

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA INTEGRADA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

**USO DEL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO EN ALMÁCIGOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)
EN LOS MUNICIPIOS DE ACATENANGO Y SAN PEDRO YEPOCAPA,
CHIMALTENANGO Y DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS EN ANACAFÉ, GUATEMALA, C.A.**

EDER LEONARDO GONZÁLEZ ARIAS

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA

**USO DEL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO EN ALMÁCIGOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)
EN LOS MUNICIPIOS DE ACATENANGO Y SAN PEDRO YEPOCAPA,
CHIMALTENANGO Y DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS EN ANACAFÉ, GUATEMALA, C.A.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

EDER LEONARDO GONZÁLEZ ARIAS

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRÓNOMO
EN

SISTEMA DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

DR. CARLOS GUILLERMO ALVARADO CEREZO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

| | |
|---------------|---|
| DECANO | Ing. Agr. Mario Antonio Godínez López |
| VOCAL PRIMERO | Dr. Tomás Antonio Padilla Cámara |
| VOCAL SEGUNDO | Ing. Agr. MA. César Linneo García Contreras |
| VOCAL TERCERO | Ing. Agr. M.Sc. Erberto Raúl Alfaro Ortiz |
| VOCAL CUARTO | P. Agr. Walfer Yasmany Godoy Santos |
| VOCAL QUINTO | P Contador. Neydi Yassmine Juracán Morales |
| SECRETARIO | Ing. Agr. Juan Alberto Herrera Ardón |

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2017

Guatemala, noviembre de 2017

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

Honorable miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de graduación titulado como:

Uso del análisis nematológico en almácigos de café (*Coffea arabica* L.) en los Municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango y Diagnóstico y servicios en ANACAFÉ, Guatemala, C.A.

Como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistema de Producción Agrícola, en el grado de académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Eder Leonardo González Arias

ACTO QUE DEDICO

A Dios

Me has mandado a esforzarme y ser valiente, ha no temer ni desmayar porque tu Jehová has estado conmigo en cada momento de mi vida.

Mi mamá

Martina Arias, por ser ejemplo de lucha, fortaleza y amor, por nunca dejarme solo en ningún momento, por sus oraciones que siempre me cuidan.

Mis Padres

Francisco Hoffens y Everardo Gonzalez, por sus consejos y ejemplo de lucha.

Mis hermanos

Paquito († QEPD) y Kenny Arias, por el cariño y momentos de felicidad que compartimos juntos, todo se puede con esfuerzo y dedicación los amo.

Me esposa

Kimberly Alvarez de Gonzalez, gracias por su apoyo incondicional, amor, paciencia y comprensión, instándome a concluir esta etapa de mi vida.

Mi hija

Dayana Estefanía, tu que eres una bendición de Dios para mi vida, nunca te des por vencida con fe y alegría los sueños se vuelven realidad.

Amigos

Por inolvidables recuerdos de estudiante y su constante apoyo para la culminación de mi carrera.

TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A DIOS:

Por permitirme culminar esta fase de mi vida.

**UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Por abrir las puertas del conocimiento y forjar las bases de mi profesión

FACULTAD DE AGRONOMÍA

por formarme a través de los años y permitirme tener el orgullo de ser egresado de esta gloriosa facultad

ANACAFÉ

Por la oportunidad invaluable de formarme como profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Página |
|-------------------------|--------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| ÍNDICE DE CUADROS | vii |
| RESUMEN | viii |

CAPÍTULO I

DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO DE PROTECCIÓN VEGETAL DE ANACAFÉ, GUATEMALA, GUATEMALA, C.A.

| | |
|--|---|
| 1.1. PRESENTACIÓN..... | 1 |
| 1.2. MARCO REFERENCIAL..... | 2 |
| 1.2.1. Ubicación..... | 2 |
| 1.2.2. Generalidades de Analab | 2 |
| 1.2.3. Normas del laboratorio | 3 |
| 1.3. OBJETIVOS..... | 4 |
| 1.3.1. Objetivo general | 4 |
| 1.3.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| 1.4. METODOLOGÍA | 5 |
| 1.4.1. Recopilación de Información | 5 |
| 1.4.2. Análisis FODA | 5 |
| 1.5. RESULTADOS..... | 6 |
| 1.5.1. Análisis de las fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas (FODA) del departamento del laboratorio de Analab..... | 6 |
| 1.6. CONCLUSIONES | 8 |
| 1.7. BIBLIOGRAFÍA | 9 |

CAPÍTULO II

USO DEL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO EN ALMÁCIGOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN LOS MUNICIPIOS DE ACATENANGO Y SAN PEDRO YEPOCAPA, CHIMALTENANGO, GUATEMALA, C.A.

| | Página |
|--|--------|
| 2.1. PRESENTACIÓN | 11 |
| 2.2. MARCO TEÓRICO | 13 |
| 2.2.1 Marco conceptual | 13 |
| 2.2.1.A. Resumen histórico del cultivo del café | 13 |
| 2.2.1.a Importancia económica del cultivo de café | 13 |
| 2.2.1.b Morfología del cafeto | 14 |
| 2.2.1.c. Los Nematodos..... | 17 |
| 2.2.1.d. Anatomía de los nematodos | 18 |
| 2.2.1.e. Ciclo vital | 21 |
| 2.2.1.f. Ambientes de los nematodos fitoparásitos | 22 |
| 2.2.1.g. Poblaciones de nematodos..... | 22 |
| 2.2.1.h. Temperatura | 23 |
| 2.2.1.i. Humedad | 23 |
| 2.2.1.j. Textura y estructura del suelo..... | 24 |
| 2.2.1.k. Constitución del suelo..... | 25 |
| 2.2.1.l. Clima..... | 26 |
| 2.2.1.m. El ambiente de la planta | 26 |
| 2.2.1.n. La rizosfera..... | 27 |
| 2.2.1.ñ. Alimentación y daños a las plantas..... | 27 |
| 2.2.1.o. Nematodos asociados al cultivo de café..... | 28 |
| 2.2.1.p. Descripción de especies y síntomas de los nematodos que parasitan al cultivo del café..... | 28 |
| 2.2.1.q. Pasos para el para la extracción de nematodos | 33 |
| 2.3. MARCO REFERENCIAL..... | 43 |
| 2.3.1. Ubicación geográfica de Acatenango | 43 |

| | Página |
|---|--------|
| 2.3.1.1 Suelos..... | 44 |
| 2.3.2. Ubicación geográfica de San Pedro Yepocapa | 44 |
| 2.4. OBJETIVOS..... | 46 |
| 2.4.1. Objetivo general | 46 |
| 2.4.2. Objetivos específicos..... | 46 |
| 2.5. METODOLOGIA | 47 |
| 2.5.1. Obtención de la muestra | 47 |
| 2.5.1. Diseño del instrumento | 50 |
| 2.5.2. Ejecución de la encuesta..... | 50 |
| 2.5.3. Análisis de la información..... | 50 |
| 2.5.4. Difusión de los resultados y propuestas técnicas | 50 |
| 2.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 51 |
| 2.6.1. Resultados técnicos de las encuestas realizadas en las fincas de Acatenango | 51 |
| 2.6.2. Resultados de encuestas en fincas de San Pedro Yepocapa | 60 |
| 2.6.3. Propuesta técnica..... | 68 |
| 2.7. CONCLUSIONES | 75 |
| 2.8. RECOMENDACIONES | 76 |
| 2.9. BIBLIOGRAFÍA | 77 |
| 2.10. ANEXOS | 79 |

CAPÍTULO III

SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE PROTECCION VEGETAL DE ANACAFE, UBICADO EN GUATEMALA, GUATEMALA, C.A

| | |
|-------------------------|----|
| 3.1. PRESENTACIÓN | 86 |
|-------------------------|----|

| | |
|---|-----|
| 3.2. SERVICIO No. 1. SISTEMATIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO A NIVEL LABORATORIO. | 87 |
| 3.2.1. Objetivos..... | 87 |
| 3.2.2. Metodología | 87 |
| 3.2.2.1. Métodos para la extracción de nematodos en raíz | 87 |
| 3.2.3. RESULTADOS..... | 89 |
| 3.2.3.1. Extracción de nematodos por tamizado y centrifugado | 89 |
| 3.2.4. EVALUACIÓN | 93 |
| 3.2.5. Sistematización de la extracción de nematodos para la raíz | 94 |
| 3.3. SERVICIO No. 2. SISTEMATIZACION DE METODOLOGIA DE CRIA DE Pratylenchus SP SOBRE DISCOS DE ZANAHORIA (Daucus Carota) IN VITRO. | 101 |
| 3.3.1. Objetivo..... | 101 |
| 3.3.2. Metodología | 101 |
| 3.3.3. Resultados..... | 105 |
| 3.3.3.1 Cría de Pratylenchus sp. Sobre discos de zanahoria (Daucus carota) in vitro | 105 |
| 3.3.4. EVALUACIÓN | 107 |
| 3.3.5. BIBLIOGRAFÍA..... | 111 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

| | |
|--|----|
| Figura 1. Organigrama de los laboratorios | 2 |
| Figura 1. Exportación de café de Guatemala cosechas 1,999/2,000 – 2,012/2,013. | 14 |
| Figura 2. Ciclo patológico del nematodo lesionador <i>Pratylenchus</i> spp. | 29 |
| Figura 3. Ciclo patológico del nódulo de la raíz producida por nematodos del genero <i>Meloidogyne</i> spp..... | 31 |
| Figura 4. Mapa de fincas de Acatenango, Chimaltenango | 43 |
| Figura 5. Mapa de fincas de San Pedro Yepocapa, Chimaltenango. | 45 |
| Figura 6. Selección de semilla para almácigo, Acatenango. | 52 |
| Figura 7. Compra semilla para almácigo, Acatenango..... | 53 |
| Figura 8. Variedades más utilizadas en Acatenango. | 53 |
| Figura 9. Tipo de sustrato utilizado, Acatenango | 54 |
| Figura 10. Tipo de desinfección del sustrato, Acatenango | 55 |
| Figura 11. Tipo de almácigo utilizado, Acatenango..... | 55 |
| Figura 12. Cantidad de almácigo de Acatenango por finca | 56 |
| Figura 13. Utilización del injerto, Acatenango | 57 |
| Figura 14. Fertilización del almácigo, Acatenango | 57 |
| Figura 15. Desinfección química del sustrato, Acatenango..... | 58 |
| Figura 16. Conoce el análisis de nematodos, Acatenango..... | 59 |
| Figura 17. Porque no utiliza el análisis de nematodos, Acatenango | 59 |
| Figura 18. Selección de semilla para almácigo, Yepocapa | 61 |
| Figura 19. Compra semilla para almácigo, Yepocapa..... | 61 |
| Figura 20. Variedades más utilizadas en Yepocapa | 62 |
| Figura 21. Tipo de sustrato utilizado, Yepocapa | 63 |
| Figura 22. Tipo de desinfección del sustrato, Yepocapa | 63 |
| Figura 23. Tipo de almácigo utilizado, Yepocapa..... | 64 |
| Figura 24. Cantidad de almácigo de Yepocapa por finca | 64 |
| Figura 25. Fertilización del almácigo, Yepocapa | 65 |
| Figura 26. Desinfección química del sustrato, Yepocapa..... | 66 |

| | Página |
|--|--------|
| Figura 27. Procedencia del suelo para el sustrato. Yepocapa | 66 |
| Figura 28. Conoce el análisis de nematodos, Yepocapa..... | 67 |
| Figura 29. Porque no utiliza el análisis de nematodos, Yepocapa | 67 |
| Figura 30A. Encuesta a productor, Finca Los Ángeles, Yepocapa | 79 |
| Figura 31A. Distribución geográfica de los dos géneros <i>Pratylenchus</i> y <i>Meloidogyne</i> sobre café..... | 80 |
| Figura 32A. Encuesta a productor, finca El Platanar, Acatenango..... | 80 |
| Figura 33A. Boleta para levantamiento de datos en fincas cafetaleras..... | 81 |
| Figura 31. Lavado de raíces..... | 89 |
| Figura 32. Pesado y licuado de raices..... | 90 |
| Figura 33. Conteo de nematodos al microscopio. | 92 |
| Figura 34. Unidad de oxigenación..... | 102 |
| Figura 35. Solución concentrada de nematodos | 103 |
| Figura 36. Esterilización: A) zanahorias, B) discos de zanahoria..... | 104 |
| Figura 37. Disco de zanahoria inoculado de nematodos..... | 105 |
| Figura 38. Disco de zanahoria en oxigenación..... | 106 |

ÍNDICE DE CUADROS

Páginas

| | |
|---|-----|
| Cuadro 1. Análisis FODA del departamento de Analab..... | 6 |
| Cuadro 2. Matriz de Priorización de problemas..... | 7 |
| Cuadro 3. Productos utilizados para el tratamiento de patógeno en el suelo de los almácigos. | 17 |
| Cuadro 4. Listados de fincas encuestados en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango. | 49 |
| Cuadro 5. Propuesta técnica y económica sobre el conocimiento de nematodos y manejo integrado de nematodos (MIN) | 69 |
| Cuadro 6. Productos utilizados para la desinfección del sustrato | 71 |
| Cuadro 7. Costo de material didáctico..... | 73 |
| Cuadro 8A. Listado general de fincas cafetaleras en el área de Acatenango y San Pedro Yepocapa. | 82 |
| Cuadro 9. Información Finca El Platanar..... | 105 |

RESUMEN

Uso del análisis nematológico en almácigos de café (*Coffea arabica* L.) en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Diagnostico y Servicios Chimaltenango, Guatemala, C.A.

El presente trabajo de graduación, está integrado por tres componentes: el diagnóstico, la investigación y los servicios, los cuales se llevaron a cabo en el laboratorio de ANACAFÉ (Analab). durante Ejercicio Profesional Supervisado EPS de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

El diagnóstico se realizó con el objetivo de identificar los principales problemas que afectan en el laboratorio, se priorizaron basándose en las necesidades más urgentes y relevantes que afectan los procesos de análisis y entrega de resultados. La información se generó gracias a la participación de jefes de los laboratorios, analistas y personal administrativo.

Los principales problemas identificados que afectan el laboratorio fueron, falta de un software para generar los reportes de resultados, falta de metodologías escritas de los análisis, falta de personal en el área, falta de controles internos en los análisis y falta de publicidad de los servicios prestados por el laboratorio de ANACAFÉ.

El trabajo de investigación fue realizado en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa. Los datos colectados contribuyen a tener la idea de cuál es el conocimiento de los productores de café en cuanto al daño que realizan los nematodos y el peligro de dispersión por traslado de almácigo contaminado de un municipio a otro.

La mayoría de caficultores de Acatenango y Yepocapa desconocen el servicio de análisis de nematodos prestado por el de Analab lo que agrava la situación es que no conocen la importancia de realizar dicho análisis. Un efecto positivo es que el 100 % de los almácigos de Yepocapa están siendo injertados lo que favorece la tolerancia de ciertas poblaciones de nematodos en la raíz, en contra parte Acatenango no utiliza el injerto.

Los servicios que se llevaron a cabo fueron: Sistematización del procedimiento para el análisis nematológico a nivel laboratorio y Sistematización de metodología de cría de *pratylenchuns sp* sobre discos de zanahoria (*daucus carota*) in vitro.



CAPÍTULO I

**DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO DE PROTECCIÓN VEGETAL DE ANACAFÉ,
GUATEMALA, GUATEMALA, C.A.**

1.1. PRESENTACIÓN

La Asociación Nacional del Café, entidad de derecho público, no lucrativa, constituida por los caficultores de la República y con personalidad jurídica, se fundó en 1960, como institución gremial de los caficultores, dedicada a facilitar la unidad y el desarrollo de la caficultura, prestando servicios de calidad en un mercado libre.

Como parte del Ejercicio Profesional Supervisado –EPS- durante el periodo de febrero a noviembre de 2014, se realizó un diagnóstico en la Asociación Nacional de Café (ANACAFÉ), en el área de laboratorio (Analab), específicamente en el laboratorio de protección vegetal. Se encuentra en el sótano del edificio de ANACAFÉ localizado en la calle del café 0-50 zona 14 Guatemala, Guatemala. Analab es un laboratorio con más de 42 años de experiencia, especializado en realizar análisis de: suelos, foliares, enfermedades de plantas, nematodos y agua.

Debido a la importancia que tiene este laboratorio para la asociación, se planteó la realización de un diagnóstico con la principal finalidad de identificar de las principales fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas

Dentro de los hallazgos encontrados está el establecimiento del sistema de gestión de calidad y se obtuvo un plan operativo anual para el laboratorio Analab.

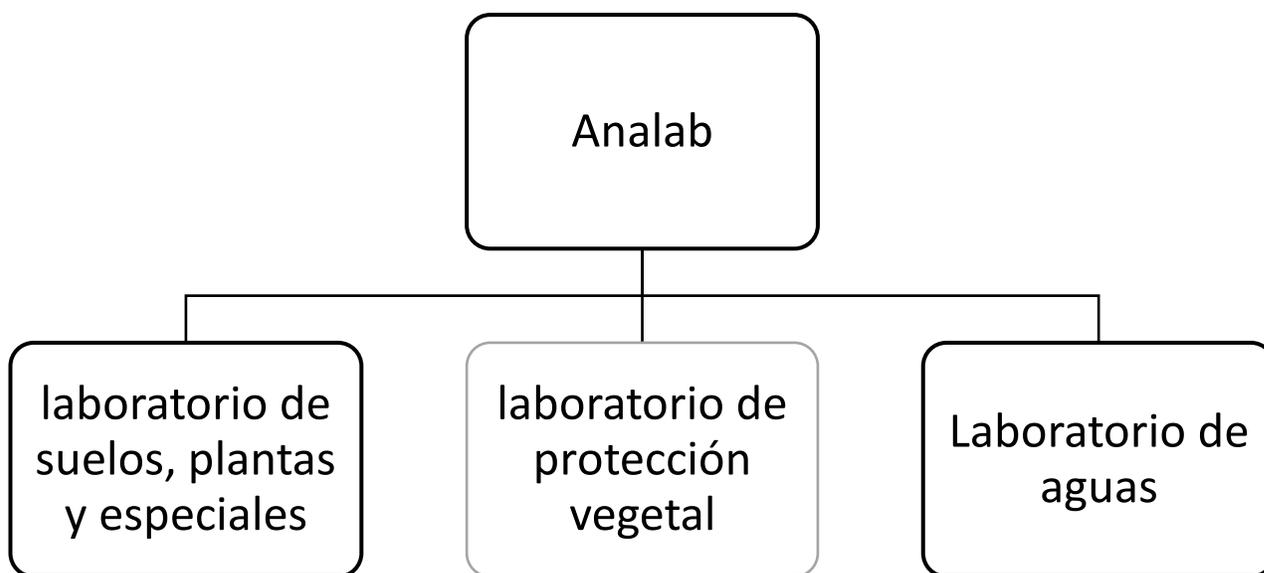
1.2. MARCO REFERENCIAL

1.2.1. Ubicación

Analab está localizado en la Calle del Café 0-50 zona 14 Guatemala, Guatemala. C.A., geográficamente en latitud, en el sótano 1 de las oficinas centrales de ANACAFÉ 90°31´07.08" O longitud 14°35´23.84" N.

