_{tabla} = 2.30$ Existe significancia

Para Altura inicial $F_{obs} = 0.27 < F_{tabla} = 2.30$ No existe significancia

Como se puede observar no existe diferencia significativa entre tratamientos para la variable altura inicial, lo que demuestra la homogeneidad de las plantas en las que se realizó la inoculación y respalda la disposición de haber utilizado un diseño completamente al azar.

CUADRO 5. ANALISIS DE COVARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE PLANTAS.

Fuente de Variacion	GL	SC Ajustadas	F_{obs}
Factor	5	350.0253	13.34**
Residuo	143	750.6743	
Total	148	1100.6996	

CUADRO 6. PRUEBA DE COMPARACION DE MEDIAS DE NEWMAN & KEULS AL 5 % PARA LA VARIABLE ALTURA DE PLANTAS (cm).

POBLACIONES	Medias Finales cm	Medias iniciales cm	Medias ajustadas cm	Grupos Homogeneos
Elvira	9.35	5.73	9.36	B
Don Bosco	9.20	5.72	9.23	B
Panorama	8.60	5.58	8.94	B
Managues	9.22	5.68	9.34	B
Providencia	8.54	5.76	8.48	B
Testigo	12.56	5.74	12.10	A

Media general altura inicial: 5.73

Media general altura final: 9.58

Media ajustada general : 9.58

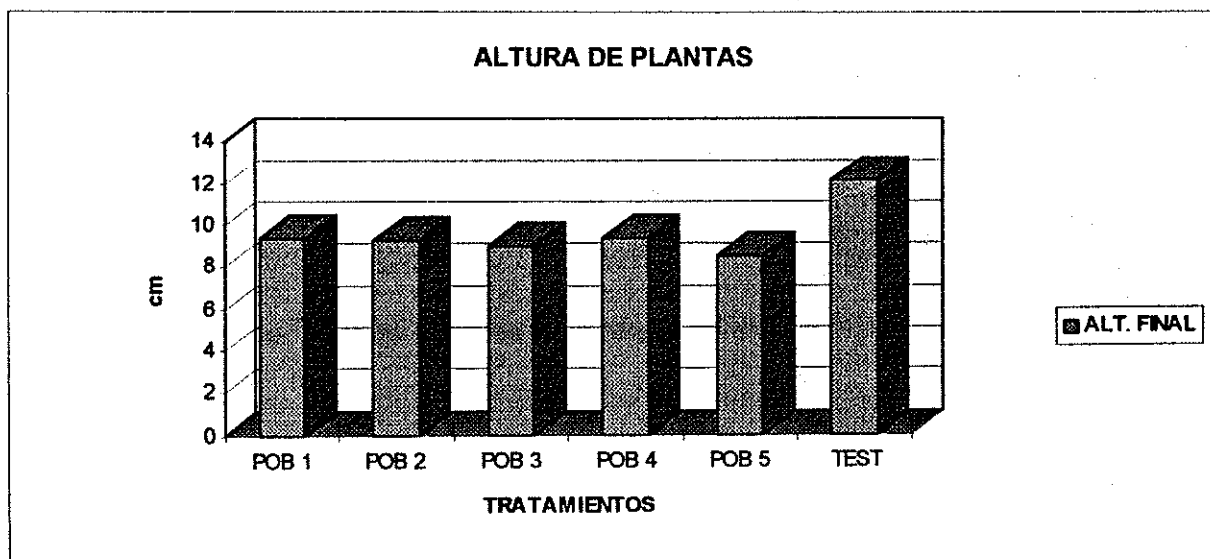
b = 2.20

De acuerdo al análisis de covarianza y prueba de medias, se observa que después de 90 días de evaluación ya existe diferencia significativa en esta variable con respecto al testigo.

Morera (44), evaluó en un período de 90 días, tres poblaciones de Meloidogyne exigua Goeldi, sobre plantas de Coffea arabica L. de la variedad catuai, inoculando 15,000 huevos más larvas J2. En ese período las plantas inoculadas no manifestaron diferencias significativas en relación al testigo sobre la variable altura, argumentando que los síntomas referentes a reducción de altura de las plantas se va evidenciando después de 3 meses y recomienda la evaluación de las variables de crecimiento después de 6 meses. Los daños sobre esta variable que se aprecian en el presente estudio permiten notar el alto grado de patogenicidad de las poblaciones estudiadas, lo que indica que un período mayor al estudiado, no permitiría evaluar esta variable debido a una muerte prematura de las plantas.

En la figura 4, se puede apreciar la similitud de los datos de altura entre poblaciones las cuales no muestran diferencia estadística significativa entre ellas y se puede observar la diferencia significativa que presenta el testigo, la cual se encuentra con un promedio de 25 % de mayor altura.

FIGURA 4. COMPARACION ENTRE LA ALTURA FINAL DE LAS PLANTAS INOCULADAS CON LAS POBLACIONES Y EL TESTIGO.



POB 1=ELVIRA, POB 2=DON BOSCO, POB 3=PANORAMA, POB 4=MANAQUES, POB 5=PROVIDENCIA.

8.1.2. PESO DE RAIZ DE LAS PLANTAS.

El peso de raíz de las plantas, se tomó en base a peso fresco en gramos y se puede apreciar en el análisis de varianza y prueba de medias que se muestran en los cuadros 7 y 8.

CUADRO 7. ANALISIS DE VARIANZA DE LA VARIABLE PESO DE RAIZ.

Fuente de Variacion	GL	SC	CM	F _{obs}	prob.	CV
Factor	5	9.32	1.86			
Residuo	144	16.08	0.11	16.69 **	0.00	31.6%
Total	149	25.40	0.17			

Análisis de varianza mediante la transformación de datos a logaritmo más uno.

CUADRO 8. PRUEBA DE MEDIAS DE NEWMAN & KEULS AL 5 % PARA LA VARIABLE PESO DE RAIZ DE LAS PLANTAS (gr).

POBLACIONES	Medias (gr)	Medias (log)	Desv. estandar	Grupos Homogeneos
Elvira	1.70	0.93	1.59	B
Don Bosco	1.82	0.99	9.23	B
Panorama	1.59	0.92	8.94	B
Managues	1.95	0.99	9.34	B
Providencia	1.55	0.90	8.48	B
Testigo	12.56	1.60	12.10	A

Prueba de medias mediante la transformación de datos a logaritmo más uno.