1.2.2. Generalidades de Analab

Analab consta de tres laboratorios: a) protección vegetal, b) suelos, plantas y especiales; de protección vegetal; c) aguas. Estos laboratorios prestan sus servicios a los agricultores dedicados a la caficultura y agricultores dedicados a otros cultivos.



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 1. Organigrama de los laboratorios

1.2.3. Normas del laboratorio

- Únicamente el ingreso a personal autorizado.
- Utilización de vestimenta y equipo de protección (bata, guantes, mascarilla).
- Prohibido el uso de celulares adentro del laboratorio.
- Dejar las pertenencias personales en el locker.
- Prohibida la comunicación directa de los analistas y especialistas con los clientes, sobre sus muestras.
- Utilización de los equipos con claves de acceso, proporcionada a cada uno de los analistas.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

- Conocer la situación actual del laboratorio de protección vegetal de Analab, perteneciente a la Asociación Nacional del Café – ANACAFÉ.

1.3.2. Objetivos específicos

- Establecer las fortalezas del laboratorio de protección vegetal de la Asociación Nacional del Café – ANACAFÉ.
- Jerarquizar los problemas del laboratorio de protección vegetal de la Asociación Nacional del Café – ANACAFÉ.

1.4. METODOLOGÍA

La metodología que se utilizó para llevar a cabo el diagnóstico del laboratorio de Protección Vegetal de Analab de ANACAFÉ fue de tres fases:

1.4.1. Recopilación de Información

Para la recopilación de la información se realizaron las siguientes actividades:

Análisis FODA del laboratorio:

- Para el análisis de fortalezas y debilidades se llevó a cabo entrevistas con los trabajadores y coordinadores del laboratorio del laboratorio.
- Para el análisis de amenazas se realizó una entrevista con el coordinador de ANALAB, debido a los conocimientos externos de otros laboratorios.

1.4.2. Análisis FODA

El análisis FODA es una de las herramientas esenciales que provee de los insumos necesarios al proceso de planeación estratégica, proporcionando la información necesaria para la implantación de acciones y medidas correctivas y la generación de nuevos y mejores proyectos de mejora.

El término FODA es una sigla conformada por las primeras letras de las palabras **Fortalezas**, **Oportunidades**, **Debilidades** y **Amenazas**. Las fortalezas y debilidades son referidas a la organización. Las oportunidades y amenazas, en cambio, son externas.

1.5. RESULTADOS

1.5.1. Análisis de las fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas (FODA) del departamento del laboratorio de Analab.

De acuerdo con las entrevistas realizadas con el personal del laboratorio de Analab se recopiló información que permito realizar la matriz de FODA, cuadro 1, se puede observar el análisis FODA.

Cuadro 1. Análisis FODA del departamento de Analab

| FORTALEZAS | DEBILIDADES |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • El coordinador de ANALAB, posee amplia experiencia en el tema de los laboratorios. • El laboratorio de protección vegetal, posee los equipos suficientes en tecnología para la realización de los análisis. • Personal capacitado para el puesto en desarrollo. • Proceso de sistema de gestión de calidad establecido. • Se posee una Base de datos amplia de los análisis. • Existencia de un Plan Operativo anual del área. • Excelente ubicación del edificio zona comercial. | <ul style="list-style-type: none"> • No se cuenta con un software de recolección de y generación de reportes. • No se cuenta con un software de recolección de y generación de reportes. • Falta de controles para las metodologías de laboratorio • Falta de personal en el área. • Falta de oferta (publicidad) de los servicios de ANALAB. |
| OPORTUNIDADES | AMENAZAS |
| <ul style="list-style-type: none"> • Expansión del laboratorio a otros sectores de la agricultura. • Participación en inter-laboratorios a nivel nacional e internacional. • servicio de diagnóstico de problemas fitosanitarios en finca. | <ul style="list-style-type: none"> • Aparición de nuevos laboratorios en el mercado. • Poco interés de los caficultores en los servicios prestados. • Fluctuación constante en los precios del café. |

Fuente: Elaboración propia, 2014.

En cuadro 1, se puede observar los resultados del análisis FODA se logra establecer las diferentes fortalezas, Debilidades, Oportunidades y amenazas que el laboratorio de Analab

Cuadro 2. Jerarquización de problemas

| Problemas | Criterios | | | | | Total |
|--|--|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------|
| | Afecta el resultado final del análisis | Eleva el costo por muestra | Afecta la calidad del resultados | Retrasa la entrega de resultados | Afecta la atención al cliente | |
| No se cuenta con un software de recolección de y generación de reportes. | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 13 |
| Falta de metodologías escritas para cada tipo de análisis. | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 8 |
| Falta de controles para las metodologías de laboratorio. | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| Falta de personal en el área. | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 8 |
| Falta de oferta (publicidad) de los servicios. | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 7 |

Fuente: Elaboración propia, 2014.

De acuerdo con los resultados del análisis, los principales problemas son cuadro 2:

1. El laboratorio de protección vegetal no cuenta con el software para la generación de reportes.
2. La falta de metodologías escritas para cada uno de los análisis que se realizan en el área.
3. Falta de personal en el área.
4. Falta de controles internos para las metodologías.
5. Falta de publicidad de los servicios prestados por Analab.

1.6. CONCLUSIONES

1. Se logró establecer las principales fortalezas que posee el laboratorio de protección vegetal son el establecimiento del sistema de gestión de calidad y la elaboración de él plan operativo anual.

2. Las principales debilidades del laboratorio de Protección Vegetal son:
 - ✓ Falta de un software para generar los reportes de resultados.
 - ✓ Falta de metodologías escritas de los análisis.
 - ✓ Falta de personal en el área.
 - ✓ Falta de controles internos en los análisis.
 - ✓ Falta de publicidad de los servicios prestados por Analab.

1.7. BIBLIOGRAFÍA

1. FAUBA (Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Argentina). 2009. Análisis FODA. Argentina. 3 p.
2. IGN (Instituto Geográfico Nacional, Guatemala). 1972. Atlas nacional de Guatemala. Guatemala. 96 p.
3. INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, Guatemala). 2013. Tarjetas de registros climatológicos de la estación meteorológica Central INSIVUMEH. Guatemala. Consultado 20 mar 2014. Disponible en <http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Especial:WeatherPage&city=guatemala>
4. IPN (Instituto Politécnico Nacional, México; Secretaría Técnica, México). 2002. Metodología el análisis FODA (en línea). México. 24 p.



Polando Barrera



CAPÍTULO II

**USO DEL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO EN ALMÁCIGOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)
EN LOS MUNICIPIOS DE ACATENANGO Y SAN PEDRO YEPOCAPA,
CHIMALTENANGO, GUATEMALA, C.A.**

**Use of the nematological analysis in coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) in the
municipalities of Acatenango and San Pedro Yepocapa, Diagnostic and Servis
Chimaltenango, Guatemala, C.A.**

2.1. PRESENTACIÓN

El cultivo de café constituye una de las principales fuentes socioeconómicas de muchos países ubicados en diversos continentes como América, África y Asia. Entre estos se encuentra Guatemala, la población que subsiste por el trabajo de la Caficultura es el 25 % del total de la población económicamente activa del país, cultivando un total de 276,000 ha de café dividida en 7 regiones cafetaleras (ANACAFÉ, 2006).

Sin embargo, existen varios problemas que el caficultor debe enfrentar en el proceso productivo del café, por ejemplo: condiciones ambientales adversas, manejo inadecuado del cultivo, mala aplicación de fertilizantes químicos, la presencia de plagas y enfermedades del cultivo, que de una forma u otra ocasionan disminución en el rendimiento y la calidad del fruto, provocando pérdidas a la caficultura nacional (ANACAFÉ, 2006).

Uno de los problemas bióticos más importantes que afectan la producción de café son los nematodos, los cuales al dañar las raíces provocan en la parte aérea síntomas como marchitamiento, caída de hojas, deficiencias nutricionales, similares a los provocados por otras plagas y enfermedades de la raíz. Sin embargo, al examinar las raíces es posible identificar algunos síntomas más específicos, dependiendo del grupo de nematodos que ocasionan el daño (ANACAFÉ, 2006).

Para obtener una buena producción de café es indispensable garantizar desde el principio la calidad de las plántulas, debido a que de estas dependerá la producción de las mismas; por lo cual es importante la realización del análisis nematológico y de esta manera diagnosticar para garantizar la sanidad y la producción deseada (ANACAFÉ, 2006).

Debido a que Anacafé tiene un laboratorio que brinda el servicio de análisis nematológico, se realizó el estudio sobre el uso del análisis nematológico en almácigos de café (*Coffea arabica* L.) en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango, Guatemala, con el fin de conocer la proporción de caficultores que utilizan y no utilizan los recursos del análisis nematológico, como herramienta de control preventivo en almácigos de café, determinar las causas en base a encuestas y de esta manera realizar una propuesta técnica para promover el uso del análisis nematológico.

Según los resultados obtenidos en las encuestas realizadas en los 2 municipios se observó que en el municipio de Acatenango, de las 26 fincas encuestadas, existe un 88 % de ellas conoce el servicio de análisis Nematológico realizado por el laboratorio de ANACAFE y el 12 % restante no conocía este servicio; mientras que en el municipio de San Pedro Yepocapa, de las 10 fincas encuestadas existe un 80 % de ellas conoce el servicio y el 20 % restante no conocía este servicio.

Según lo recopilado en estas fincas existe un 50 % de ellas que no utilizan el análisis nematológico porque el caficultor desconoce la utilidad del mismo, 30 % debido al traslado de las muestras y el 20 % restante debido al costo en el caso de las fincas de San Pedro Yepocapa, mientras que en Acatenango, existe un 65 % de ellas que no utilizan el análisis nematológico porque desconoce la utilidad del mismo, 18 % debido al costo y el 17 % restante debido al traslado de las muestras.

Para fortalecer o mejorar los servicios prestados por el laboratorio de Anacafé, en los dos municipios se presentó una propuesta técnica sobre el conocimiento de nematodos y elaboración de MIP, que son los siguientes: a) brindar capacitación sobre nematodos agrícolas, b) utilización de estrategias del manejo integrado de plagas (MIP), c) técnicas para realizar muestreo de nematodos y su traslado al laboratorio bajo el enfoque del manejo integrado de plagas, d) Que los resultados cumplan con el tiempo de entrega previsto y la concientización de las buenas prácticas en la manejo del almacigo.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1 Marco conceptual

2.2.1.A. Resumen histórico del cultivo del café

El cafeto (*Coffea arabica*) es originario de Etiopía de la región que circunda el lago Tana, África. En Guatemala los padres Jesuitas introdujeron el cafeto en el año 1,760, quienes lo trajeron como planta ornamental para sus jardines de Antigua Guatemala. El primer registro del cafeto en plantación data del año 1,800 como un cultivo en las orillas de la Ciudad de Guatemala sembrado por Don Juan Rubio y Gemir. En el año 1,835 se da el decreto de octubre; “Se darán doscientos pesos al primer agricultor que coseche cien quintales de café, así como al segundo tercero y cuarto” (ANACAFE, 1988).

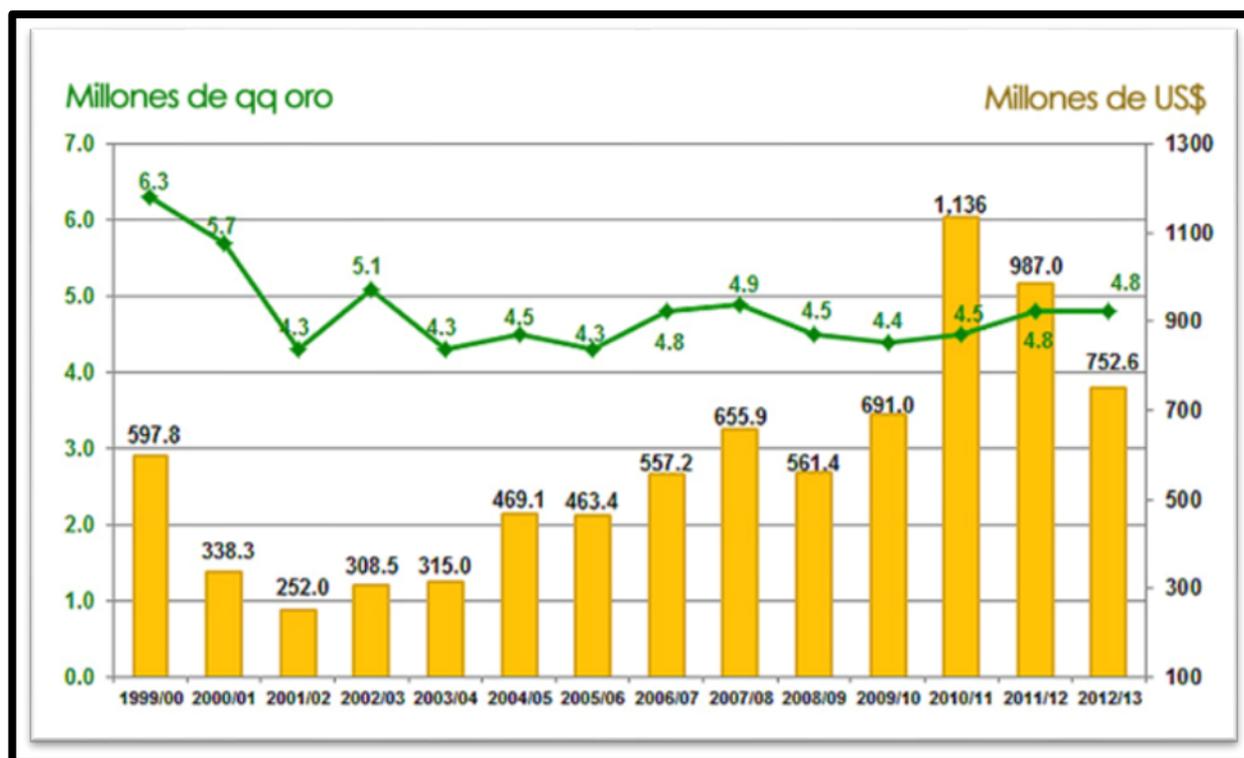
A partir del año 1,860 surgen las fincas más grandes dedicadas al cultivo del cafeto en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez, Suchitepéquez, Retalhuleu, Escuintla, Alta Verapaz, Jutiapa y Quetzaltenango, donde cobra particular renombre el café de Costa Cuca. En el año 1,865 el café de Guatemala se hace presentar en la Exhibición Internacional de París. En el año 1,871 el cultivo del cafeto era un negocio lucrativo se constituyó en el reglón principal de la economía de la nación y pasó a ocupar el primer lugar entre los artículos de exportación (ANACAFE, 1988).

2.2.1.a Importancia económica del cultivo de café

El ingreso de divisas por concepto de exportaciones de café registró su nivel más alto. Durante la temporada 2,010/2,011 se captaron U.S. \$ 1,136 millones siendo 4.5 millones qq de café oro (ANACAFÉ, 2016).

Durante la cosecha 2,012/2,013 se registra un ingreso de U.S. \$ 752.6 millones siendo esto 4.8 millones qq de café oro (ANACAFÉ, 2016).

ANACAFÉ continúa fortaleciendo la caficultura, con el propósito de que cada uno de los productores guatemaltecos contará con las herramientas para producir más y mejor. La especie económicamente más importante de café es *Coffea arabica* la cual constituye aproximadamente el 80 % - 90 % de la producción mundial, dentro de esto Guatemala tiene el quinto lugar (figura 1).



Fuente: (ANACAFE, 2014).

Figura 2. Exportación de café de Guatemala cosechas 1,999/2,000 – 2,012/2,013.

2.2.1.b Morfología del cafeto

a. Caracteres botánicos del café

La planta de café pertenece al reino Plantae, división Magnoliophyta, clase Dicotyledónea, sub-clase Asteridae, orden Rubiales, familia Rubiaceae, género *Coffea*. Se menciona que actualmente existen más de 100 especies del género de *Coffea* en el mundo; entre ellas

Coffea arabica que constituye el 75% del café de exportación y se produce en 61 países la mayor parte en Sur y Centro América (Jones, 1987, Sánchez, 1990).

El género *Coffea*, consta de 25 a 40 especies; géneros relacionados con ella y de valor económico u ornamental incluyen la *Quina*, *Ixora*, *Pavetta* y *Gardenia*, siendo la primera la fuente para la obtención de quinina (Jones, 1987, Sánchez, 1990).

b. Almacigo de café

La elaboración de un buen almacigo es parte fundamental en el éxito de la futura plantación. Tradicionalmente existen dos sistemas: uno en bolsa de polietileno y el otro en el suelo (ANACAFE, 2006).