No se observa diferencia significativa entre poblaciones, pero si con respecto al testigo, el cual muestra un promedio del 58% de mayor peso de raíz en relación a las otras poblaciones en estudio. Wallace (61) menciona que si una densidad de nematodos es baja, su efecto puede ser superado por la capacidad compensatoria del sistema radical, ya sea mediante la producción de raíces nuevas o mediante la existencia de un exceso de raíces de las plantas. Sin duda, bajo las condiciones de desarrollo del inóculo empleado de 2000 huevos por unidad experimental, se superó el nivel compensatorio radicular de las plantas expresando los resultados obtenidos para la variable peso de raíz, evidenciando un alto grado de patogenicidad de las poblaciones estudiadas.

8.1.3. PESO FOLIAR DE PLANTAS.

Al igual que el peso de raíz, esta variable se tomó en base a peso fresco en gramos y se puede observar en el cuadro 9 Y 10, donde se muestra el análisis de varianza y prueba de medias.

CUADRO 9. ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PESO FOLIAR.

Fuente de Variacion	GL	SC	CM	F _{obs}	prob.	CV
Factor	5	17.14	3.43			
Residuo	144	32.35	0.22	15.26**	0.00	30.5%
Total	149	49.49	0.33			

Análisis de varianza mediante la transformación de datos a logaritmo más uno.

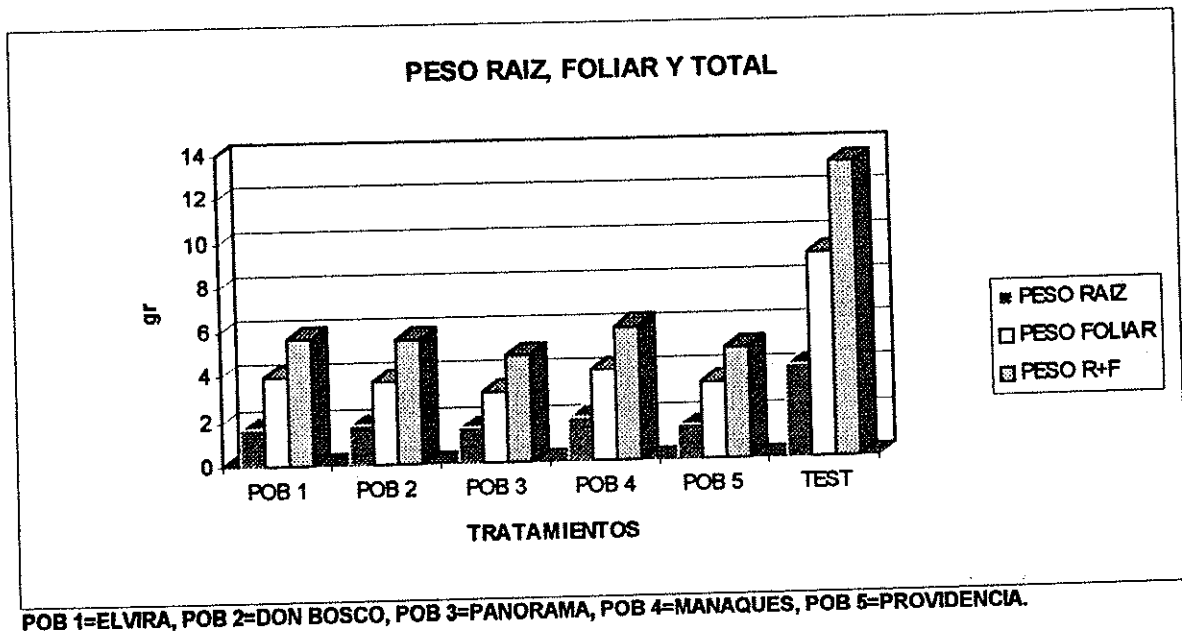
CUADRO 10. PRUEBA DE MEDIAS DE NEWMAN & KEULS AL 5 % PARA LA VARIABLE PESO FOLIAR DE LAS PLANTAS (gr).

POBLACIONES	Medias (gr)	Medias (log)	Desv. estandar	Grupos Homogeneos
Elvira	3.91	1.43	0.59	B
Don Bosco	3.67	1.45	0.47	B
Panorama	3.11	1.29	0.49	B
Managues	4.02	1.45	0.58	B
Providencia	3.41	1.39	0.41	B
Testigo	9.15	2.30	0.20	A

Prueba de medias mediante la transformación de datos a logaritmo más uno.

El análisis de varianza y prueba de medias muestra una diferencia significativa entre el testigo y las poblaciones evaluadas, donde se aprecia al testigo con un promedio de 58 % de mayor peso foliar en relación a las poblaciones. Asimismo, no se observa diferencia significativa entre las 5 poblaciones estudiadas, lo que indica un mismo nivel de daño de las poblaciones sobre esta variable. Seischoort citado por Wallace (61), explica que el peso aéreo de una planta permanece constante hasta que se alcanza un nivel crítico de densidad de nematodos en las raíces, superado este nivel se inicia el deterioro aéreo de las plantas manifestando pérdida de peso foliar como el que expresan los resultados obtenidos.

FIGURA 5. COMPARACION DE PESO DE RAÍZ, PESO FOLIAR Y PESO TOTAL DE PLANTAS DE ACUERDO A LAS POBLACIONES INOCULADAS.



En la figura 5, se puede observar el comportamiento de los pesos frescos de raíz, peso foliar y el peso fresco total entre las cinco poblaciones estudiadas y el testigo. Aunque para estas variables no existe diferencia estadística significativa entre poblaciones, en la figura se puede apreciar como las Poblaciones correspondientes a Panorama y Providencia muestran en forma aritmética, menos pesos frescos con respecto a las poblaciones Elvira, Don Bosco y Manaques. Esto podría deberse a un mayor daño en las raíces por parte de las poblaciones Panorama y Providencia.

En forma general, de acuerdo a los resultados de las variables vegetativas estudiadas se puede definir un alto grado de patogenicidad de las cinco poblaciones evaluadas sobre las plantas de café, las cuales ocasionaron en 90 días una fuerte pérdida del sistema radicular que indujo una importante disminución de peso aéreo y de altura frente a las plantas testigo.