Aspectos que deben tomarse en cuenta para hacer un almacigo:

- a. De fácil acceso.
- b. Cercano a los semilleros.
- c. Topografía plana o moderadamente inclinada.
- d. Con disponibilidad de riego.
- e. Protección contra vandalismo, daño por animales y viento.

c. Almacigo en bolsa

La más adecuada es la de polietileno negro, perforada, de las siguientes medidas:

De 3 mm de grosor y de 6 in x 8 in o de 7 in x 10 in , para una postura y de 6 in x 10 in o de 8 in x 10 in , para dos posturas (ANACAFE, 2006).

d. El suelo para el sustrato

Utilizar suelos provenientes de áreas que permitan hacer cortes profundos y hacer mezclas con arena, pulpa y/o gallinaza, para obtener un sustrato adecuado para llenar las bolsas y

que proporcione condiciones óptimas para el buen desarrollo de las plantas (ANACAFE, 2006).

e. Textura del suelo

El suelo debe ser de textura franca o suelta, proveniente de una mezcla equilibrada de arena, arcilla y limo. Si el suelo es arcilloso se debe agregar arena y si tiende a ser muy arenoso habrá que agregarle un poco de suelo arcilloso, de manera que se vuelva franco.

La textura del sustrato debe de ser franco arenoso y las proporciones adecuadas para la mezcla son del 70 % de tierra fértil, del 10 % al 20 % de materia orgánica y del 10 % al 20 % de arena

f. Materia Orgánica

Es recomendable el uso de materia orgánica como fuente de nutrientes naturales, y para ello se recomienda que esté totalmente descompuesta, seca y desmenuzada. Se mezcla en las proporciones siguientes (ANACAFE, 2006):

- a) Para un suelo franco: dos partes de suelo y una parte de pulpa o gallinaza.
- b) Para un suelo arcilloso: dos partes de suelo y una parte de arena y una parte de pulpa o gallinaza. Esta mezcla debe de estar libre de terrones y objetos extraños, por lo que es necesario tamizarlo con un cedazo de in.

g. Tratamiento al suelo

Las afecciones más generalizadas y comunes en Guatemala son: en primer lugar, las causadas por hongos y, en segundo lugar, las causadas por nematodos. Para proteger las plantitas recién trasplantadas, se recomienda usar los productos que se presentan en el cuadro 3 (ANACAFE, 2006).

Cuadro 3. Productos utilizados para el tratamiento de patógeno en el suelo de los almácigos.

| PRODUCTO | DOSIS | CONTROL | ÉPOCA DE LA APLICACIÓN | CLASIFICACION TOXICOLOGICA |
|--------------------|--|--|--------------------------------|----------------------------|
| BANROT | 2 - 4 g /gl/ m ² | Hongos | 2 a 3 días antes de siembra | IV |
| PREVICUR + DEROSAL | 6 cm ³ de gl/m ² | Hongos | 2 a 3 días antes de la siembra | IV |
| FURADAN. 5 G | ½ oz | Insectos y Nematodos | 8 días antes de la siembra | I B |
| MOCAP | ½ oz | Nematodos, insectos y cochinilla. | 15 días antes de la siembra | I A |
| BASAMID G | 1 oz | Hongos, insectos, nematodos y semilla de malezas | 12 días antes de la siembra. | IV |

Fuente: Elaboración propia, 2016.

2.2.1.c. Los Nematodos

Los nematodos son organismos de Reino Animal, generalmente microscópicos y con apariencia de pequeñas lombrices, que ya se alimentaban de raíces, en una relación de equilibrio (NAS, 1980).

Posteriormente, al surgir y desarrollarse la agricultura, algunos grupos de nematodos se fueron adaptando paulatinamente a ciertos cultivos, llegando a provocar daños importantes bajo condiciones de suelo y clima que le son favorables. Los nematodos se pueden encontrar en cualquier nicho ecológico que pueda propiciar la vida incluyendo desiertos, el fondo del mar, los hielos del Antártico y manantiales termales (NAS, 1980).

Los nematodos tienen aspecto vermiforme pero taxonómicamente son bastante distintos a los gusanos. La mayoría de los miles especies de nematodos viven libremente en aguas saladas o dulces, o bien en el suelo, alimentándose de plantas y animales microscópicos. Numerosas especies de ellos atacan y parasitan al hombre y a los animales, produciendo diversas enfermedades. Sin embargo, se sabe que varios centenares de sus especies se alimentan de plantas vivas, provocándoles también muchas y diversas enfermedades (Agrios, 2005).

Nematodo fitoparásitos como aquel que obtiene su alimentación de plantas vasculares; puede estar provisto de estomato estilete (presenta nódulos basales y está conectado al bulbo medio), odontoestilete (no presenta nódulos basales y es más grueso que el estomatoestilete) u onquioestilete, (Thiohod 1997).

Pueden ser polípagos o asociados a hospederos específicos. Este grupo de nematodos puede ser dividido en ecto, endo y semi endoparásitos sedentarios y migratorios, que se alimentan de las células epidérmicas de raíces de plantas, córtex, endodermis, periciclo y cilindro central, este grupo también se alimenta de algas y líquenes.

2.2.1.d. Anatomía de los nematodos

La mayoría de especies de nematodos encontradas en el suelo son pequeñas, usualmente de 1 mm a 2 mm de largo y 1/20 mm o menos de ancho. Estos nematodos son simétricos bilateralmente, casi de tamaño microscópico; aunque complejos en su organización. Posee todos los sistemas fisiológicos principales de los animales superiores, excepto el circulatorio y respiratorio. Las especies parásitas de plantas son pequeñas; su longitud varía de 0.5 mm a 3 mm y su ancho 0.01mm a 0.5 mm. Casi todos, son cilíndricos y delgados, adelgazándose hacia la cabeza y la cola, aunque las hembras de algunas especies parásitas de plantas tienen formas variadas, como de pera, limón o de riñón. En general, los nematodos que viven en el suelo son semitransparentes, (NAS 1980).

Que el cuerpo del nematodo es simple, con una pared exterior fuerte que consta de cutícula, hipodermis y una capa muscular. Posee un juego de músculos longitudinales conectados a la pared del cuerpo y coordinado por un sistema nervioso que provee la fuerza para el movimiento, (Rodríguez, 1997).

Subyaciendo y dentro de la cutícula, está la hipodermis la cual es una delgada capa unicelular. Dicha hipodermis penetra lateral, dorsal y ventralmente dentro de la cavidad del cuerpo produciendo protuberancias longitudinales llamadas cuerdas (NAS, 1980).

Los nematodos poseen dos tipos de músculos, los músculos somáticos y los músculos especializados. Los primeros se presentan en forma de capa, con células longitudinales, situados debajo de la hipodermis, entre las cuerdas. Los especializados están conectados con el estilete, intestino y órganos de reproducción (NAS, 1980).

El sistema excretor varía en estructura hasta llegar a estar ausente en algunos de Dorylaimida. En la clase Adenophorea el sistema excretor consiste de una célula glandular excretora localizada en la cavidad del cuerpo en la región del esófago (célula rene o renete). Esta célula rene puede ser grande o pequeña y tener en el primer caso un conducto corto, pero en todo caso se conecta con el poro excretor que se abre en posición ventral, en el par del anillo nervioso. El conducto no está revestido de cutícula, salvo en la familia Plectidae. En la clase Sercentea el sistema excretor es tubular y pluricelular, con la porción terminal del conducto revestida de cutícula, (Rodríguez, 1997).

El sistema digestivo es tubular y está dividido en tres principales regiones: esófago, intestino y recto. El orificio oral anterior es terminal y casi siempre está rodeado por varios tipos de estructuras de labios y órganos sensoriales (papilas) (NAS, 1980).

Las formas parásitas de las plantas poseen un estilete, el cual en general está hueco y se usa para penetrar y alimentarse de las células de las plantas. La mayoría de los nematodos son miembros del orden taxonómico Tylenchida, un grupo caracterizado por un esófago formado de tres partes. En la mayoría de las especies de dicho orden, la región esofágica situada detrás del estilete (el procorpus) es delgada, y la región media (metacorpus o región bulbar media) es más gruesa y contienen un aparato valvular cuticularizado, el cual parece funcionar como una bomba (NAS, 1980).

Detrás del metacorpus, el esófago se estrecha hasta un istmo más angosto, terminando en una región glandular. En general tiene tres glándulas esofágicas, una dorsal y dos subventrales, aunque pueden existir hasta seis en algunos nematodos, como los del género *Hoplolaimus*. En dos grupos del orden Tylenchida (superfamilias *Tylenchidea* y *Criconematoidea*), las glándulas subventrales se abren hacia el lumen mucho más adelante, casi posteriormente del estilete. En la tercera superfamilia (*Aphelenchoidea*), las tres glándulas se abren en el lumen, cerca de la válvula esofágica (NAS, 1980).

Algunos nematodos parásitos de plantas que son transmisores de virus pertenecen a otro orden, el Dorylaimida. Los nematodos de este orden tienen un esófago formado de dos partes, consisten de una región anterior delgada conectada con otra región glandular más corta e hinchada. Algunos nematodos de este grupo son los que tienen forma de daga (*Xiphinema spp.*) y (*Longidorus spp.*), y forma de diente (onquiostilo), (NAS, 1980).

Los sexos son separados en la mayoría de nematodos, las hembras generalmente son más grandes que los machos y los adultos de ambos sexos tienen diferencias morfológicamente distinguibles. Las gónadas en las hembras de 1 ó 2 tubos elongados, estos tubos pueden ser más largos que el cuerpo del nematodo, enrollados o doblados hacia atrás, la pared de la gónada es simple capa de células planas formando un tubo con varias regiones distintas. En la parte lejana, está el ovario, lugar de la división celular y formación del oocito, (Agrios, 2005).

La región de división celular (zona germinal) contiene pequeñas células llamadas oocitos: estas se agrandan y en la zona de crecimiento acumulan la maquinaria celular para la formación del embrión. La gónada se angosta en la siguiente sección (oviducto), está conectada al ovario con el útero, una región con mayor diámetro. Entre el oviducto y el útero puede haber una estructura como bolsa llamada espermateca, donde los espermias son almacenados. El útero se acomoda lleno de huevos formados (Agrios, 2005).

Del útero, un músculo corto llamado vagina, conduce a una abertura ventral a través de la pared del cuerpo llamada vulva. Cuando una hembra tiene un solo ovario se le llama monodélfica, si tiene dos ovarios, didélfica. Ambos ovarios pueden proyectarse uno hacia delante y otro hacia atrás, denominándose anfidélfica. Si se proyectan solo hacia delante se llaman prodélficas y si es solo hacia atrás se llama opistodélfica. En el caso de los machos,

la mayoría de fitoparásitos de la clase Sercentea tienen un solo testículo (monórquidos) excepto el género *Meloidogyne* que posee uno o dos y están dirigidos hacia delante (diórquidos) (Rodríguez, 1997).

2.2.1.e. Ciclo vital

No existe una verdadera metamorfosis en los nematodos. Los jóvenes o larvas son más pequeños, pero se parecen a los adultos. Hay cinco estados en el ciclo vital. Dentro del huevo, el embrión en desarrollo crece, se alarga y diferencia, para llegar a su primer estadio larvario. En la mayoría de las especies, este primer estadio continúa para desarrollar y pasar el segundo estado, cuando todavía está dentro del cascarón, (NAS, 1980).

En este segundo estado emergen del huevo. Después de salir, se alimentan, desarrollan y mudan dos veces más, mientras pasan por el tercero y cuarto estadio larval, para llegar a ser un adulto desarrollado por completo. Existen excepciones a este ciclo, Agrios (2005).

Algunas especies de nematodos, la primera o segunda etapa larvaria no puede infectar a las plantas y sus funciones metabólicas se realizan a expensas de la energía almacenada en el huevecillo. Sin embargo, cuando alcanzan las etapas infectivas, deben de alimentarse de un hospedante susceptible o de lo contrario sufren inanición y mueren. Al cabo de unos cuatro meses, la ausencia de hospedantes apropiados ocasiona la muerte de todos los individuos de ciertas especies de nematodos, pero en otras especies las etapas larvarias pueden desecarse y permanecer en reposo, o bien los huevecillos pueden permanecer en reposo en el suelo durante años, Agrios (2005).

Basándose en los hábitos de vida, clasifica a las especies parásitas de plantas en dos grupos: endoparásitos y ectoparásitos. Por lo común, las que viven en el suelo, terminarán su ciclo vital completo en el suelo, dentro o cerca de las raíces de las plantas. Los parásitos de la superficie, pueden empezar su ciclo sobre el suelo o en las capas superficiales de poco espesor, con frecuencia en los residuos de plantas huésped; luego ascienden hacia la planta o atacan las plántulas en desarrollo, y maduran sobre el suelo. Se sabe que atacan a troncos, tallos, pecióslos, hojas, flores y semillas, NAS (1980).

2.2.1.f. Ambientes de los nematodos fitoparásitos

Los nematodos fitoparásitos tienen dos nichos ecológicos: el suelo y la planta. En el suelo son semiacuáticos, necesitan de una película de agua. Por lo que la textura y estructura que determinan la retención de agua, afectarán su vida. Los nematodos se mueven en el suelo por sí mismo activamente, otros casi no tienen movimiento. Pero en forma pasiva se mueven por corriente de agua, aire y otros organismos o materiales que se trasladan. Las partículas de suelo finas como arcillas afectan el movimiento de los nematodos, pero en suelos arenosos no existe problema, aunque si son muy bien drenados se secan fácilmente, pueden mermar las poblaciones, Alvarez y Samayoa (1997).

La materia orgánica provee a los suelos propiedades detrimenales a los nematodos, puesto que aumentan los enemigos naturales y cambia el microclima del suelo. La mayoría son activos a partir de los 5 °C y mueren a los 48 °C si se exponen 30 min La luz es poco importante. En el suelo compiten con individuos de la misma especie por sitios de penetración y/o alimentación o bien tienen enemigos naturales tales como: bacterias, rickettsias, hongos, protozoarios, collémbolos, virus, tisanuros, oligoquetos y nematodos nemaofagos (Alvarez y Samayoa, 1997).

2.2.1.g. Poblaciones de nematodos

En suelos agrícolas, el límite superior de la población para cualquier especie de nematodos parásita de plantas, depende de su potencia reproductora, de la especie planta huésped y de la duración del período en que el nematodo permanece en un medio ambiente favorable para la reproducción. En general, la potencia de reproducción de los endoparásitos y de parásitos superficiales, es mayor que el de muchos ectoparásitos (NAS, 1980).

Afirma que la importancia del nematodo como parásito de una planta depende, en gran parte, de sí el límite de la población excede o no el nivel al cual los perjuicios económicos se presentan en dicha planta. Este concepto de umbral de población, en la cual principia la

pérdida en rendimiento, se usa con frecuencia en conexión con plagas de plantas, para determinar el nivel de tolerancia de una planta huésped, (Agrios, 2005).

Para cualquier grupo de condiciones ambientales, cada planta huésped tiene su propio nivel de tolerancia para una especie de nematodo. De esta manera, un nematodo causa perjuicios económicos sólo si su densidad de población excede el nivel de tolerancia de la planta cultivada en el terreno. Las estimaciones del umbral de una población varían según las estaciones climáticas y la textura del suelo. Un claro entendimiento de las poblaciones de nematodos es importante para su control, (Agrios, 2005).

2.2.1.h. Temperatura

La temperatura afecta las actividades de los nematodos, tales como la oviposición, reproducción, movimiento, desarrollo y supervivencia. Afecta también a la planta huésped. Casi todos los nematodos parásitos de plantas se tornan inactivos en una gama de temperaturas bajas (entre 5 °C a 15 °C); la gama óptima es entre 15 °C y 30 °C y de nuevo se vuelven inactivos en una gama de alta temperatura como de 30 °C a 40 °C. Las temperaturas fuera de estos límites pueden ser fatales. Sin embargo, las temperaturas no limitan el establecimiento de algunos nematodos (NAS, 1980).

2.2.1.i. Humedad

La fluctuación de la humedad del suelo debida a la lluvia o al riego, constituye uno de los factores principales que influyen en los aumentos de población de los nematodos. Cuando el suelo está seco, puede disminuir el número de los nematodos. No todos los nematodos mueren, aunque las condiciones de sequía pueden deprimir su actividad y las poblaciones resultantes. Los huevos de la mayoría de nematodos sobreviven a la sequía, así como también otros estados de los nematodos como el del pre-adulto del nematodo alfiler (*Pratylenchus* spp.). El barbecho en seco puede no ser una medida práctica de control,

excepto en algunas regiones áridas y calientes, donde sí reduce el número de nematodos, de tal manera que posible obtener una cosecha provechosa (NAS, 1980).

Los suelos saturados no son favorables a las plantas con ataque de nematodos. En las zonas tropicales lluviosas y en los terrenos anegados, el número de algunas especies de nematodos de nódulos radiculares, quiste, del raquitismo y alfiler se han reducido por el exceso de agua, falta de oxígeno y toxinas producidas por organismos anaeróbicos (NAS, 1980).

Se cree que los nematodos siempre están activos en suelos que tienen un contenido de humedad de 40 % a 60% de su capacidad de campo. Debido a que las propiedades de aireación del suelo se deben a la relación entre la humedad del mismo y su estructura, el nivel de oxígeno puede ser el factor fundamental que tiene influencia sobre algunas actividades de los nematodos, (NAS, 1980).

algunos nematodos parásitos de plantas, parece que son capaces de poseer un metabolismo oxidante, así como fermentante, lo cual los capacita para sobrevivir sin oxígeno durante períodos variables. Los bajos niveles de oxígeno pueden inducir la inactividad, y permiten que los nematodos logren sobrevivir. El desarrollo y crecimiento de los nematodos depende del oxígeno disponible, lo cual es importante para determinar los niveles de población; por lo tanto, en general, los altos niveles de poblaciones se encuentran en suelos húmedos, bien aireados.

2.2.1.j. Textura y estructura del suelo

La textura del suelo la constituye el tamaño de las partículas que lo forman. Un suelo de textura gruesa contiene un alto porcentaje de arena y tiene grandes poros que drenan con más rapidez que los pequeños poros de un suelo de textura fina, el cual tiene una alta proporción de arcilla y limo. Debido a la amplia variación de los medios bióticos físicos y químicos dentro de las categorías de texturas, es difícil generalizar con relación al tipo de suelo y la actividad de los nematodos y su distribución. En los suelos arenosos, textura

gruesa, se encuentra gran número de nematodos como los siguientes: quiste, nódulo radicular, lesionante y el de las raíces de escobilla (*Trichodorus* spp.) (NAS, 1980).

La velocidad del movimiento de los nematodos dentro del suelo está relacionada con el diámetro de los poros, el tamaño de las partículas, el diámetro del nematodo, su relativa actividad y el grosor de las películas de agua sobre y entre las partículas de tierra. Un nematodo no se puede mover entre las partículas de tierra cuando los diámetros de los poros son menores que la anchura del cuerpo de nematodo. Cuando los poros del suelo están llenos de agua, los nematodos se mueven con dificultad; cuando la aireación es limitada, se hacen inactivos. En suelos muy secos existe buena aireación, pero no agua suficiente para formar películas así los nematodos no pueden moverse (NAS, 1980).

2.2.1.k. Constitución del suelo

La constitución química de los componentes del suelo, un constituyente principal del medio ambiente del suelo, incluye la salinidad, pH, materia orgánica, fertilizantes, insecticidas y nematicidas. Los nematodos parásitos de plantas tal vez obtienen pocos nutrimentos de los componentes del suelo. La incubación de los huevos y la supervivencia de las larvas pueden ser influidas por varias sales e iones. Durante períodos secos y húmedos, los nematodos del suelo están sujetos a concentraciones variables de sales en la solución del suelo. Sin embargo, pueden tolerar presiones osmóticas hasta de 10 atmósferas, por lo menos durante períodos cortos. La variación del pH entre 5.0 hasta 7.0, tiene poco efecto sobre los nematodos (NAS, 1980).

La cal que se usa con frecuencia para neutralizar la acidez del suelo, no hace disminuir la población de nematodos. Los fertilizantes y la materia orgánica, pueden influir sobre las poblaciones de nematodos en forma indirecta, al aumentar el desarrollo de defensas en la planta huésped. En ocasiones, el uso de nematicidas e insecticidas en el suelo puede eliminar algunos enemigos naturales, conduciendo así a un aumento en el número de parásitos de plantas (NAS, 1980).

2.2.1.i. Clima

La lluvia y la temperatura son muy importantes para el crecimiento y desarrollo tanto de los nematodos como de las plantas. En general, a dichos factores se deben las fluctuaciones estacionales en las poblaciones de nematodos, e incluso pueden determinar el hecho de que las especies se puedan establecer en un nuevo hábitat o región (NAS, 1980).

Los factores climatológicos que están relacionados con la humedad ambiental coadyuvan a los nematodos parásitos de la superficie del suelo, los cuales están adaptados para invadir las plántulas y dirigirse hacia arriba hasta la superficie de las plantas cubiertas por películas de agua. Estos nematodos pueden estar sujetos a una severa desecación y a grandes cambios de temperatura, debidos a los cambios en el clima aéreo, que son más violentos que los del clima del suelo (NAS, 1980).

2.2.1.m. El ambiente de la planta

El ambiente de la planta huésped, que consiste, ya sea en la raíz o el tallo y el tejido de las hojas, influye mucho sobre los nematodos endoparasitario. Los tejidos de las plantas que generalmente son atacados son los meristemas del ápice de la raíz, los cuales contienen células de paredes delgadas, y ofrecen un ambiente químicamente rico. La epidermis y la pared de la célula ofrecen barreras mecánicas a la entrada de los nematodos y a su movimiento (NAS, 1980).

El tejido de las plantas protege a los nematodos endoparasíticos del medio ambiente del suelo y es su única fuente de alimentación. Así, la susceptibilidad, tolerancia y resistencia de la planta huésped a los nematodos, dependen de las propiedades de las células y tejidos de las plantas, (NAS, 1980).

El periciclo y las áreas afectadas, las cuales están formadas en algunas plantas en respuesta a la alimentación de los nematodos, pueden afectar el desarrollo y reproducción de ellos, debido a que la calidad y cantidad de los nutrimentos son deficientes en esas áreas o los nematodos pueden ser excluidos de células apropiadas por esas áreas (NAS, 1980).

2.2.1.n. La rizosfera

Además de servir como fuente de alimentación para los nematodos, las raíces de las plantas también pueden modificar el ambiente del suelo, disminuyendo la concentración de nutrimentos minerales, agotando la humedad, aumentando el bióxido de carbono, reduciendo el oxígeno y contribuyendo con una variedad de sustancias orgánicas por exudación y desechos de las células, (NAS, 1980).

La rizósfera, la zona circundante a las raíces, es un ambiente dinámico, donde con frecuencia las relaciones entre los nematodos, huésped y ambiente son de naturaleza química (NAS, 1980).

Las exudaciones de las raíces y otras sustancias químicas pueden inhibir la incubación o repeler a los nematodos. Se desconoce la composición química de estas exudaciones, de la naturaleza de las reacciones sobre los nematodos, o los receptores en ellos (NAS, 1980).

Los microorganismos que existen en la rizósfera pueden tener influencia preponderante sobre los nematodos en algunas plantas, por antagonismo, por competencia en la alimentación y el oxígeno, o por secreciones que pueden estimular o inhibir a los nematodos. Las interrelaciones para cualquier combinación nematodo-plantas, aún no se conocen por completo (NAS, 1980).

2.2.1.ñ. Alimentación y daños a las plantas

En la "General Review of Nematology", se menciona que la manera como los nematodos se proveen de alimento, es orientándose por los anfidios de que están provistos; de esta manera el parásito localiza y se orienta hacia las secreciones de la raíz. Con el estilete que semeja a un aguijón perfora la célula inyectando secreciones de la glándula del esófago, (ANACAFE, 1984).

También se cita que los daños comunes se caracterizan por formación de agallas, lesiones y pudriciones de raíces, otras especies atacan hojas, tallos y flores, dando resultado de ello, pudrición, enrollamiento o torsión de las hojas y tallos, (ANACAFE, 1984).

2.2.1.o. Nematodos asociados al cultivo de café

Los nematodos son organismos del reino animal, generalmente microscópicos y con apariencia de pequeñas “lombrices”, que ya se alimentaban de raíces de especies vegetales hace millones de años, en una relación de equilibrio; posteriormente al establecerse la agricultura, algunos grupos de nematodos se fueron adaptando paulatinamente a ciertos cultivos, llegando a provocar daños importantes bajo condiciones de suelo y clima favorables a la plaga, (ANACAFE, 2006).

Los dos principales géneros o grupos de nematodos parásitos del cafeto en Guatemala, son los nematodos “lesionadores” (*Pratylenchus*) y los nematodos “agalladores” (*Meloidogyne*).

Datos recientes indican que, en la zona sur y suroccidental, aproximadamente el 20 % de los cafetales presenta fuertes niveles de daño ocasionados por nematodos con pérdidas de producción de hasta 60 % en los lotes afectados (ANACAFE, 2006).

2.2.1.p. Descripción de especies y síntomas de los nematodos que parasitan al cultivo del café

a. Nematodos de lesión (*Pratylenchus* spp.)

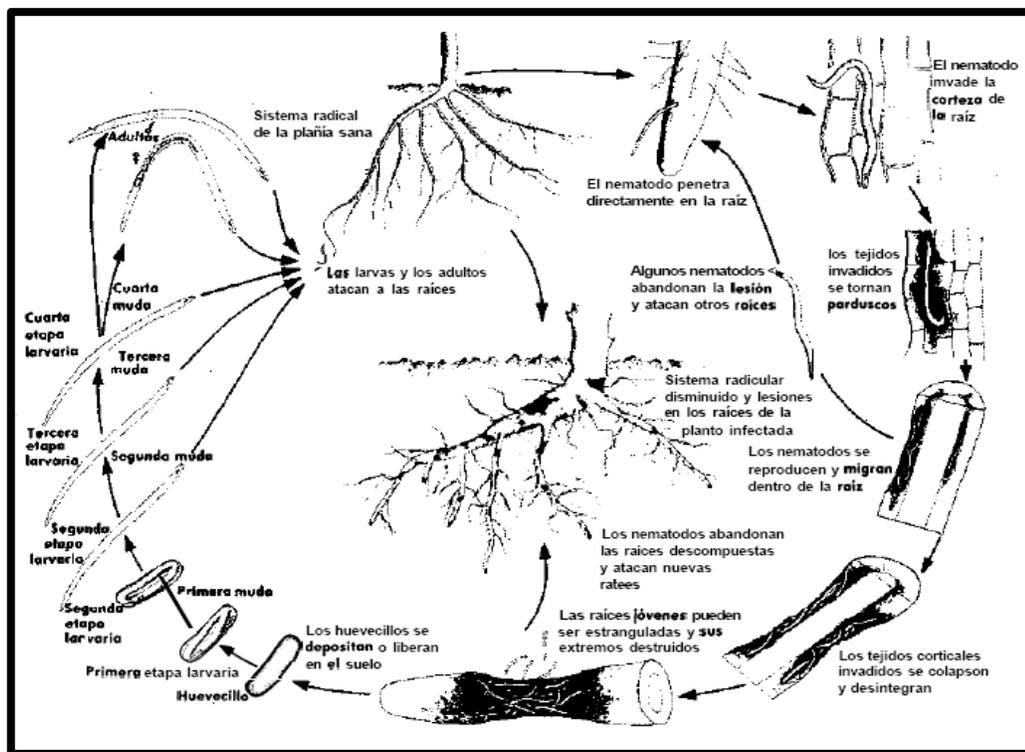
Estos nematodos provocan profundas lesiones en las raíces; en el punto de la infección se desarrolla una necrosis que se extiende, inicialmente, en la superficie de la raíz, y posteriormente, hacia el interior de la misma. En esta fase, la corteza de las raíces pequeñas es destruida, provocando su separación del cilindro central y con una apariencia de pelos finos ANACAFE (1984).

En las raíces más gruesas hay extensas áreas necrosadas, donde se asocian los daños del nematodo y de hongos que han penetrado por las heridas. En general, se observa una importante reducción del sistema radicular y poco crecimiento de la parte aérea del cafeto. Los nematodos del género *Pratylenchus* permanecen siempre móviles y en todos sus estados de desarrollo (larvas y adultos) pueden penetrar la raíz y abandonarla en cualquier momento, lo cual les confiere una alta capacidad de daño, (ANACAFE, 1984).

Describe a *Pratylenchus* sp. de 0.4 mm a 0.7 mm de longitud con un diámetro de 20 mm a 25 mm. Esta especie tiene forma cilíndrica, con cola redondeada. Son endoparásitos migratorios. Su reproducción es lenta y su ciclo de vida se puede completar al cabo de 45 ó 65 días. Las hembras son incapaces de sobrevivir a las lluvias y ovipositan sus huevecillos en las raíces atacadas y luego los libera al suelo (figura 2), (Agrios, 2005).

La primera etapa larvaria y la primera muda ocurren en el huevecillo. En la segunda etapa larvaria emerge del huevecillo, se mueve en el suelo o penetra a la raíz, completando su ciclo vital en cualquiera de los casos en la figura 2, (Agrios, 2005).

También que las larvas y/o adultos penetran intracelularmente a las raíces cuando introducen su estilete y penetran la cabeza en las células de las raíces. Cuando ocurre esto, las paredes celulares y el citoplasma adherente adquieren un color café claro y se decoloran unas cuantas horas después de la inoculación. Conforme el nematodo continúa alimentándose de células corticales, las paredes celulares se degradan y aparecen cavidades en la corteza, las cuales se encuentran revestidas por depósitos de color café.



Fuente: Agrios, 2005.

Figura 3. Ciclo patológico del nematodo lesionador *Pratylenchus* spp.

En cada lesión puede vivir por lo menos un nematodo. Las hembras ovipositan sus huevecillos en la corteza. Los adultos y larvas forman los nidos. Después de la incubación, los nematodos se alimentan de células parenquimatosas, y se mueven a lo largo del interior de la corteza, extendiendo así la lesión causada, siendo invadida por otros patógenos, tales como hongos y bacterias secundarios, causando pudrición y hasta la muerte de la parte distal de las raíces afectadas, haciendo que disminuya el número de raíces funcionales del cafeto, afectando la absorción de agua y nutrientes, mostrando estos síntomas en los órganos aéreos de la planta, (Agrios, 2005).

Las principales especies de *Pratylenchus* asociadas al cafeto son: *P. coffeae*, *P. brachyurus*, *P. panamensis* y *P. gutierrezii*. Alvarado (1997).

b. Nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.)

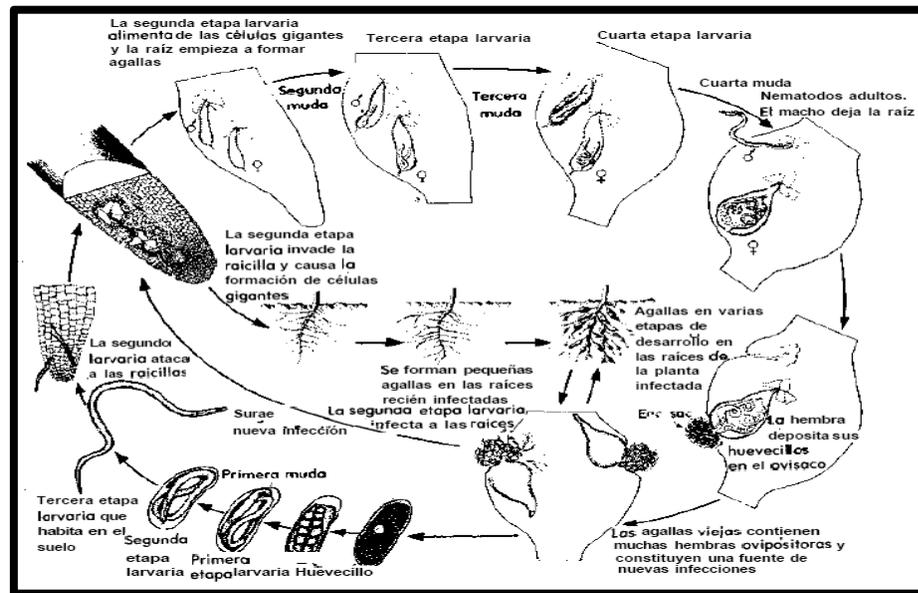
Según trabajos de investigadores de ANACAFE (1998), predominan especies muy agresivas de este género (*Meloidogyne exigua* y *M. incognita*) sobre el cafeto. Se cita también que *Meloidogyne incognita* y otras especies afines, no caracterizadas, provocan una fuerte destrucción de la cabellera radicular, imposibilitando la formación de nuevas raíces. Su alta persistencia en el suelo y la baja eficiencia del control químico hace de este nematodo un factor extremadamente limitante para el establecimiento de nuevos cafetales, así como para la producción y mantenimiento de los ya existentes.

Su ataque en el campo se presenta en parches, las plantas muestran un color amarillamiento, entrenudos cortos, bandolas secas y defoliación. Debido al daño en las raíces, las plantas tienen poca capacidad para soportar períodos prolongados de sequía y otros factores adversos. En el laboratorio, dependiendo del ataque, pueden ser extraídos más de 80,000 nematodos por 25 g de raíz (figura 3), (ANACAFE, 1998).

Las hembras están dentro de la raíz y ponen sus huevos en una masa gelatinosa, que los protege de condiciones adversa (sequía, tratamientos de nematicidas), esperando el retorno de las condiciones favorables para completar su ciclo. Una sola hembra puede ovopositar

entre 1,000 y 2,000 huevos, incluso más, lo cual da idea del potencial reproductivo de este nematodo (ANACAFE, 1998).

Se pueden encontrar varias especies del género *Meloidogyne*. Por lo menos 13 diferentes especies han sido descritas en el mundo en asociación con el cafeto. Las más citadas son *M. exigua*, *M. incognita* y *M. coffeicola*. (Alvarado (1997).



Fuente: Agrios, 2005.

Figura 4. Ciclo patológico del nódulo de la raíz producida por nematodos del genero *Meloidogyne* spp.

c. Muestreo de nematodos

Afirma que el análisis nematológico permite diagnosticar la presencia de los nematodos fitoparásitos a nivel de género y sus poblaciones. Esta información, y las observaciones en almácigo y campo permitirán definir el tipo de control o manejo de la plaga que se deberán aplicar, Sierra (1998).

El autor anterior cita también que, en el campo, en las plantaciones jóvenes y adultas se deben identificar los lotes o pantes donde existan focos con plantas amarillentas y defoliadas, con crecimiento pobre y poco vigor.

Estos síntomas podrían corresponder a daños provocados por nematodos. Se deben muestrear también las áreas cercanas a las zonas afectadas, considerando plantas de apariencia sana, en este caso tendríamos dos tipos de muestra: plantas enfermas y plantas aparentemente sanas. Se muestrean, por aparte, de 10 a 15 plantas de cada tipo, distribuidas en el lote, colectando un poco de raíces o cabellera radicular a cada planta.

Al finalizar el muestreo, deben obtenerse aproximadamente de 5 a 6 onzas de raíces por tipo de muestra, en cada uno de los lotes. Los muestreos deben realizarse durante la época lluviosa, con énfasis en el inicio y final de la misma.

Considera que la manera como el investigador se conduzca en el campo para tomar muestras, afecta la estimación de estadísticos, tales como la densidad media de la plaga. La localización espacial de las muestras según el autor puede tomar varias formas: Azar simple, azar estratificado y sistemático.

El muestreo al azar simple toma una cantidad "x" de una población determinada. La forma de realizarlo consiste en dividir el campo en cuadrantes imaginarios o bien definirlos con banderillas o estacas.

Se debe usar también una tabla de números aleatorios para seleccionar coordenadas del campo de donde se tomarán las muestras, que permiten la identificación de cualquier punto en el campo. Una vez seleccionado un juego de coordenadas se toma la muestra y recolecta material (suelo y raíces).

El muestreo al azar estratificado consiste en dividir el universo o el campo de donde se tomarán las muestras en estratos. La división en estratos es para agrupar unidades homogéneas, minimizar dentro de cada estrato la variabilidad entre las unidades de muestreo. Una vez que se delimitan los estratos de muestreo, la selección se hace como muestreo al azar simple.

Esto se realiza para cada estrato. Las razones para estratificar pueden ser accidentes geográficos del terreno, factores edáficos, etc.

El muestreo sistemático consiste en caminar sobre una ruta establecida en el campo donde se tomarán las muestras a distancias especificadas, según el número de muestras a tomar

que se tienen previamente determinadas. Distribuyendo todas las unidades de muestreo en el campo de la mejor manera posible y de forma uniforme.