8.2. VARIABLES CUALITATIVAS DE DAÑO A LAS PLANTAS.

8.2.1. VIGOR VEGETATIVO DE PLANTAS.

De acuerdo a los datos de la escala empleada se procedió al análisis no paramétrico que se muestra en el cuadro 11.

CUADRO 11. ANALISIS NO PARAMETRICO DE KRUKAL-WALLIS Y PRUEBA DE RANGOS DE MANN & WHITNEY AL 5 % PARA LA VARIABLE VIGOR VEGETATIVO DE PLANTAS.

POBLACIONES	Medias	Suma de Rangos	Grupos Homogeneos
Elvira	2.88	1863	B
Don Bosco	2.72	1697	B
Panorama	2.12	1150	B
Manaques	2.76	1736	B
Providencia	2.64	1620	B
Testigo	4.48	3262	A

H = 54.34

PROBABILIDAD : 0.00

El análisis y prueba de rangos realizado expresa un efecto significativo entre tratamientos, mostrando un vigor vegetativo similar entre las plantas inoculadas con las diferentes poblaciones, pero significativamente menor a las del testigo sin inóculo. Aunque la prueba de rangos no expresa significancia entre poblaciones, se puede apreciar en la

población panorama una media aritmeticamente inferior al que muestran las otras 4 poblaciones, lo cual expresa un mayor daño de las plantas inoculadas con esta población, en las cuales se observó plantas severamente dañadas con deficiencias y clorosis.

8.2.2. INDICE DE DAÑO DE RAICES.

Al igual que para la variable vigor vegetativo, el análisis no paramétrico para la variable índice de daño se realizó de acuerdo a los valores de la escala definida y se muestra en el cuadro 12.

CUADRO 12. ANALISIS NO PARAMETRICO DE KRUKAL-WALLIS Y PRUEBA DE RANGOS DE MANN & WHITNEY AL 5 % PARA LA VARIABLE INDICE DE DAÑO DE RAICES.

POBLACIONES	Medias	Suma de Rangos	Grupos Homogeneos
Elvira	2.80	2060	B
Don Bosco	3.00	2228	B
Panorama	3.32	2469	B
Managues	2.76	2076	B
Providencia	2.92	2167	B
Testigo	0.00	325	A

H = 54.34

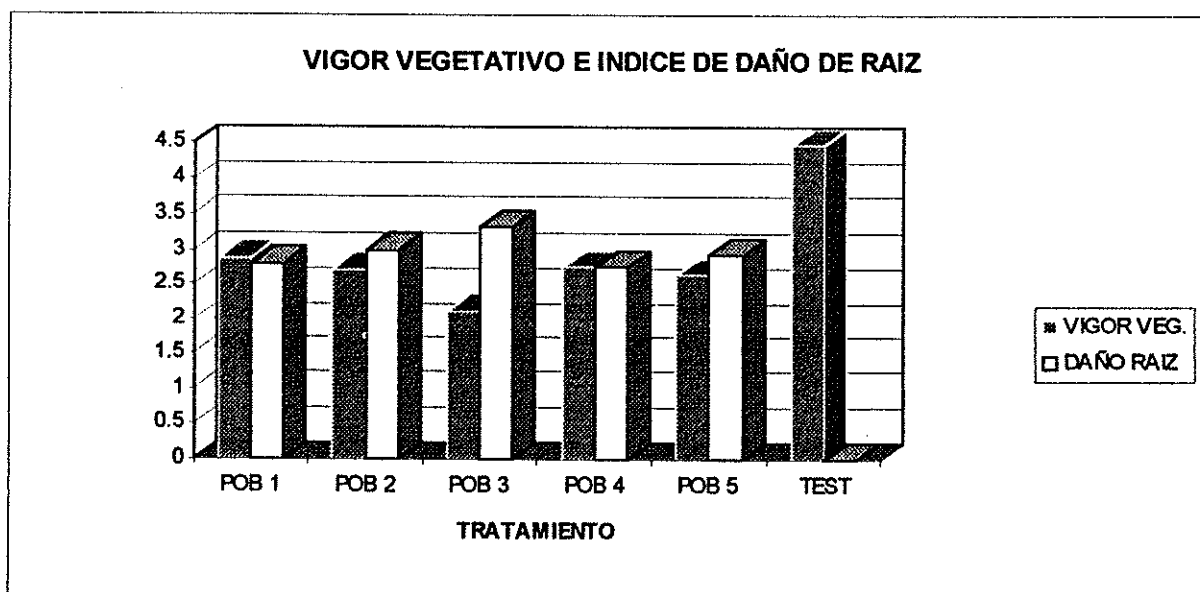
PROBABILIDAD : 0.00

Se puede definir de acuerdo al análisis y prueba de rangos realizado, un índice de daño sin diferencia significativa entre las poblaciones utilizadas y una diferencia significativa con respecto al testigo, el cual mantuvo sus raíces sanas. Los daños ocasionados por las poblaciones es bastante intenso y homogéneo, observándose en las raíces de plantas inoculadas, escaso agallamiento, presencia de masas exteriores, necrosamiento y corchosis de la raíz pivotante.

En la figura 6, se puede apreciar la forma como las plantas inoculadas van compensando el vigor vegetativo de acuerdo al índice de daño que van presentando las raíces en las poblaciones Elvira, Don Bosco, Managues y Providencia, a excepción de la población Panorama que aunque no mostró diferencia estadística significativa, si muestra en forma aritmética un mayor índice de daño en la raíz, lo cual determina un menor vigor

vegetativo que rompe el equilibrio vigor/índice de daño de raíz y sugiere una muerte mas prematura de las plantas inoculadas con esta población, en relación a las inoculadas con las otras poblaciones.

FIGURA 6. COMPARACION ENTRE EL VIGOR VEGETATIVO E INDICE DE DAÑO DE RAICES DE LAS PLANTAS INOCULAS CON LAS POBLACIONES Y EL TESTIGO.



POB 1=ELVIRA, POB 2=DON BOSCO, POB 3=PANORAMA, POB 4=MANAQUES, POB 5=PROVIDENCIA.

En general los resultados de las variables cualitativas de vigor e índice de daño de raíz nuevamente hacen notar el nivel de daño ocasionado por las poblaciones, donde se observan niveles de necrosamiento y destrucción de raíces bastante altos y como consecuencia el detrimento del área foliar de las plantas.