Recomienda que la porción de raíces de cada planta se coloque dentro de una bolsa plástica. Al momento de trabajar con la última planta del lote, se toma un poco de suelo superficial para rellenar la bolsa, para evitar la deshidratación de las raíces y protegerlas. Hay que evitar exponerlas durante su transporte a las altas temperaturas y a la luz directa del sol.

Si antes de enviar las muestras al laboratorio hay una demora de más de dos días, las mismas se pueden preservar en la parte baja de un refrigerador, en una hielera o en un sitio fresco a la sombra. Cada muestra debe presentar en forma legible el nombre del propietario, el nombre de la finca, ubicación, altura sobre el nivel del mar, nombre del lote, área total del lote, variedad (mencionar si está injertado), edad, porcentaje aproximado de plantas infectadas, nombre o número de la muestra (Sierra, 1998).

2.2.1.q. Pasos para el para la extracción de nematodos

a. Pasos en el cafetal

1. Muestras de raíces o de suelo

Usualmente las raíces proporcionan la muestra más apropiada para determinar la presencia de nematodos causando daño. Sin embargo, muestras de suelo pueden ser utilizadas en varias circunstancias, por ejemplo; suelo sin cultivo, muestreo de nematodos que parasitan externamente las raíces, suelo que será utilizado como sustrato para elaboración de almacigo, etc.

2. Cuando, donde y como muestrear

- Los muestreos deben realizarse durante la época lluviosa, con énfasis en el inicio y final de la misma.

- Se deben de muestrear principalmente raicillas ya que es donde se encuentran los nematodos, no muestrear raíces lignificadas.
- Tome la muestra del área de goteo hacia adentro de preferencia. Empleen el uso de una pala para que al introducirla de forma vertical del lado del área de goteo que puedan profundizar y empujar el suelo hacia afuera/arriba (hacia el tronco de la planta) de tal forma que las raíces y el suelo queden sueltos y puedan cortar únicamente raicillas blancas y finas que no estén engrosadas (lignificadas), la colecta se hace de 10 a 15 plantas distribuidas en el lote, al finalizar el muestreo debe de obtener una muestra compuesta de al menos 40 gr aproximadamente.

3. Área de muestreo, número y tamaño de muestras:

Identifique correctamente el área a muestrear. Recorra la finca y divida en lotes uniformes tomando en cuenta lo siguiente:

- Topografía: montaña, plan, vega.
- Textura: arcilla, arena.
- Lotes con aplicación anterior de nematicidas.
- Las muestras se toman a una profundidad de 20 cm a 30 cm.
- La muestra debe de estar compuesta por 10 a 15 submuestras (muestra compuesta) por 1 ha.
- Identifique correctamente el área de muestreo (Dividir en lotes).
- Al realizar una aplicación de nematicidas se debe de esperar al menos cuatro semanas para la toma de la muestra.

Muestras compuestas de 10 a 15 submuestras obtenidas siguiendo un patrón de desplazamiento en zig-zag a través del lote.

Los cultivos severamente afectados por nematodos se pueden formar "focos" de plantas afectadas. En este caso, solamente muestree los alrededores de los focos, también obtenga una muestra de los lotes con plantas aparentemente sanas para propósitos comparativos.

4. Manejo de la muestra

Utilizando un marcador de tinta indeleble escriba claramente la siguiente información,

- Nombre de la finca
- Número de muestra
- Lote (número o nombre)
- Las muestras colectadas deben ser mantenidas frescas, si es posible utilizando hielera con hielo.

b. Pasos en el almacigo

Los pasos para la extracción de nematodos en el almacigo, se realiza de la siguiente manera se visitan diferentes fincas y por finca se selecciona 6 a 8 bolsas, aleatoriamente de todo el almacigo y se deben de escoger plántulas con más de 2 cruces o hojas verdaderas.

c. La encuesta

La encuesta es una técnica de investigación basada en las declaraciones emitidas por una muestra representativa de una población concreta y que nos permite conocer sus opiniones, actitudes, creencias, valoraciones subjetivas (figura 31A), etc. Dada su enorme potencial como fuente de información, es utilizada por un amplio espectro de investigadores, siendo el instrumento de sondeo más valioso en instituciones como el Instituto Nacional de Estadística (INE), el Centro de Investigaciones Sociológicas (CIS), el Ministerio de Asuntos

Sociales, numerosos periódicos, entre otros muchos (García Domingo, B; Quintanal Díaz, J; 2011).

d. Características esenciales de toda encuesta

Cea (año 1,999) define la encuesta como “la aplicación o puesta en práctica de un procedimiento estandarizado para recabar información (oral o escrita) de una muestra amplia de sujetos. La muestra ha de ser representativa de la población de interés y la información recogida se limita a la delineada por las preguntas que componen el cuestionario pre-codificado, diseñado al efecto”.

Entre sus características, esta misma autora señala las siguientes:

- La información se adquiere mediante transcripción directa.
- El contenido de esa información puede referirse tanto a aspectos objetivos (hechos) como subjetivos (opiniones o valoraciones).
- Dicha información se recoge de forma estructurada, al objeto de poder manipularla y contrastarla mediante técnicas analíticas estadísticas.
- La importancia y alcance de sus conclusiones dependerá del control ejercido sobre todo el proceso: técnica de muestreo efectuada para seleccionar a los encuestados, diseño del cuestionario, recogida de datos o trabajo de campo y tratamiento de los datos.

Comparada con otras estrategias de investigación, la encuesta goza de gran popularidad debido a ventajas como su:

- Rentabilidad, ya que permite obtener información diversa, de un amplio sector de la población.
- Fiabilidad, ya que al ser un proceso estructurado permite la replicación por parte de otros investigadores.

- Validez ecológica, ya que los resultados obtenidos son de fácil generalización a otras muestras y contextos (suponiendo siempre un alto grado de representatividad de la muestra encuestada).
- Utilidad, ya que los datos obtenidos gracias a este procedimiento permiten un tratamiento riguroso de la información y el cálculo de significación estadística.

Sin embargo, para garantizar que la encuesta goce de todas estas ventajas, han de tenerse en cuenta algunas dificultades (perfectamente extensibles a otros instrumentos de recogida de información como los test psicométricos) como:

- Realizar encuestas a poblaciones con dificultad en su comunicación verbal (niños pequeños, etc.).
- La información que se obtiene está condicionada por la formulación de las preguntas y la veracidad de las propias respuestas.
- La presencia del entrevistador puede provocar problemas de reactividad y/o aquiescencia (los cuales siempre pueden solventarse con un buen cuestionario o una adecuada formación).
- La necesidad de un complejo y costoso (temporal, material y económicamente) trabajo de campo.

e. Procedimiento general de una encuesta

Según Pulido (año 1,971), y una vez planteados convenientemente los momentos previos al diseño y recogida de datos en toda investigación (problema, hipótesis, etc), para realizar una encuesta hay que seguir los siguientes pasos:

- Determinación de la población (conjunto de individuos del que queremos obtener la información) y unidad muestral que contestará al cuestionario (un sujeto, una familia, etc).
- Selección y tamaño de la muestra.

- Diseño del material para realizar la encuesta.
- Organización y puesta en práctica del trabajo de campo.
- Tratamiento estadístico de los datos recogidos.
- Discusión de los resultados.

De este modo, puede decirse que en la realización de una encuesta convergen diferentes fases, todas las cuales esquematiza Cea (1999) del modo siguiente:

1. Análisis del procedimiento: empieza con la formulación del problema. En este primer momento de la encuesta se trata de analizar el tema que la motiva, determinando con claridad la cuestión o cuestiones a las que nos interesa dar respuesta. Al objeto de no repetir trabajos ya realizados por otros investigadores, es conveniente llevar a efecto una mínima revisión bibliográfica y conocer el estado actual en que se encuentra la cuestión que nos planteamos estudiar. A partir de entonces, ya podemos especificar los objetivos a desarrollar y valorar las posibilidades que nos brinda nuestra investigación en cuanto a los recursos materiales y temporales de que disponemos para su ejecución.
2. Diseño de la encuesta: una vez planteados los objetivos que pretendemos alcanzar, es necesario determinar la población y unidades de muestreo sobre las que vamos a realizar el estudio, así como la muestra representativa de la misma que nos va a permitir recabar la información deseada.
3. Diseño del cuestionario: se trata de construir ahora el instrumento a partir del cuál vamos a recoger la información; es decir, el listado de preguntas a las que debe contestar nuestra muestra previamente seleccionada (cuestionario), especificando también el modo de respuesta que ofrecerán. Llegado este momento, es conveniente realizar una pequeña prueba de testeo (pretest), aplicando el cuestionario ya

construido a un reducido número de sujetos, al objeto de validarlo y detectar posibles irregularidades y problemas antes de su aplicación formal y definitiva.

4. Trabajo de campo: es el momento de especificar detalladamente el procedimiento que vamos a implementar para recoger la información; es decir, el medio a través del cual vamos a realizar las preguntas que constituyen nuestro cuestionario (por correo, por teléfono o en persona) y la planificación general de la investigación en términos temporales (diseño longitudinal, transversal o secuencial). Una vez hecho esto, ha llegado el momento de aplicar el cuestionario prediseñado siguiendo los pasos que acaban de describirse al organizar el trabajo de campo.
5. Procesamiento y análisis de datos: una vez recogida la información, es necesario tabular y codificar adecuadamente las respuestas obtenidas (tanto las cerradas como las abiertas) con objeto de someter estos datos, análisis estadísticos que se requiera para dar respuesta a los objetivos que nos hemos planteado (estudio descriptivo, inferencial, etc.).
6. Redacción del informe: tan sólo nos resta ya discutir los resultados obtenidos tras el análisis que acabamos de efectuar y reflejar todo el proceso llevado a cabo en el definitivo informe de investigación, del modo en que ha sido ya explicado en el tema previo.

f. Selección y tamaño de la muestra

Una vez que hemos determinado la población de la que se desea recabar información, es necesario seleccionar una muestra representativa de la misma (o subconjunto de esa población) ya que, en principio, es poco factible que podamos acceder a todos y cada uno

de los individuos integrantes de la población de nuestro interés (García Domingo, B; Quintanal Díaz, J; 2011).

Las muestras deben ser representativas para que los datos recogidos sean generalizables a toda la población. A este respecto, se dice que una muestra es representativa si sus integrantes poseen todas y cada una de las características que definen a su población de origen. De este modo, si una muestra no es representativa, se dice que es sesgada e invalida los resultados obtenidos.

Además, nuestra muestra debe tener un tamaño adecuado que, entre otras cosas, dependerá del tamaño de la población de origen y del nivel de seguridad que deseamos que tenga el procedimiento (existen tablas orientativas del tamaño que deben tener las muestras representativas barajando estos dos criterios).

Para garantizar las dos propiedades de una “buena muestra”, hay que asegurarse que la técnica de muestreo ha sido llevada a cabo de forma rigurosa. Las más importantes son (García Domingo, B; Quintanal Díaz, J; 2011):

a) Muestreos no probabilísticos

Accidentales

la muestra surge espontánea en virtud de la simple presentación de la encuesta (ejemplo: teléfonos a los que llamar en programas de televisión para votar una de entre varias opciones, en las estaciones de metro a los viajeros, etc.).

Invitados o “a propósito”: se selecciona un grupo de sujetos que cumplan las características que deseamos en nuestra muestra pero sin seguir criterios estadísticos estrictos de selección; nuestra muestra será escogida más bien en

función de nuestras posibilidades de acceso a ella (va a ser un poco lo que hagáis vosotros para seleccionar a vuestras muestras de aplicación).

b) Muestreos probabilísticos

Muestreo aleatorio simple

un muestreo es aleatorio simple si asegura que cada elemento de la población tiene la misma probabilidad de ser incluido en la muestra (utilizando selecciones azarosas tras asignar a cada integrante de la población un número o mediante el uso de tabla de nº aleatorios). Sólo es factible para seleccionar muestras representativas de poblaciones relativamente pequeñas en las que todos sus miembros estén identificados y numerados convenientemente.

Muestreo aleatorio sistemático

A diferencia del anterior, sólo una primera unidad se elige al azar, y a partir de ella se sigue una cadencia en la obtención de los sujetos.

Muestreo aleatorio estratificado

Adecuado en situaciones en las que la población de nuestro interés está naturalmente compuesta por subgrupos o estratos. Por ello, se debe seleccionar al azar una muestra de sujetos de cada estrato, al objeto de asegurar la representatividad de todos ellos. La selección de la muestra puede ponderarse en virtud del número de sujetos presentes en cada estrato de población

Muestreo por conglomerados

Sería una especie de muestreo estratificado pero aplicado a poblaciones muy numerosas. En estos casos, no se asigna un número a cada uno de los miembros de la población y se les selecciona por azar, sino que se muestrea sobre los llamados

conglomerados o grupos naturales de población (por ejemplo, los distintos municipios) de los que sí se extraen azarosamente los sujetos que los representen en mi encuesta.

2.3.1.1 Suelos

Los tipos de suelo que se pueden encontrar en la localidad están formados por series de suelos Alotenango, son suelos bien drenados, y de poco a muy profundo, desarrollados sobre cenizas volcánicas de color oscuro en un clima cálido-húmedo. Ocupa relieves de inclinados a muy inclinados a altitudes medianas en el Sur Central de Guatemala. Se asemejan a los suelos Panán y Colojate pero son menos pedregosos y no tienen un sustrato compacto como estos, el perfil del suelo Yepocapa es Franco Gravoso (Simmons, 1959).

Serie de suelos Alotenango, son suelos profundos bien drenados, desarrollados sobre cenizas volcánicas recientes, suelta y de color oscuro. Ocupan pendientes inclinadas y se encuentran a elevaciones entre 750 m s.n.m. y 1800 m s.n.m., el perfil del suelo Alotenango es Franco Arenoso (Simmons, 1959).

2.3.2. Ubicación geográfica de San Pedro Yepocapa

El municipio de Yepocapa, limita al Norte con el municipio de Acatenango; al Sur con los municipios de Santa Lucía Cotzumalguapa y Escuintla; al Oriente con los municipios de San Miguel Dueñas y Alotenango; al Occidente con el municipio de Pochuta (Ponce, 1984).

La altura de la cabecera del municipio de Yepocapa es de 1,380 m s.n.m., latitud 14°30'00° N , longitud 90°52'1820° O. La extensión territorial del municipio es de 217 Km² (figura 5), (Ponce, 1984).

2.4. OBJETIVOS

2.4.1. Objetivo general

Conocer la proporción de caficultores que utilizan los recursos del análisis nematológico en el laboratorio de Anacafé, como herramienta de control preventivo en almácigos de café en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango, Guatemala, C.A.

2.4.2. Objetivos específicos

1. Determinar el uso actual y potencial de los usuarios del laboratorio Anacafé y el análisis nematológico en almácigos de café en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango a través del estudio de encuestas.
2. Determinar las causas más importantes por las cuales no utilizan el análisis nematológico.
3. Elaborar en base a los resultados de las encuestas una propuesta técnica sobre el conocimiento de nematodos y elaboración de MIP, para promover el uso del análisis nematológico.

2.5. METODOLOGIA

El estudio se realizó siguiendo las etapas: obtención de la muestra, diseño del instrumento, ejecución de la encuesta, análisis de la información y difusión de los resultados y propuesta técnica.

2.5.1. Obtención de la muestra

Para obtener la muestra se consultó el material bibliográfico sobre el área de estudio, así como con el asesor técnico de ANACAFE encargado del departamento de Chimaltenango, también se entrevistó al jefe del laboratorio ANALAB para obtener mayor información sobre las características del sistema.

La muestra se obtuvo mediante el sistema simple aleatorio con varianza máxima en donde cada elemento tiene oportunidad igual e independiente de ser elegido (Dixon, 1977).

El marco de muestreo es el de “marco área”. El tamaño de la muestra fue determinado al aplicar el siguiente modelo matemático es:

$$n = \frac{N}{N(d^2) + 1}$$

En donde:

n = número de fincas a encuestar.

N = número total de fincas cafetaleras.

d = nivel de precisión (10%).

El tamaño de la muestra se definió de la siguiente manera:

$$n = \frac{57}{57(0.10^2) + 1} = 36$$

El total de fincas cafetaleras del área de Acatenango y San Pedro Yepocapa es de 57 fincas de las cuales se encuestaron 36 fincas; 26 fincas en Acatenango y 10 en San Pedro Yepocapa, el criterio que se utilizó para la selección de las fincas fue: a) que elaboraran almácigos b) que las fincas estuvieras distribuidas para abarcar más área y tener mejor resultado con la muestra (cuadro 2).

Cuadro 4. Listados de fincas encuestados en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, Chimaltenango.

| No. | Fincas de Acatenango |
|-----|-----------------------|
| 1 | El Carmen |
| 2 | Palestina |
| 3 | El Platanar y Anexo |
| 4 | La Unión |
| 5 | Monte de Oro III |
| 6 | El Líbano |
| 7 | Los Nardos |
| 8 | Chantunjay |
| 9 | El Olvido Patzac |
| 10 | La Hermosa |
| 11 | La Española |
| 12 | El Zapote y Anexo |
| 13 | Chalabal Estrella |
| 14 | San Diego Buena Vista |
| 15 | El Nogal |
| 16 | El manantial |
| 17 | Campo Alegre |
| 18 | La Estancia |
| 19 | ChalabalGos |
| 20 | La pampa |
| 21 | Santa Ana |
| 22 | Providencia |
| 23 | Valparaíso |
| 24 | San José |
| 25 | Potosí |
| 26 | La Soledad y Anexo |

| No. | Fincas de Yepocapa |
|-----|---------------------|
| 1 | La Conchita |
| 2 | El Recreo |
| 3 | Los Ángeles |
| 4 | Buena Vista |
| 5 | Paraiso |
| 6 | Hacienda Don Carlos |
| 7 | Santa cristina |
| 8 | Nimaya |
| 9 | san Pedrana |
| 10 | El Recuerdo |

Fuente: Elaboración propia, 2014.

2.5.1. Diseño del instrumento

Se elaboró la encuesta en un formato que cumpliera con los objetivos planteados en la investigación y que permitió al caficultor comprender fácilmente lo que se le estaba preguntado (figura 32A).

2.5.2. Ejecución de la encuesta

Se encuestó a los administradores o dueños de las fincas seleccionadas con anterioridad, con el uso de una boleta de campo, la visita fue programada vía telefónica y ejecutada de acuerdo a la programación con el encuestado.

2.5.3. Análisis de la información

Después de la recolección de los datos se procedió a la tabulación de los mismos en el programa Microsoft Excel. El proceso se realizó en varias

2.5.4. Difusión de los resultados y propuestas técnicas

Los resultados fueron procesados y dirigidos a los departamentos de: laboratorio de Anacafé, Analab y el centro de investigación CEDICAFE, donde se tomaron las medidas técnicas a llevar a cabo según los resultados obtenidos.

2.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los datos de la encuesta sobre el uso del análisis nematológico en los municipios de Acatenango y San Pedro Yepocapa, realizada durante el mes de septiembre de 2014. Se obtuvo una muestra representativa de 36 fincas, divididas en 26 fincas de Acatenango y 10 de San Pedro Yepocapa (cuadro 2).

Según los resultados obtenidos en las encuestas realizadas en los 2 municipios se observó que en el municipio de Acatenango de las 26 fincas encuestadas existe un 88% de ellas conoce el servicio de análisis nematológico y el 12 % restante no conocía este servicio, mientras que en el municipio de San Pedro Yepocapa de las 10 fincas encuestadas existe un 80 % de ellas conoce el servicio y el 20 % restante no conocía este servicio.

Según lo recopilado estas fincas existe un 50 % de ellas que no utilizan el análisis nematológico porque desconoce la utilidad del mismo, 30 % debido al traslado de las muestras y el 20 % restante debido al costo en el caso de las fincas de San Pedro Yepocapa mientras que en Acatenango, existe un 65 % de ellas que no utilizan el análisis nematológico porque desconoce la utilidad del mismo, 18 % debido al costo y el 17% restante debido al traslado de las muestras.

Según la información recopilada se realizó un análisis de los resultados obtenidos mediante el uso de las encuestas, los cuales se detallan a continuación.

2.6.1. Resultados técnicos de las encuestas realizadas en las fincas de Acatenango

Se observó en las fincas cafetaleras que el 92 % selecciona la semilla y el 8 % compra semilla, las variedades que se utilizan son Catuai con un 35 %, una mezcla de Caturra: Catuai siendo esto el 23 % y Borbon con un 19 %, el sustrato de mayor utilización es la mezcla de pulpa/suelo con un 54 % y pulpa/suelo/materia orgánica 27 %, el tipo de almacigo más utilizado es el de bolsa 92 % solo una finca sigue realizando almacigo en siembra directa al suelo, la cantidad de bolsas sembradas en Acatenango es de 437,500 bolsas y la

finca que más bolsas produce es la finca la Unión 58,000 con un almacigo con bolsas la procedencia del suelo para el sustrato es del 100 % de las fincas donde se elabora el almacigo. La técnica de injertación no está difundida en el área ya que el 96% no utiliza el injerto, en la fertilización la fuente más utilizada es el fórmula 20-20-20 con un 62 %, seguido del 19 % que utiliza 20-20-00 para la nutrición de plantas en el almacigo. Los productos que más utilizan para la desinfección química del sustrato son Banrot (Metil Tiofanato) 39 % y Furadan (carbofuran) 38 %.

Los caficultores del área de Acatenango el 88 % no utilizan el servicio del análisis de nematodos y 12 % lo utiliza, las causas de que no lo utilizan es en un 66 % por qué no lo conocen, 18 % por falta de recursos para utilizarlo y 17 % por el traslado de la muestra.

En la figura 7, se presenta la selección de semilla en zona de Acatenango

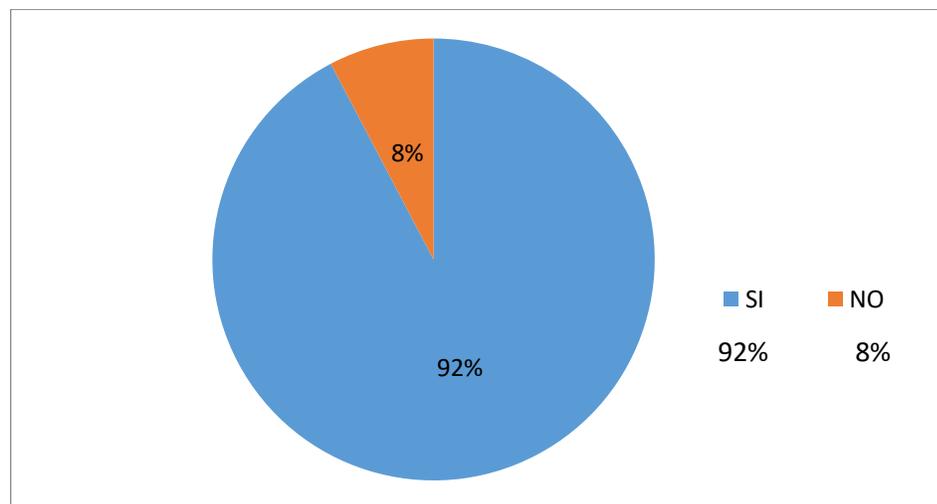


Figura 7. Selección de semilla para almacigo, Acatenango.

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 92 % lo que corresponde a 24 fincas que seleccionan la semilla que utilizan en almacigo y el 8 % que corresponde a 2 fincas restantes no selecciona la semilla que utilizan en el almacigo.

En la figura 8, se presenta la compra semilla en zona de Acatenango

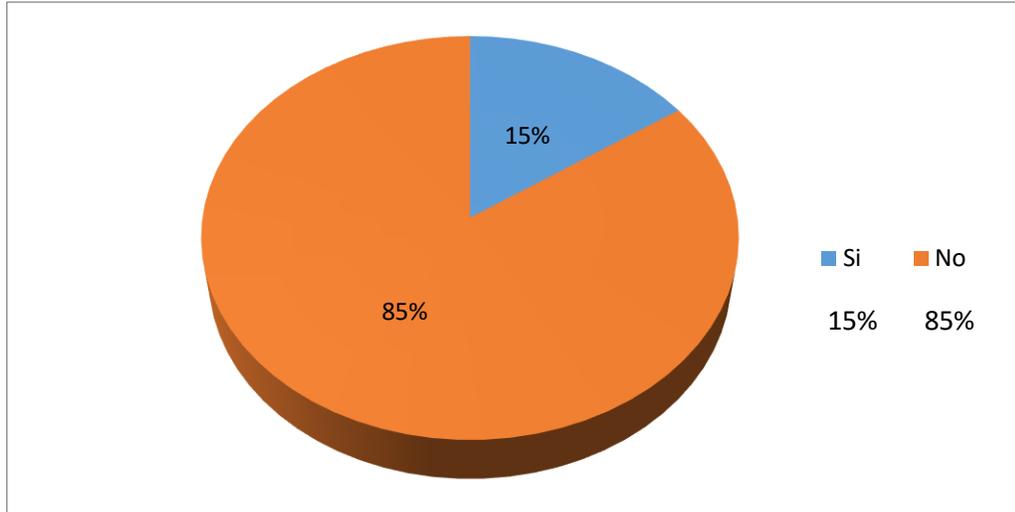


Figura 8. Compra semilla para almacigo, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 85 % que corresponde a 22 fincas que compran la semilla que utilizan en almacigo y el 15 % restante que corresponde a 4 fincas no compra, porque realizan selección de la semilla de su propia finca.

En la figura 9, se presenta la variedad de café en zona de Acatenango

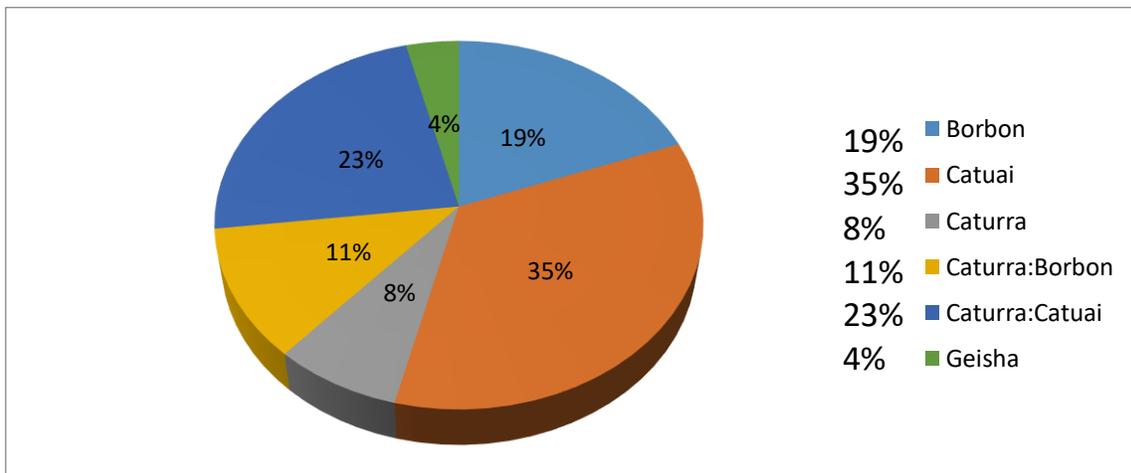


Figura 9. Variedades más utilizadas en Acatenango.

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 35 % que corresponde a 9 fincas, las cuales utilizan la variedad Catuai; el 23 % que corresponde a 6 fincas utilizan Caturra: Catuai; 19 % que corresponde a 5 fincas utilizan Borbon, 11 % que corresponde a 3 fincas utilizan Caturra: Borbon, 8 % que corresponde a 2 fincas utilizan Caturra, y el 4 % restante que corresponde a 1 fincas utilizan Geisha.

En la figura 10, se presenta los tipos de sustratos utilizados en zona de Acatenango

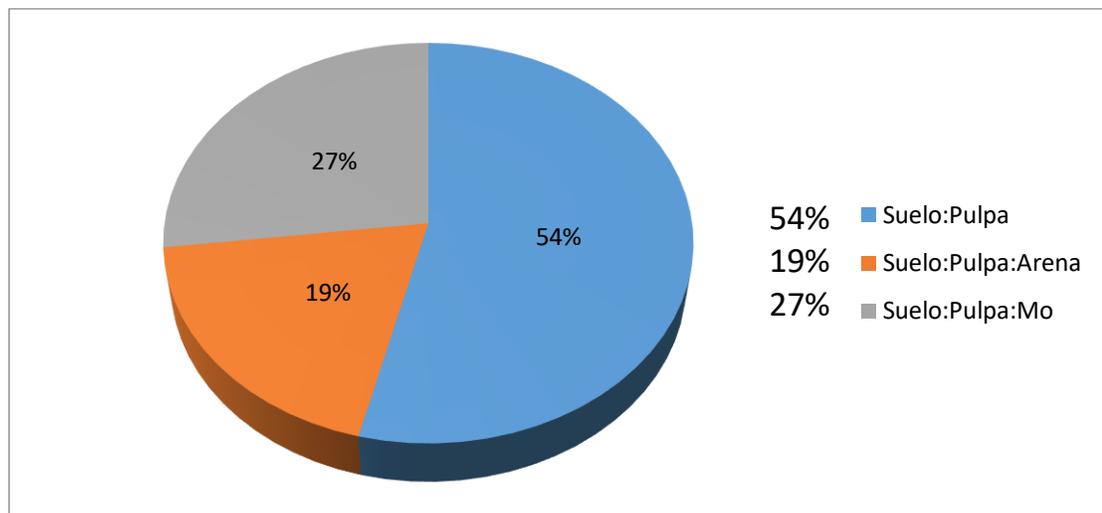


Figura 10. Tipo de sustrato utilizado, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 54 % que corresponde a 14 fincas utilizan como sustrato suelo y pulpa de café, el 27 % que corresponde a 7 fincas utiliza suelo, pulpa de café y materia orgánica; y el 19 % restante que corresponde a 5 fincas utiliza suelo, pulpa de café y arena.

En la figura 11, se presenta la desinfección del sustrato en zona de Acatenango

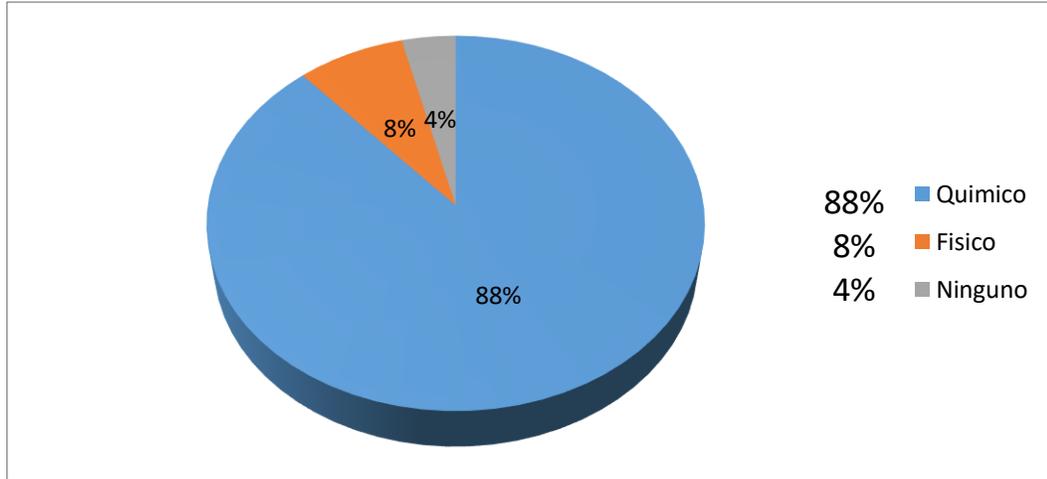


Figura 11. Tipo de desinfección del sustrato, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 88 % que corresponde a 23 fincas, desinfectan el sustrato de una manera química; 8 % que corresponde a 2 fincas, la desinfectan con un método físico y el 4 % restante que corresponde a 1 fincas no desinfecta el sustrato.

En la figura 12, se presenta el tipo de almacigo en zona de Acatenango

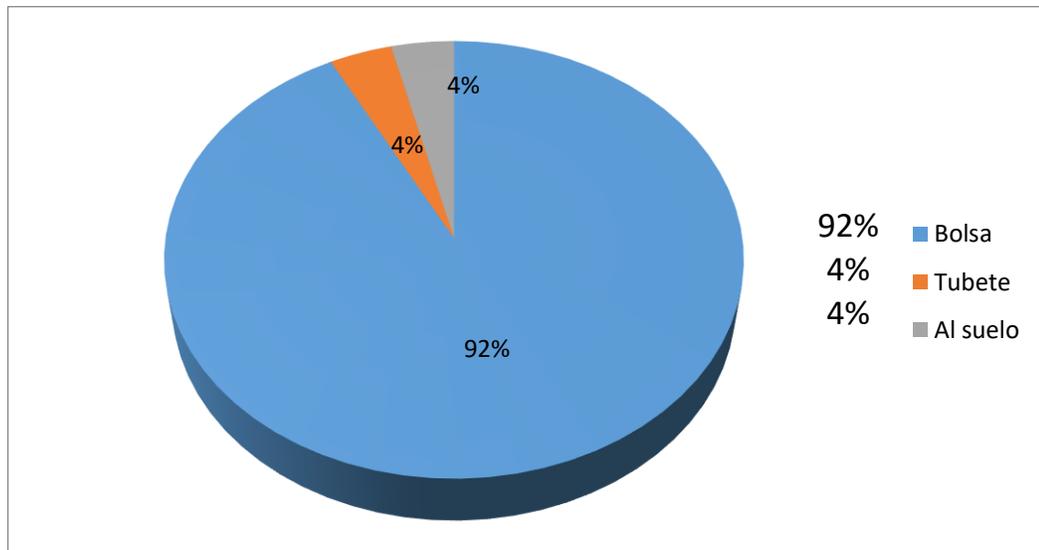


Figura 12. Tipo de almacigo utilizado, Acatenango.

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 92 % que corresponde a 24 fincas, utilizan bolsas en el almacigo; 4 % que corresponde a 1 finca, utilizan tubetes y el 4 % restante que corresponde a 1 finca realiza los almácigos en el suelo.

En la figura 13, se presenta la cantidad de almacigo de Acatenango, por finca.

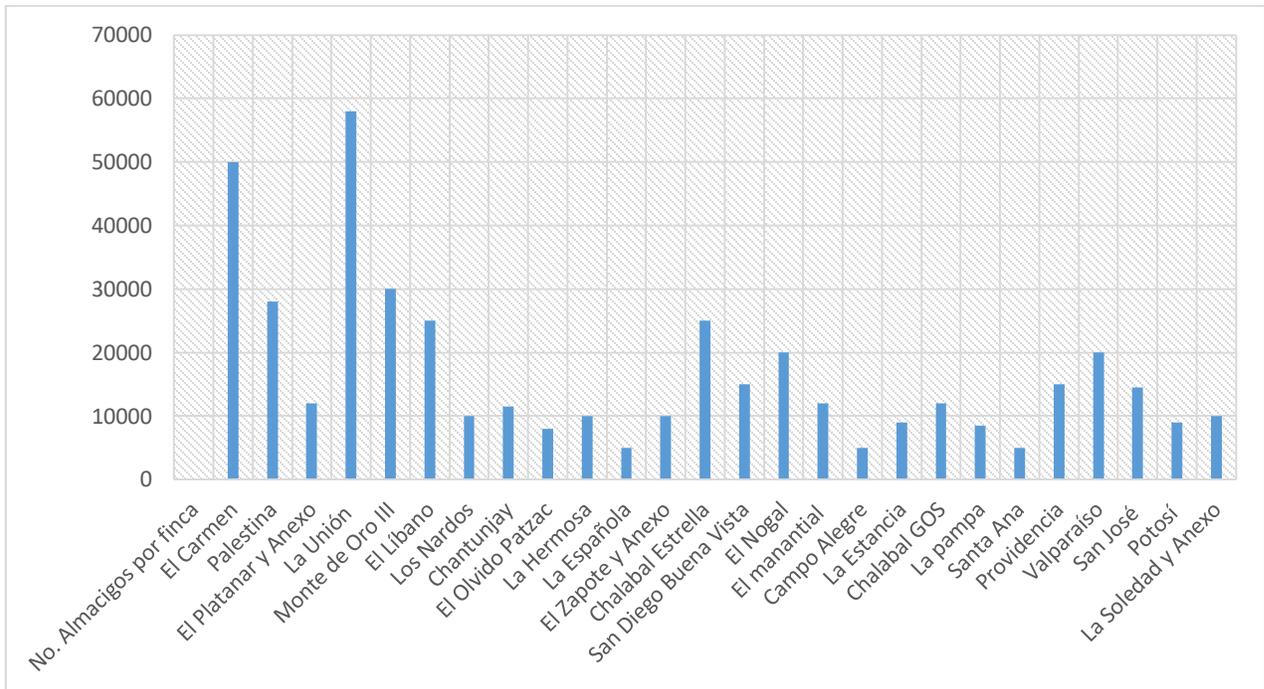


Figura 13. Cantidad de almacigo de Acatenango por finca

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, la finca que tiene el mayor número de almácigos es la finca la Unión con 58,000 y la que tiene el menor número es Santa Ana con 5,000 junto con Campo alegre con la misma cantidad.