8.3. VARIABLES DE REPRODUCCION DEL INOCULO EN LAS PLANTAS.

8.3.1. REPRODUCCION DEL NEMATODO Y NUMERO DE MASAS DE HUEVOS.

El análisis de varianza y prueba de medias para el número de masas por gramo de raíz se observan en los cuadros 13 y 14.

CUADRO 13. ANALISIS DE VARIANZA DE NUMERO DE MASAS/GRAMO DE RAIZ.

Fuente de Variacion	GL	SC	CM	F _{obs}	prob.	CV
Factor	4	4.86	1.22			
Residuo	120	117.73	0.98	1.24 NS	0.2977	31.2%
Total	124	122.79	0.99			

Análisis de varianza mediante la transformación de datos a logaritmo.

CUADRO 14. PRESENTACION DE MEDIAS DEL NUMERO DE MASAS POR GRAMO DE RAIZ.

POBLACIONES	Medias	Medias (log)	Desv. estandar
Elvira	35.16	3.30	0.96
Don Bosco	27.35	3.08	0.85
Panorama	29.21	2.82	1.41
Managues	32.52	3.34	0.62
Providencia	34.26	3.31	0.93

MEDIA GENERAL : 31.70

No significativo

Como se observa, no existe diferencia significativa entre el número de masas presentes entre poblaciones. Méndez citado por Morera (44), menciona que el número de agallas o masas no siempre tienen relación, por lo que se recomienda evaluarlas por separado y solo se toman como referencia para determinar el grado de patogenicidad ocasionado.

La cuantificación final de nematodos se obtuvo de las extracciones de raíces y se expresa como número de huevos y larvas J2 presentes por gramo de raíz. El análisis de varianza y prueba de medias se pueden observar en los cuadros 15 y 16.

CUADRO 15. ANALISIS DE VARIANZA DE LA CUANTIFICACION FINAL DE NEMATODOS/GRAMO DE RAIZ.

Fuente de Variacion	GL	SC	CM	F _{obs}	prob.	CV
Factor	4	4.86	8.38			
Residuo	120	117.73	4.64	1.81 NS	0.1307	26.6%
Total	124	122.79	4.76			

Análisis de varianza mediante la transformación de datos a logaritmo.

CUADRO 16. PRESENTACION DE MEDIAS DEL NUMERO DE HUEVOS Y LARVAS J2 POR GRAMO/RAIZ.

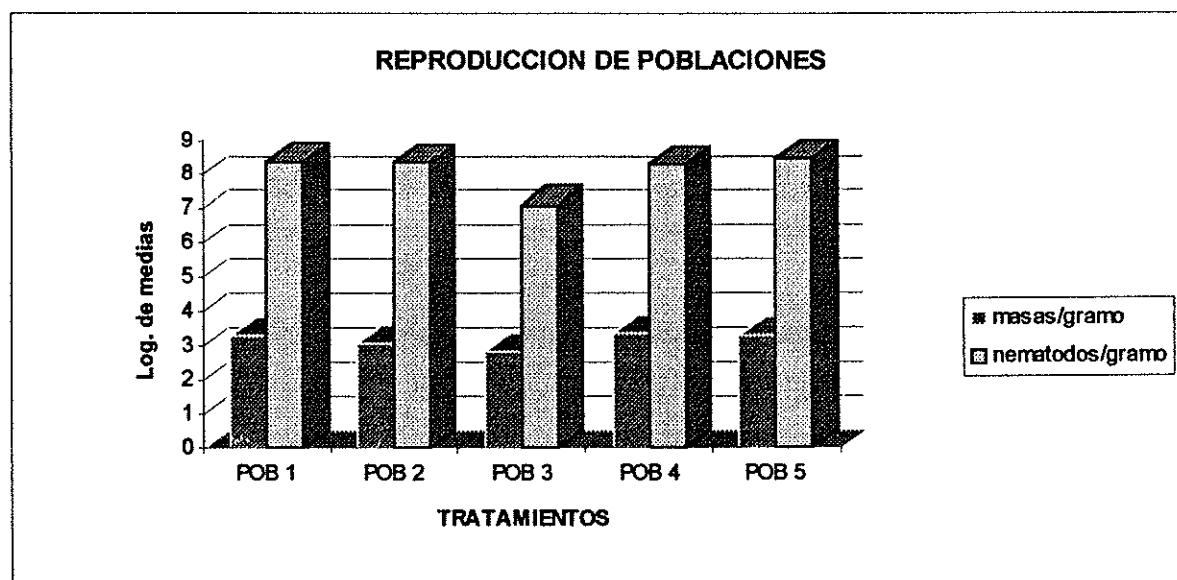
POBLACIONES	Medias	Medias (log)	Desv. estandar
Elvira	5823.83	8.37	0.98
Don Bosco	7382.68	8.34	1.90
Panorama	5455.25	7.08	3.28
Managues	6722.28	8.28	1.89
Providencia	9570.89	8.47	2.07

MEDIA GENERAL : 6990.99

No significativo

No se observa diferencia significativa entre el número final de huevos más larvas J2 por gramo de raíz. Se puede definir mediante el análisis realizado y la prueba de medias para ambas variables, un comportamiento similar de las poblaciones en cuanto a su reproducción y número de masas de huevos presentes en las plantas, lo cual es reflejado por las variables vegetativas anteriormente evaluadas.

FIGURA 7. COMPARACION ENTRE EL NUMERO MASAS DE HUEVOS Y NUMERO FINAL DE NEMATODOS POR GRAMO DE RAIZ.



POB 1=ELVIRA, POB 2=DON BOSCO, POB 3=PANORAMA, POB 4=MANAQUES, POB 5=PROVIDENCIA.

En la figura 7, se puede observar la comparación entre el número de masas de huevos y número de nematodos por gramo de raíz, nuevamente se aprecia que aunque no hay diferencia estadística significativa entre estas variables, existe en la población Panorama, un

menor número de masas y un menor número de nematodos en relación a las poblaciones Elvira, Don Bosco, Manaques y Providencia. Esta diferencia podría explicarse por los mayores índices de daño en raíces que esta población muestra frente a las otras poblaciones (ver figura 6). Una mayor capacidad patogénica de esta población, provocaría daños más importantes en la raíz y al momento de las extracciones se tendrían poblaciones ya declinando por la falta de soporte alimenticio.