En la figura 14, se presenta la técnica de injertos en zona de Acatenango.

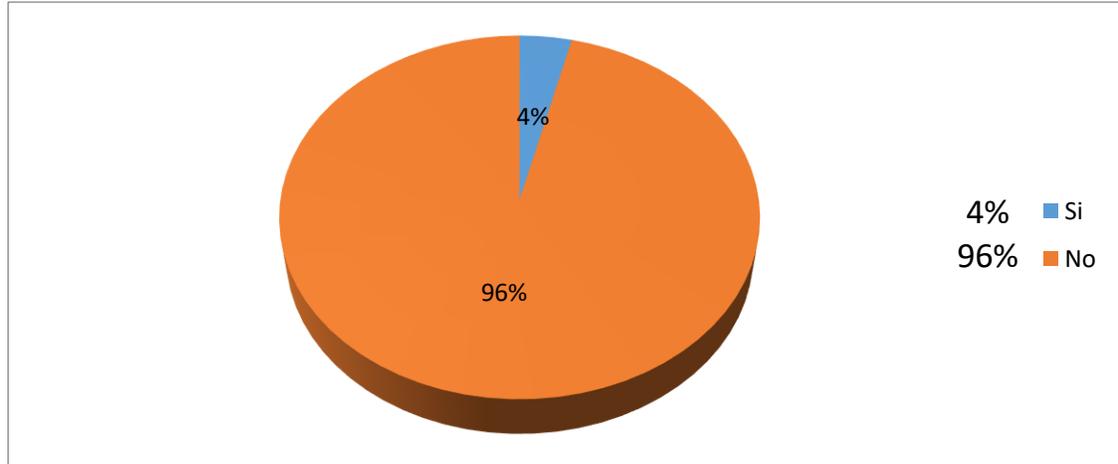


Figura 14. Utilización del injerto, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 96 % que corresponde a 25 fincas que no realizan la enjertación mientras que el 19 % restante que corresponde a 1 finca no la utiliza.

En la figura 15, se presenta la fuente de fertilizante de almacigo en zona de Acatenango

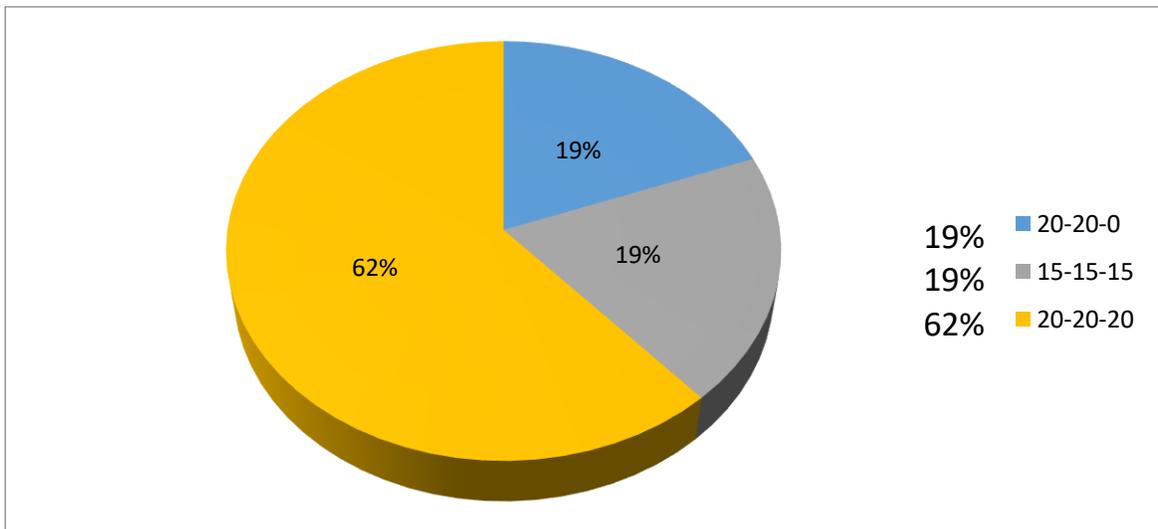


Figura 15. Fertilización del almacigo, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 62 % que corresponde a 16 fincas, utilizan como fertilizante 20-20-20; 19 % que corresponde a 5 fincas, utiliza la fórmula 20-20-0; y el 19 % restante que corresponde a 5 fincas utiliza la fórmula 15-15-15.

En la figura 16, se presenta el producto para la desinfección de sustrato en Acatenango

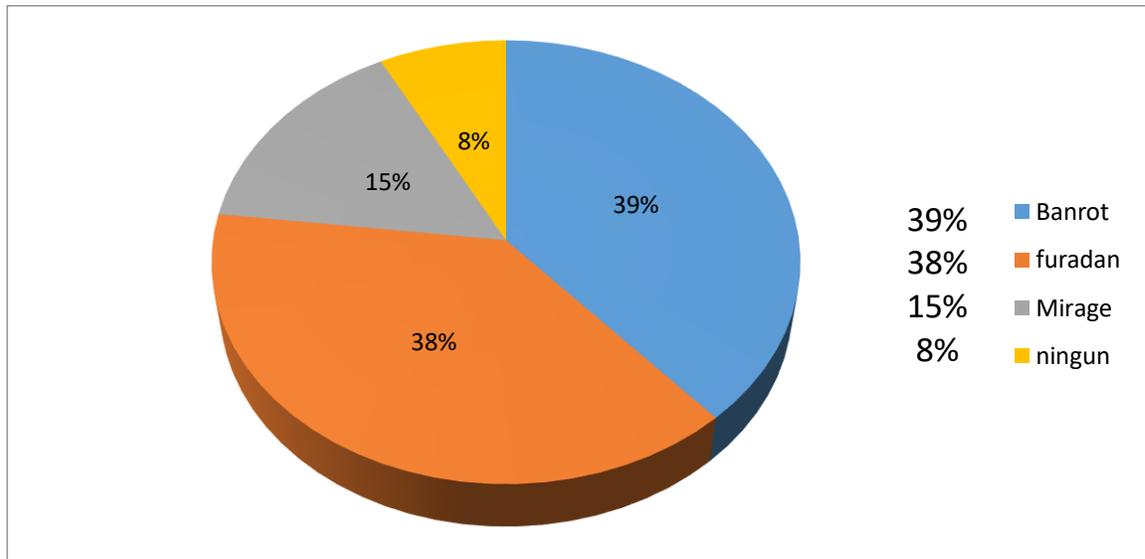


Figura 16. Desinfección química del sustrato, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 39 % que corresponde a 10 fincas, utilizan Banrot (Metil Tiofanato) para la desinfección del sustrato para almacigo, 38 % que corresponde a 10 fincas, utiliza Furadan (cabofuran); 15 % que corresponde a 4 fincas utiliza Mirage (Procliraz); y el 8 % restante que corresponde a 2 fincas no utiliza productos químicos para la desinfección del suelo.

En la figura 17, se presenta el análisis de nematodos en zona de Acatenango.

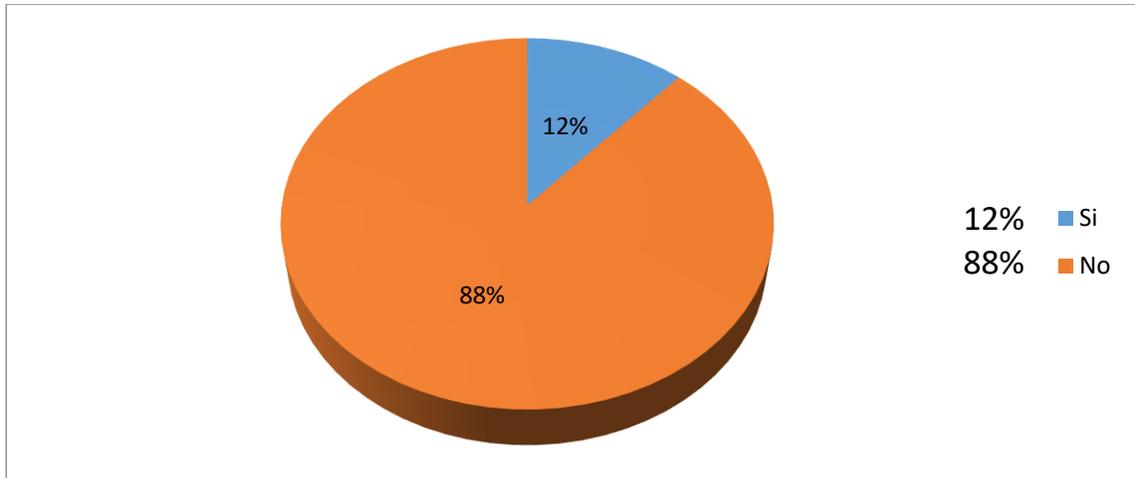


Figura 17. Conoce el análisis de nematodos, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 88 % que corresponde a 23 fincas, conoce el servicio de análisis nematológico y el 12 % restante que corresponde a 3 fincas no conocía este servicio.

En la figura 18, se presenta traslado de la muestra en Acatenango

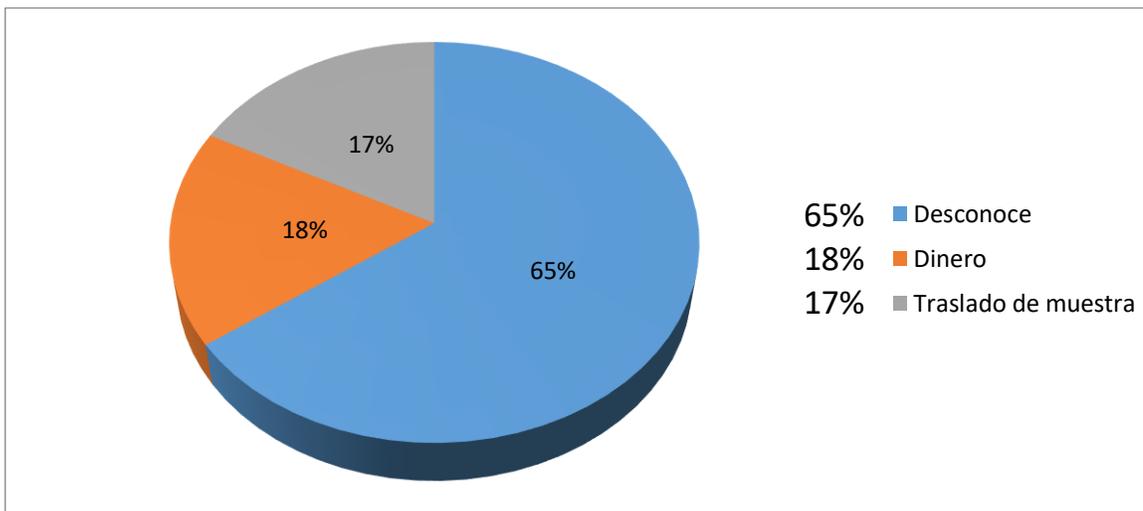


Figura 18. Porque no utiliza el análisis de nematodos, Acatenango

En la figura anterior, se puede observar que en las 26 fincas encuestadas en Acatenango, existe un 65 % que corresponde a 15 fincas no utilizan el análisis nematológico porque desconoce la utilidad del mismo, 18 % que corresponde a 4 fincas, debido al costo y el 17 % restante que corresponde a 4 fincas debido al traslado de las muestras.

2.6.2. Resultados de encuestas en fincas de San Pedro Yepocapa

Se observó en las fincas cafetaleras que el 90 % selecciona la semilla y el 10 % compra semilla, las variedades que se utilizan son Catuai con un 30 %, una mezcla de Caturra siendo esto el 30 % y Borbon con un 20 %, el sustrato de mayor utilización es la mezcla de pulpa/suelo con un 60 % y pulpa/suelo/materia orgánica 30 %, el tipo de almacigo más utilizado es el de bolsa 90 %, la cantidad de almácigos en Yepocapa es de 767,000 almácigos y la finca que más almácigos produce es la finca Santa Cristina 100,000 almácigos en bolsa, la procedencia del suelo para el sustrato es de 60 % de las fincas donde se elabora el almacigo y 40 % de otras localidades. La técnica de injertación se utiliza en un 100 %, en la fertilización la fuente más utilizada la fórmula 15-15-15 con un 40 %, seguido del 30 % que utiliza la fórmula 18-46-00 para la nutrición del almacigo. Los productos que más utilizan para la desinfección química del sustrato con Banrot (Metil Tiofanato) 60 % y Furadan (carbofuran) 30 % y el Mirage 10 %.

Los caficultores del área de Yepocapa el 80 % no utilizan el servicio del análisis de nematodos y solo un 20 % lo utiliza, las causas de que no lo utilizan es en que un 50 % que no lo conocen, 20 % por falta de recursos para utilizarlo y 30 % por el traslado de la muestra.

En la figura 19, se presenta la selección de semilla en la zona de Yepocapa.

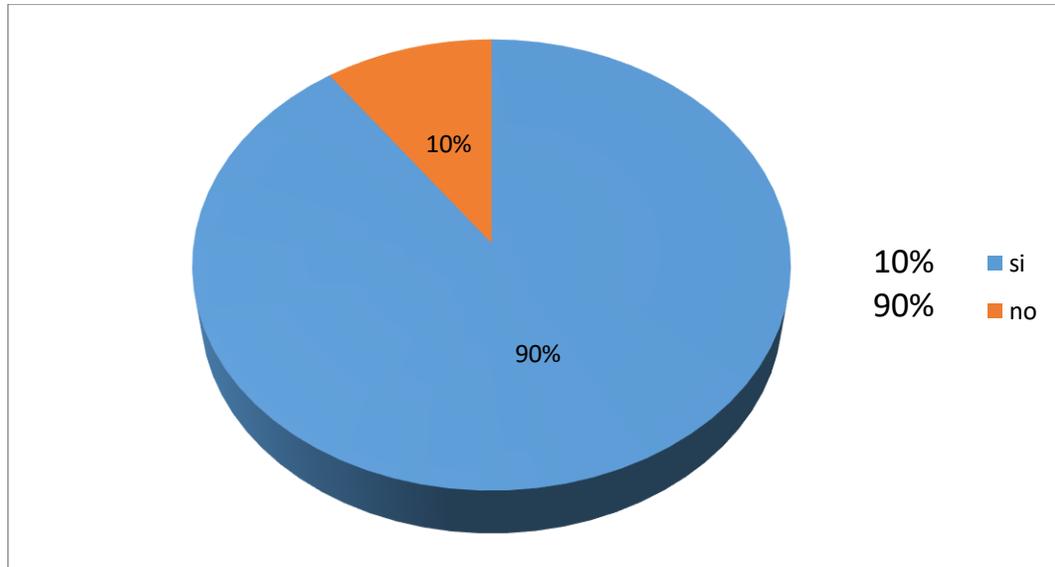


Figura 19. Selección de semilla para almacigo, Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 90 % que corresponde a 9 fincas, seleccionan la semilla que utilizan en almacigo y el 10 % restante que corresponde a 1 finca no la selecciona.

En la figura 20, se presenta la compra de semilla en la zona de Yepocapa

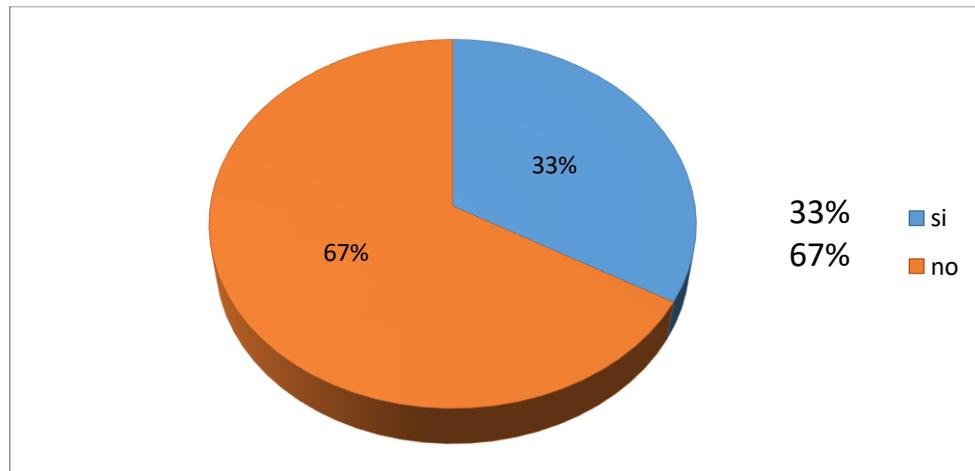


Figura 20. Compra semilla para almacigo, Yepocapa.

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 67 % que corresponde a 6 fincas compran la semilla que utilizan en almacigo y el 33 % restante que corresponde a 4 fincas no la compra.