8.4. DETERMINACION ESPECIFICA DE LAS POBLACIONES.

8.4.1. CARACTERIZACION TAXONOMICA DE LAS POBLACIONES MEDIANTE EL ANALISIS ELECTROFORETICO DE ISOENZIMAS.

Las masas de huevos aisladas de las raíces de tomate fueron enviadas a la unidad de nematología CIRAD-ORSTOM de Montpellier, Francia, donde fueron caracterizadas de acuerdo al perfil electroforético de enzimas según método de Esbenshade y Tryantaphyllou (1985) mediante el perfil Esterásico (EST) caracterización que ha sido empleado en la determinación de 25 poblaciones de Meloidogyne spp., el perfil malato deshidrogenasa (MDH) en 6 poblaciones y los perfiles superoxido dismutasa (SOD) y Glutamato oxaloacetato transmutasa (GOT), con los cuales se inician estudios y con los cuales se espera una caracterización más precisa. (Ver cuadro 17).

CUADRO 17. PERFIL ELECTROFORETICO DE ENZIMAS PARA LAS DIFERENTES POBLACIONES.

TRATAMIENTO	FINCA	EST	MDH	SOD	GOT	ESPECIE
POB 1	Elviras	F1	N1	I2	N1	M. Sp.
POB 2	Don Bosco	VS1-S1	N1a	Guat	N1	M. mayaguensis
POB 3	Panorama	F1	N1	I2	N1	M. sp.
POB 4	Manaques	F1	N1a	???	N1	M. Sp.
POB 5	Providencia	F1	N1	N2	N1	M. Sp.

El análisis enzimático esterásico EST ha sido uno de los perfiles más utilizados, por lo que se tiene mayor información de los fenotipos mostrados por diferentes especies

determinadas. Sin embargo, el patrón electroforético "F1" que muestran las poblaciones Elvira, Panorama, Manaques y Providencia, que corresponde al apareamiento de una sola banda de migración rápida (F=fast) (1= una banda), que no se reporta en ninguna especie de Meloidogyne spp. determinada, lo cual significa que podría tratarse de una nueva o nuevas especies del género Meloidogyne. Al revisar diferentes estudios de determinación de especies por medio de este análisis se pudo encontrar que JANATI et al (30) señaló el fenotipo F1 en algunas poblaciones no determinadas de café originarias de Brasil, Perú y Surinam. La población Don Bosco en el análisis esterásico EST definió un perfil VS1-S1 que corresponde a una banda de migración lenta (S=slow) (1= una banda) y una banda de migración muy lenta (VS= very slow) (1=una banda), este fenotipo corresponde a Meloidogyne mayaguensis Rammah & Hirshmann, especie de nematodos reportada en Hortalizas en Puerto Rico y en plantaciones de café en Cuba por Decker et al. (17). En Guatemala esta especie no había sido reportada hasta la fecha.

Los análisis realizados con Malato Deshidrogenasa (MDH) nos señalan fenotipos N1 correspondientes a la migración de una banda no específica en las poblaciones Elvira, Panorama y Providencia y un fenotipo N1a correspondiente a dos bandas no específicas para las poblaciones Don Bosco y Manaques. Este análisis al igual que los análisis con Superóxido dismutasa (SOD) y de Glutamato oxaloacetato transmutasa (GOT), son de muy reciente aplicación y son de muy difícil interpretación en la determinación específica, pero en asociaciones pueden llevar a una determinación más precisa, señalando incluso la existencia de razas dentro de una misma especie. Sin embargo, debido a la poca información que se tiene de los fenotipos presentados por las poblaciones estudiadas, en nuestro caso solo nos hace suponer diferencia entre poblaciones.

8.4.2. CARACTERIZACION TAXONOMICA MEDIANTE MORFOLOGIA PERINEAL DE HEMBRAS.

Del envío de montajes a la unidad de nematología del CIRAD-ORSTOM, Montpellier, Francia, se confirmó que el origen de Finca Don Bosco presenta un patrón perineal correspondiente a Meloidogyne mayaguensis Rammah & Hirshmann, mientras que las otras cuatro poblaciones revelaron facetas similares a las de Meloidogyne incognita (Kofold & White) Chitwood, pero con ciertas variantes.

El patrón o modelo perineal fue durante mucho tiempo una de las características morfológicas más utilizada para las determinaciones específicas de *Meloidogyne*. Sin embargo, existe una alta variabilidad de la misma, aun al interior de la descendencia de una sola hembra, lo cual limita el interés de este criterio utilizado aisladamente, y que haría poco precisa la identificación a nivel de especie.

Desde los señalamientos por Shieber (55), se tenía la idea generalizada que las especies de *Meloidogyne* predominantes en el cultivo del café en Guatemala eran *Meloidogyne incognita* (Kofold & White) Chitwood y *Meloidogyne exigua* Goeldi. El presente estudio evidencia la existencia de otras dos especies fitopatógenas en el cultivo de café. Será necesario investigar que tan amplia es la distribución de estas nuevas especies y a la vez que tan precisas fueron las determinaciones específicas anteriores, ahora que se cuenta con nuevas herramientas en la realización de estas determinaciones, como lo son el análisis electroforético y el estudio de ADN, las cuales permiten una determinación más confiable de las poblaciones de nematodos.

9. CONCLUSIONES

1. El estudio mostró que las cinco poblaciones de Meloidogyne spp. evaluadas, presentan un elevado y similar grado de patogenicidad sobre cafetos jóvenes de la variedad catuai de Coffea arabica L. La estrecha base genética que tienen las variedades comerciales de C. arabica L., permite suponer que la patogenicidad observada sería igualmente alta en cualquier otra variedad de esta especie de café.
2. El análisis de las variables cuantitativas y cualitativas en las raíces y parte aérea de las plantas, no permiten en general, definir diferencias estadísticamente significativas de patogenicidad entre poblaciones. Sin embargo, las plantas inoculadas con la población Panorama, presentan en las variables cualitativas de daño y en las variables de reproducción diferencias aritméticas que sugieren un grado de patogenicidad más elevado en relación a las otras 4 poblaciones.
3. La caracterización bioquímica realizada mediante el perfil esterásico (EST) nos revela la existencia de dos diferentes grupos, Don Bosco determinada como Meloidogyne mayaguensis Rammah & Hirschmann y un segundo grupo integrado por Elvira, Panorama, managues y Providencia determinada como una nueva o nuevas especies de Meloidogyne.
4. Los análisis enzimáticos mediante el uso de los perfiles Malato deshidrogenasa (MDH), superóxido dismutasa (SOD) y Glutamato oxaloacetato transmutasa (GOT) nos revelan la posible existencia de subespecies o razas, guardando cierta reserva sobre este señalamiento, debido a que las técnicas de esta caracterización bioquímica son de reciente utilización.

10. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de caracterización patogénica con diferentes niveles de inóculo y diferentes períodos de evaluación.
2. Ampliar el estudio de caracterización patogénica a otras poblaciones de Meloidogyne spp. presentes en las zonas cafetaleras.
3. En cooperación con otros laboratorios de investigación, desarrollar estudios de la diversidad bioquímica y molecular en Meloidogyne spp. para asociar esta información con los estudios de patogenicidad.
4. Realizar estudios de las interacciones entre poblaciones de Meloidogyne spp. y hongos del suelo para evaluar las posibilidades de sinergismo entre ambos organismos.
5. A nivel de técnicos y productores, divulgar los resultados que muestran los altos niveles de patogenicidad de las poblaciones de Meloidogyne spp. encontradas sobre las plantas de café, para limitar su expansión vía vivero contaminado, herramientas u otros medios.

11. BIBLIOGRAFIA

1. ANZUETO, F. 1993. Etude de la resistance du cafiier (*Coffea* sp.) a Meloidogyne sp. et Pratylenchus sp. These Doct. Francia, Universidad de Renne. ENSA. 123 p.
2. ARANGO, L.G.B. ; et al 1982. Pruebas de resistencia a especies de Meloidogyne en plantulas de Coffea spp. In Colloque scientifique international sur le cafe. (10., 1982, Salvador-Bahia, Brasil). Paris, Francia. Association Scientifique Internationale du Cafe. p 563-568.
3. ARRUDA , H. Y.; REISS, A. J. 1960. reducao nas duas primeiras colheitas de cafe, debido ao parasitismo do nematoide. Biologico (Bra) 28(12): 349.
4. BAUER, M.L. 1967. Fitopatologia. Mexico, Limusa. 384 p.
5. BONETI, J. L. 1982. Influencia do parasitismo de Meloidogyne exigua sobre a absorcao micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. Fithopathologia Brasileira 7(2):197-205.
6. CALDERON-VEGA, M. 1989. Reaccion de diferentes genotipos de cafe Meloidogyne arabica. IN Lopez y Salazar (1989), gama de hospedantes y hongos fitopatogenos asociados. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 64 p.
7. CAMPOS, V.; et al. 1990. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In Plant parasitic nematodes in subtropical agriculture. Luc, M.; Sicora R. and Bridge J. eds. Wallingtonford, Inglaterra, CAB International. p. 387-430.
8. CARVALHO, A.; MONACO, L.C. 1972. Transferencia do factor Caturra para cultivar Mundo Novo de *C. arabica*. Bragantia (Bra) 31:379-399
9. CARVALHO, A. 1988. Principal and coffee plant breeding for productivity and quality factors, Coffea arabica. Coffee Agronomy (Londres) 4:129-160.
10. CURI, S.M.; et al. 1970. Novas fontes de resistencia genetica de Coffea no controle de nematoide do cafeeiro, Meloidogyne exigua. Biológico (Bra) 36:293-295.
11. CHARRIER, A. 1978. Analyse de la variabilite phenotypique de la collection de Coffea arabica a Madagascar. Francia, Centre de Cooperation Internationale en Recherche pour le Developpement. Bulletin No. 14. 97 p.
12. —————. 1985. Progres et perspectives de l'amelioration genetique des cafeiers. In Colloque scientifique international sur le cafe (11., 1985, Lome, Togo) Paris, Francia. Association Scientifique du Cafe. p 403-425.
13. CHITWOOD, B.G.; BERGE, C.A. 1960. Preliminary report on nemic parasites coffee in Guatemala with suggested and interim control measures. Plant Diseases (E.E.U.U.) 44:841-847.

14. CRUZ, J.R. DE LA. 1980. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
15. DALMASSO, A.; BERGE, J.B. 1983. Enzyme polymorphism and the concept of parthenogenetic species exemplified by Meloidogyne. In Concepts in nematode systematic. Stone, A.R.; Platt, H.M.; Khalil L.F. eds. London, Academic Press. p. 87-196.
16. DEGURAN, G.; NETSCHER, C. 1970. Nematodes of the genus Meloidogyne parasites of tropical crops. Cah. ORSTOM (Francia) 11:151-185.
17. DECKER, H.; RODRIGUEZ FUENTES, M. 1989. The occurrence of root gall nematodes Meloidogyne mayaguensis on Coffea arabica in Cuba. Naturwissenschaftliche Reihe (Germany) 38 (3):32-34.
18. EISENBACK, J.D.; HIRSHMANN, H; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of Meloidogyne female head structures, perineal pattern, and stylets. J. nematol. (E.E.U.U.) 12:300-313
19. ESBENSHADE, P.R.; TRIANTHAPHYLLOU, A.C. 1985. Use of enzyme phenotype for identification of Meloidogyne species. J. Nematol., (E.E.U.U.) 17:6 -20.
20. ESKES, A.B. 1991. Final consultancy report of two missions carried out in Indonesia. France, FAO project TCP/ INS/8959. 46 p.
21. GARCIA, A. 1991. Les pseudococcidae depredatrices des racines de caféier (Coffea arabica L.) au Guatemala cas particulier de Dysmicoccus cryptus (Hampel, 1918). Thèse Doct. Francia, Univ. Paul-Sabatier Toulouse III. 122 p.
22. GIRON, J. 1991. Diagnóstico de la clorosis típica en café, región cafetalera de San Marcos y Quetzaltenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad Rafael Landívar. 39 p.
23. GOELDI, E. 1987. Relatório a molestia do cafeeiro na provincia do Rio de Janeiro. Apparently advance separate of: Archos Mus. Nac. (Bra), Rio de Janeiro. 8, 7-121, 1892.
24. GONÇALVES, W.; et al. 1978. Estimativos de danos ocasionados pelos nematóides do cafeiro. Pesquisa (Bra). 6: 182-186.
25. GONÇALVES, W. 1992. Melhoramiento do cafeeiro visando restencia a nematóides. Informe Agropecuario (Bra) 16(172):66-72.
26. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1980. Dicionario geográfico de Guatemala. Guatemala, Tipografia Nacional. Tomo 3, p. 84-93, 158-165, 401-165.
27. HUSSEY R.S.; SASSER, J.N.; HUISING, D. 1972. Disc electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of Meloidogyne incognita and M. arenaria. J. Nematol. (E.E.U.U.) 4:183 -89.

28. INGUZA, M.A. 1963. El nematodo del nudo de la raíz del cafeto Meloidogyne exigua Goeldi, 1898. *Café Peruano* 2(14):4-7.
29. JAEHN, A.; REBEL, E.K. 1978. Nova caixa para expurgo de solo visando o controle de nematoides *In*: Resumos do 7 CBPC. Rio de Janeiro, Brasil. IBC-GERCA. p. 51-51.
30. JANATI, A. 1979. Contribution a l'etude des estérases chez le Meloidogyne (Nematoda, Tylenchida). Thèse Doct. Francia, Ing. Univ. Sci. Tech. 84 p.
31. JOBERT, C. 1878. Sur une maladie de cafeir au Brésil. *Comp. rend. Hebom. Sean. Sei.* (Francia) 87:941-943.
32. LIMA, R.D. 1984. Embriogenese, desenvolvimento pós-embriogénico e caracterizacáo morfométrica de Meloidogyne exigua, Goeldi 1887. Thesis Mag. Sc. Minas Gerais, Brasil, Universidad de Fitopatologia de Vicosá. 74 p.
33. LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of somes Meloidogyne sp. from Costa Rica. *Turrialba (C.R.)* 34(4):445-458.
34. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1989. Meloidogyne arabicida sp. n (Nemata:Heteroderidae) nativo de Costa Rica: un nuevo y severo patógeno del cafeto. *Turrialba (C.R.)* 39 (3):313-323.
35. LORDELLO, L.G.; ZAMITH, A.P.L. 1960. Meloidogine coffeicola sp. n., a pest of coffee trees in the state of paraná, Brazil, (Nematoda, Heteroderidae). *Revista Brasileira de Biologia (Bra)* 20:375-379.
36. LORDELLO, L.G.; MELLO FILHO, A.T. 1970. Mais um nematóide ataca o cafeeiro. *Revista de Agricultura (Bra)* 45:102.
37. LORDELLO, L.G. 1972. Nematode pest of coffee. *In* *Economic nematology*. London, Academic Press. p. 268-284.
38. LORDELLO, R.R.A.; LORDELLO, A.I.L. 1987. Avaliacao da resistencia de cafeeiros a racas de Meloidogyne incognita. *Bragantia (Bra)* 46(1):59-64.
39. MACEDO, N. 1974. Estudio sobre diferentes patogenicidades de Meloidogyne exigua en cafetos en Sao Paulo. *Solo (Bra)* 66(2):23-27.
40. MENDEZ, B.P.; FERRAZ, S.; SHIMOYA, C. 1977. Observacoes histopatológicas de cafeeiro por Meloidogyne exigua Goeldi 1887. *In* Reuniao de Nematología. (2., 1976, Piracicaba, Brasil). Brasil, Sociedade Brasileira de Nematología. p. 207-229.
41. MIGUEL, A.E.; *et al.* 1984. Efeitos dos diferentes tipos de podas na morte de raizes do cafeeiro. *In* Onceavo congreso brasileiro de investigaciones en café. (1984, Londrina, Paraná, Brasil). Brasil, IBC p. 240-241.
42. MOLINA, F. *et al.* 1995. Hombres de café. Guatemala, Asociación Nacional del Café. 165 p.

43. MORAES, M.V. ; LORDELLO L.G. 1977. Estudio de tres poblaciones de nematodos nocivos al cafeto. *Nematol. (Bra)* 2:249-255.
44. MORERA, N; LOPEZ, R. 1987. Desarrollo y reproducción de tres poblaciones de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, en cafeto cv. catuai. *Turrialba (C.R.)* 38:1-5.
45. NETSCHER, C. 1978. Morphological and physiological variability of species of *Meloidogyne* in West Africa and implication for their control. *Mededeeling Landbouwhoges. (Holanda)* 47:78-83.
46. RAHM, G. 1929. Nematóides parasita e simiparasitas de diversas plantas cultivadas no Brasil. *Archivos do Instituto Biológico (Bra)* 2:67-137.
47. RAMMAH, A. 1988. Morphological and taxonomic studies of certain populations of the Root- knot nematodes *Meloidogyne arenaria* and *javanica*. *Mag. Sc. Estados Unidos, North Carolina State University.* 192 p.
48. SALAS, L.A.; ECHANDI, E. 1961. Parasitic nematode en *Coffea* plantation of Costa Rica. *Coffea* 3:6-9.
49. SANTOS, J.M.; HIRSHMANN, TRIANTAPHYLLOU, H. 1992. Determinación de los fenotipos isoenzimásticos y estudios comparativos de la morfología de 88 poblaciones de *Meloidogyne spp.* parasitos del café. *In* Congreso brasileiro de nematología. (16., 1992, Lavras, Minas Gerais, Brasil). Brasil, Sociedade Brasileira de Nematología. p. 42.
50. SARA, J.L. 1990. Rapport de mission en América Centrale, Appui au programme de lutte contre les nématodes du café. Montpellier, France, IRCC-IRFACIRAD. 17 p.
51. SASSER, J.N. 1966. Behavior of *Meloidogyne spp.* from various geographical locations on ten host differentials. *Nematol. (EE.U.U.)* 12(1): 97-98.
52. —————. 1972. Physiological variation in the genus *Meloidogyne* as determined by differential host. *In* Plant parasitic nematodes in subtropical agriculture. Luc, M.; Sicora R. and Bridge J. eds. Wallingtonford, Inglaterra, CAB International. p. 137-180
53. —————. 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. *In*: Root-knot nematodes. eds. Lamberti, F.; Taylor, C.E. London, Academic Press. p. 360-374.
54. SIMMONS, C.H.; TARANO, J.M.; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. 1a. Trad. Pedro Tirado S. Guatemala, José Pineda Ibarra. 1000 p.
55. SHIEBER, E.; SOSA, O. 1960. Nematodes on coffee in Guatemala. *Plant Disease Reporter. (E.E.U.U.)* 44:22-23.

56. SHIEBER, E. 1968. Nematode problems of coffee. *Tropical Nematology* (E.E.U.U.) 4:72-91
57. ————— 1971. Nematodes on Coffea in Guatemala. *Nematrópica* (E.E.U.U.) 1:17.
58. SHIEBER, E.; ZENTMYER, G.A. 1983. Spread of coffee rust in the americas. In *Simposio sobre ferrugens do cafeeiro* (1983, Oeiras, Portugal). Portugal, CIF. p. 165-179.
59. TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de raíz Meloidogyne spp. Estados Unidos, Raleigh, Universidad de Carolina del Norte. 111 p.
60. TOLEDO, J.C. 1990. Caracterización patogénica de cinco poblaciones de Nacobus aberrans y evaluación del daño que causa a tomate, chile y frijol en México. Tesis Mag. Sc. Montecillos, Mexico, Colegio de Postgraduados. 64 p.
61. WALLACE, H.R. 1971. The influence of the density of nematode populations on plants. *Nematologica* (E.E. U.U.) 17:154-166.
62. WITHEHEAD, A.G. 1969. Nematodes attacking coffee, tea and cocoa and their control. In: *Nematodes of Tropical Crops*. England, St. Albans Herts. p. 238-250.
63. ZIMMERMANN, A. 1898. De nematoden der Koffiewortels. *Landsplantentuin Mededeeling* (Holanda) 27(1):16-41.

Vo. Bo.
Petualke



12. ANEXOS

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIOLOGIA Ce.

12.1. Principio de la Electroforésis de Proteínas.

La electroforésis consiste en la separación de moléculas proteicas que tienen un carácter anfótero bajo la acción de un campo eléctrico. Bajo la influencia del mismo, las moléculas de proteínas que son ionizadas por efecto del pH de la solución donde se encuentran, adquieren una carga eléctrica, la que provoca su desplazamiento hacia el ánodo o el cátodo, este desplazamiento es la "movilidad electroforética".

Al aplicar la electroforésis en líquidos biológicos para la detección de isoenzimas se utilizan soportes inertes, en este caso la gel de poliacrilamida. Es esta gel las proteínas migran al interior de un conjunto de poros de manera que las moléculas son separadas básicamente en función de su carga eléctrica.

El dispositivo está constituido de : - un soporte que es la gel de poliacrilamida donde se insertan los extractos proteicos de hembras de Meloidogyne, - una solución tampón donde están sumergidos los electrodos, y - un generador "Pharmacia".

La realización de la electroforésis comprende las siguientes etapas: - preparación de extractos proteicos, - preparación de gel de poliacrilamida, - "electroforésis" propiamente dicha, - revelación de la enzima esterasa B.

12.2. Preparación de los extractos proteicos.

Los extractos se forman a partir de un "machacado" de hembras de Meloidogyne. Las hembras se separan cuidadosamente de las raíces infestadas y son depositadas individualmente en tubos microhematocritos, ellas se "machacan" en un tampón de extracción (sacarosa 20%, nondet P⁴⁰ o triton 1 %.). Los extractos directamente utilizables se refrigeran a 4°C hasta su utilización.

12.3. Preparación de las geles de poliacrilamida.

Las geles son preparadas a una concentración constante (7%) de acrilamida y biscrilamida. Estas se componen de una parte superior denominada "gel de concentración", en

la cual se insertan los extractos proteicos, y de una segunda parte denominada "gel de separación" donde se realizará la migración electroforética.

12.4. Electroforésis propiamente dicha.

Al gel se le hacen 10 ventanas verticales con el auxilio de un "peine" cuyos dientes se humedecen en una solución de azul de bromofenol, éste por su movilidad electroforética propia, constituye el indicador del frente de migración cuando el gel se encuentra bajo tensión. Cada extracto es colocado con una microjeringa en las ventanas. En la primera se pone el extracto de cinco hembras de Meloidogyne javanica que es utilizado como marcador "testigo".

Después de la migración se revelan las esterasas sumergiendo los gel en la solución siguiente : tampón fosfato de sodio 0.05 M, pH 7.2 (50 ml), "fast blue" RR (30 mg), naftil y acetato (40 mg disueltos en 12 ml de acetona). Esto permite preparar 4 gel de 0.4 mm de espesor.

La reacción enzimática es acompañada de una reacción de color, en tal sentido la solución revelado contiene por una parte los substratos y coenzimas que permiten funcionar a la enzima y obtener un producto, por otra lleva los reactivos que en presencia de este producto conducen a la formación de un compuesto insoluble de color, el formazán; después de 30 minutos aparecen las bandas esterásicas. Enseguida se fijan los revelados en una solución de ácido acético al 7% para conservar los geles emplastificados.



LA TESIS TITULADA: "CARACTERIZACION PATOGENICA Y DETERMINACION ESPECIFICA DE CINCO POBLACIONES DE Meloidogyne spp. En Coffea arabica L. VARIEDAD CATUAI".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: AMAURI RENDOLFO MOLINA ALVAREZ

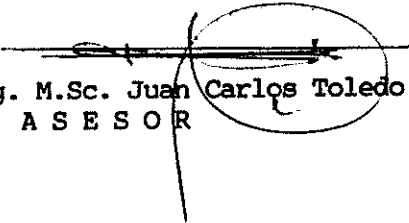
CARNET No: 8410039

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Tomás Padilla
 Ing. Agr. Gustavo Alvarez
 Ing. Agr. Marino Barrientos

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas universitarias y reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.


 Ing. M.Sc. Edil Rodríguez
 ASESOR



 Ing. Agr. Nematólogo Luc Villain
 ASESOR



 Ing. M.Sc. Juan Carlos Toledo
 ASESOR


 Ing. Agr. Fernando Rodríguez
 DIRECTOR DEL IIA. DIRECCION



I M P R I M A S E


 Ing. Agr. Rolando Lara
 DECANO



cc:Control Académico
 Archivo
 FR/prr.

APARTADO POSTAL 1545 • 01091 GUATEMALA, C. A.

TELEFONO: 769794 • FAX: (5022) 769770