En la figura 21, se presenta las variedades de café en la zona de Yepocapa

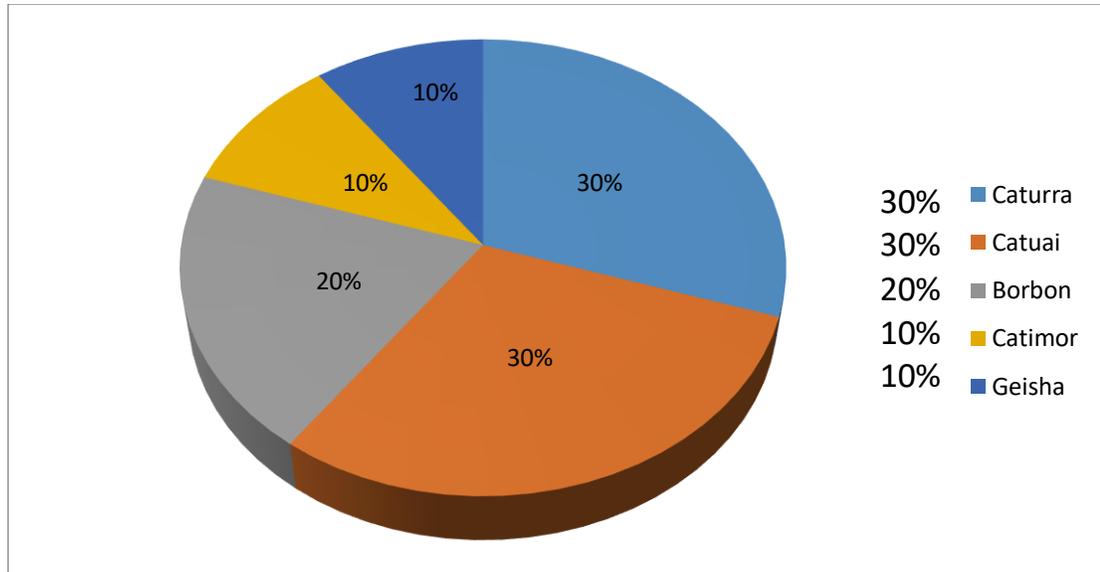


Figura 21. Variedades más utilizadas en Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 30 % que corresponde a 3 fincas utilizan la variedad Catuai, el 30 % que corresponde a 3 fincas Caturra, 20 % que corresponde a 2 fincas utilizan Borbon, 10 % que corresponde a 1 finca usa Catimor y el 10 % restante que corresponde a 1 finca utiliza Geisha.

En la figura 22, se presenta los tipos de sustratos que se utilizan en la zona de Yepocapa

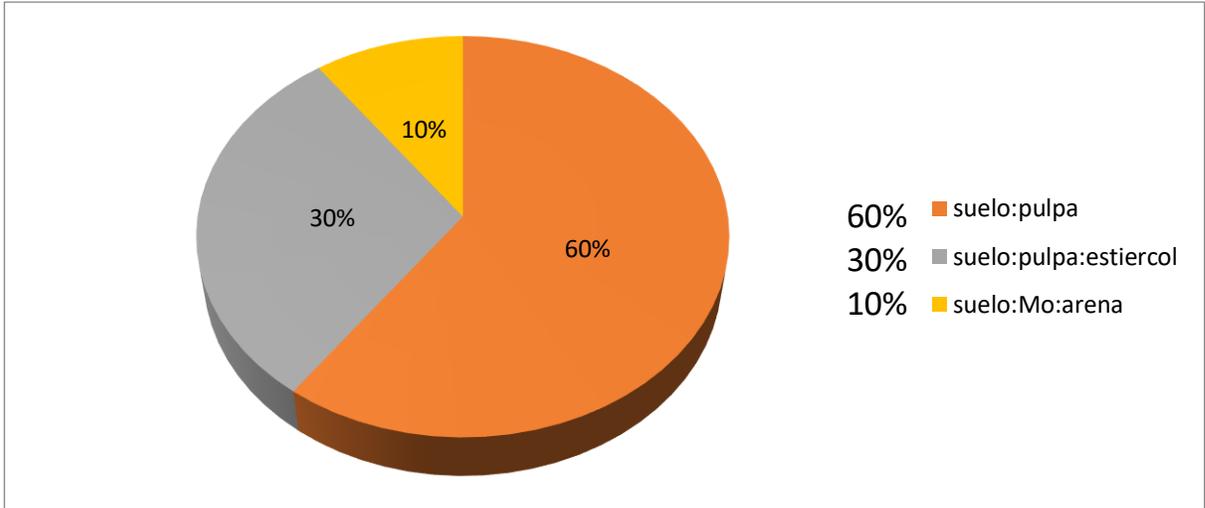


Figura 22. Tipo de sustrato utilizado, Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 60 % que corresponde a 6 fincas utilizan como sustrato suelo y pulpa de café, el 30 % que corresponde a 3 fincas utiliza suelo, pulpa de café y estiércol y el 10 % restante que corresponde a 1 finca utiliza suelo, materia orgánica y arena.

En la figura 23, se presenta la técnica de la desinfección de suelo en la zona de Yepocapa

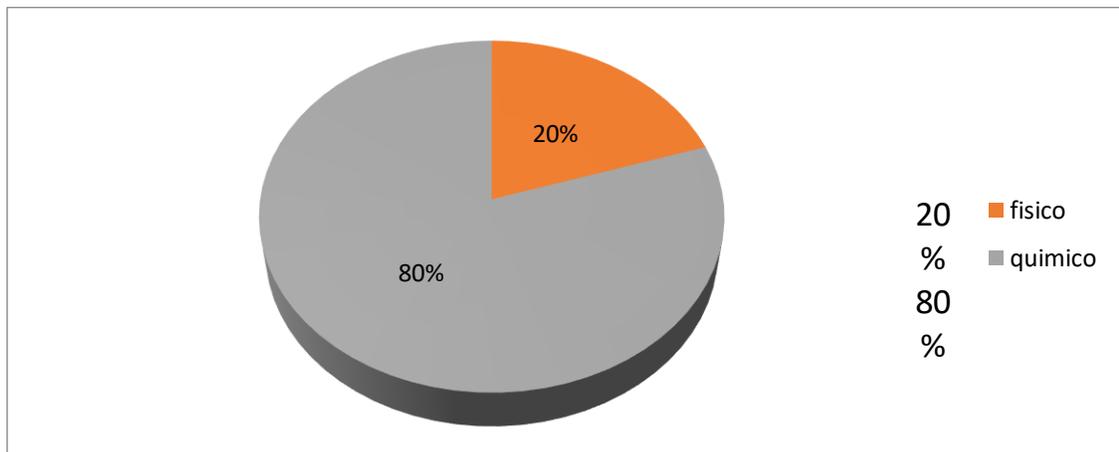


Figura 23. Tipo de desinfección del sustrato, Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 80 % que corresponde a 8 fincas desinfectan el sustrato de una manera química, y el 20 % restante que corresponde a 2 fincas lo desinfectan por el método físico.

En la figura 24, se presenta los tipos de almacigo de la zona de Yepocapa.

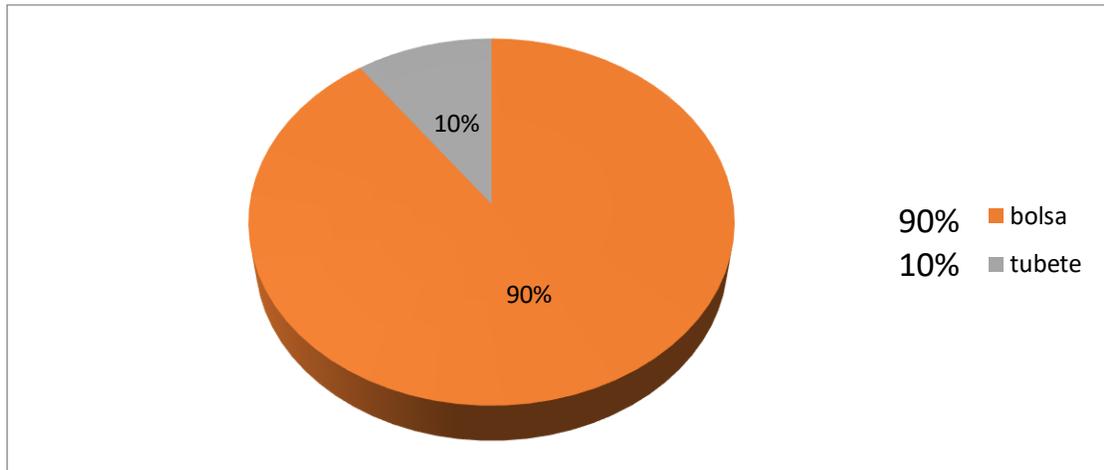


Figura 24. Tipo de almacigo utilizado, Yepocapa.

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 90 % de ellas que corresponde a 9 fincas utilizan bolsas en el almacigo y el 10 % restante que corresponde a 1 finca utilizan tubete.

En la figura 25, se presenta número de almacigo por finca en la zona de Yepocapa

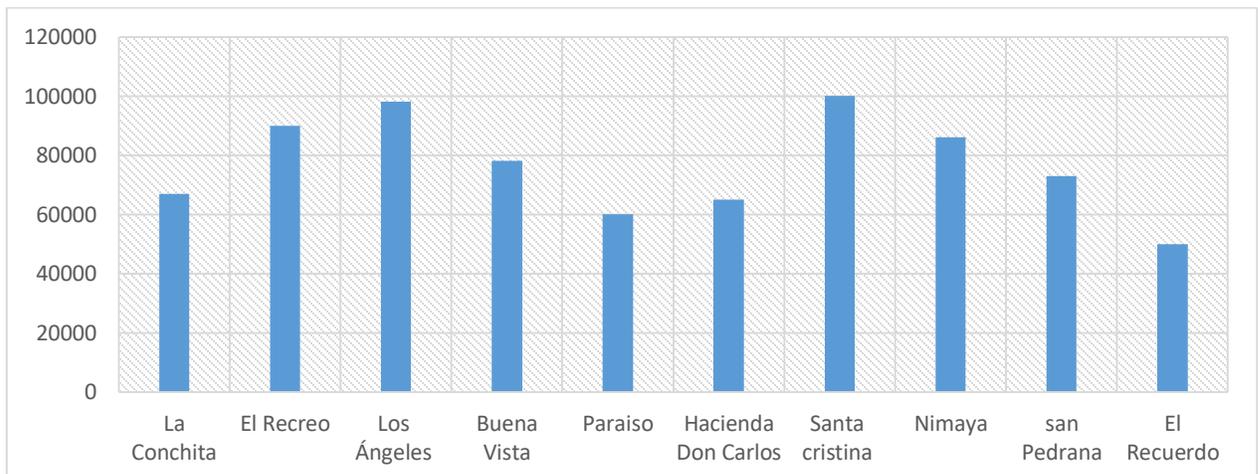


Figura 25. Cantidad de almacigo de Yepocapa por finca

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, la finca que tiene el mayor número de almácigos es la finca Santa Cristina con 100,000 y la que tiene el menor número es la finca El Recuerdo con 50,000.

En la figura 26, se presenta la compra de semilla en la zona de Yepocapa

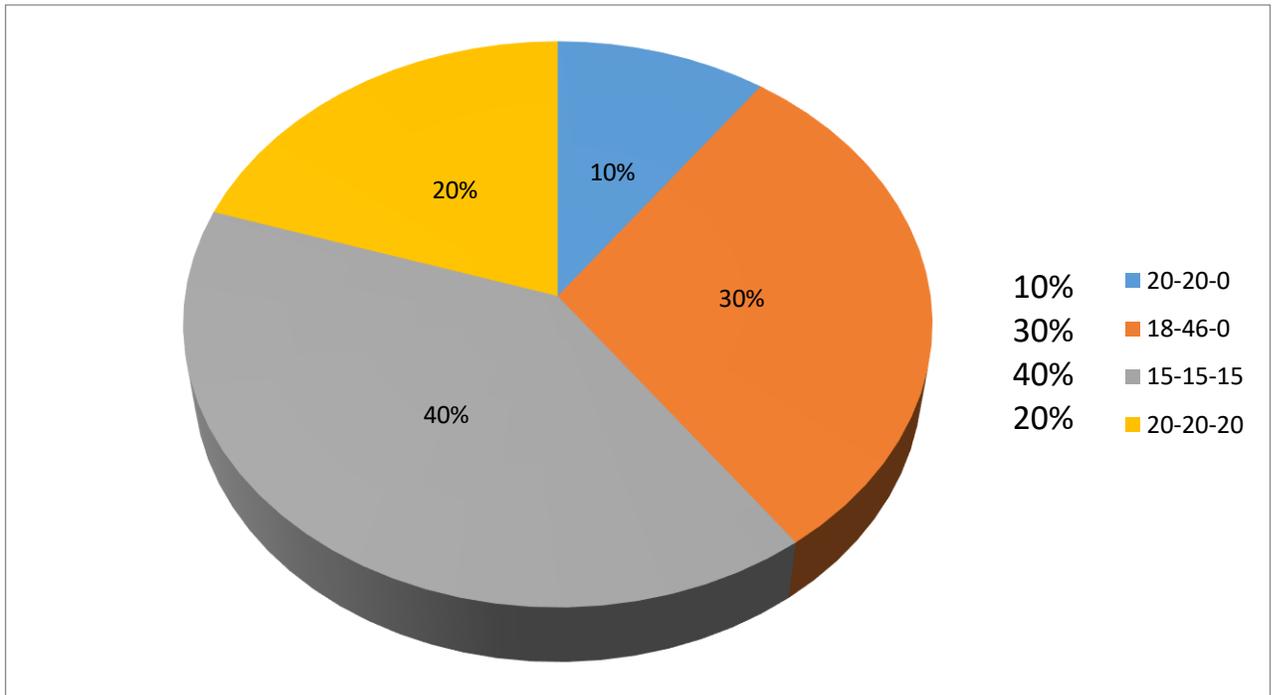


Figura 26. Fertilización del almácigo, Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 40 % de ellas que corresponde a 4 fincas utilizan como fertilizante con la fórmula 15-15-15, 30 % que corresponde a 3 fincas utiliza la fórmula 18-46-0, 20 % que corresponde a 2 fincas utiliza la fórmula 20-20-20 y el 10 % restante que corresponde a 1 finca utiliza la fórmula 20-20-0.

En la figura 27, se presenta los productos de desinfección de sustratos la compra de semilla en la zona de Yepocapa

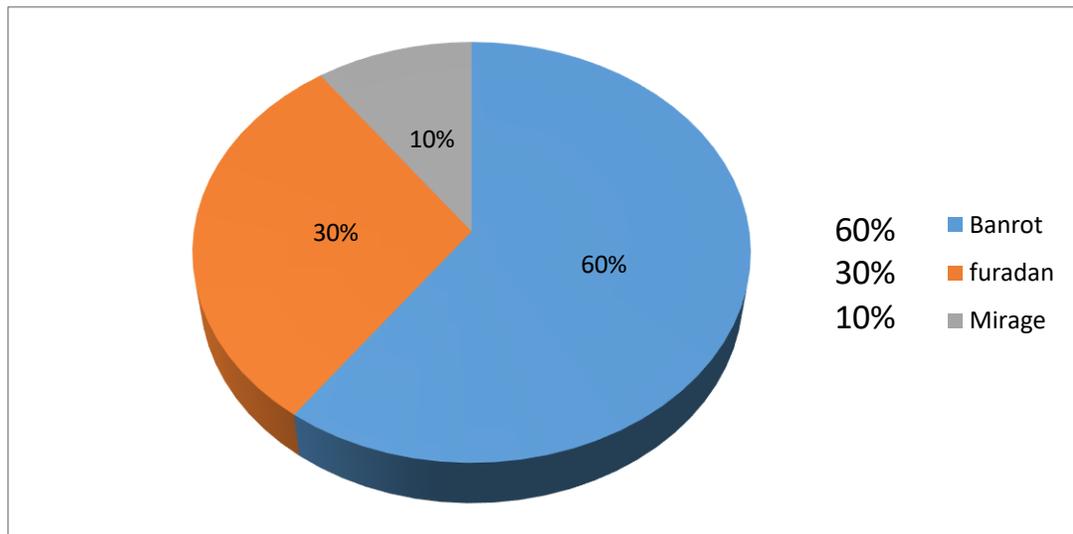


Figura 27. Desinfección química del sustrato, Yepocapa.

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 60 % de ellas que corresponde a 6 fincas utilizan Banrot (Metil Tiofanato) para la desinfección del sustrato para almacigo, 30 % que corresponde a 3 fincas utiliza Furadan (Carbofuran), y el 10 % restante que corresponde a 1 finca utiliza Mirage (Procliraz).

En la figura 28, se presenta la procedencia del sustrato en la zona de Yepocapa.

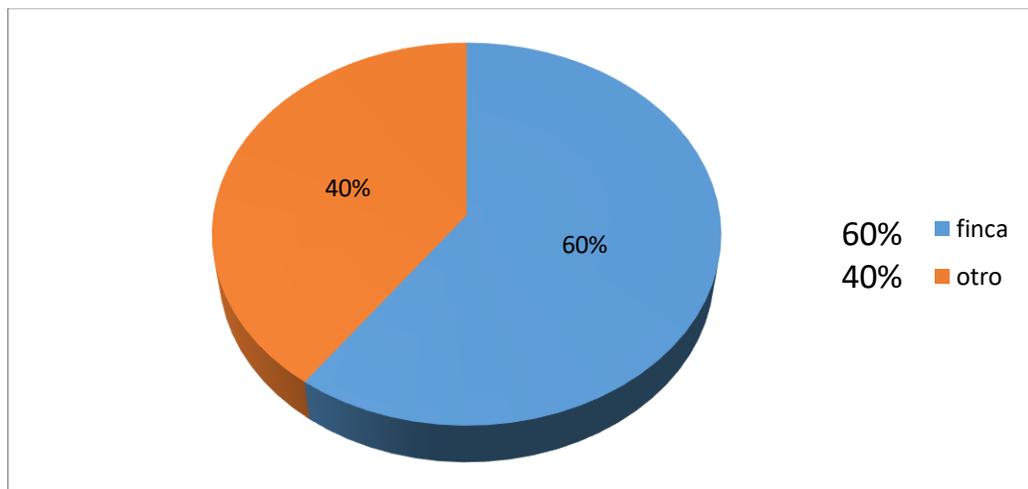


Figura 28. Procedencia del suelo para el sustrato. Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 60 % de ellas que corresponde a 6 fincas utilizan sustrato procedente de la misma finca y el 40 % restante que corresponde a 4 fincas utiliza sustrato de otra procedencia.

En la figura 29, se presenta los análisis de datos de nematodos en Yepocapa

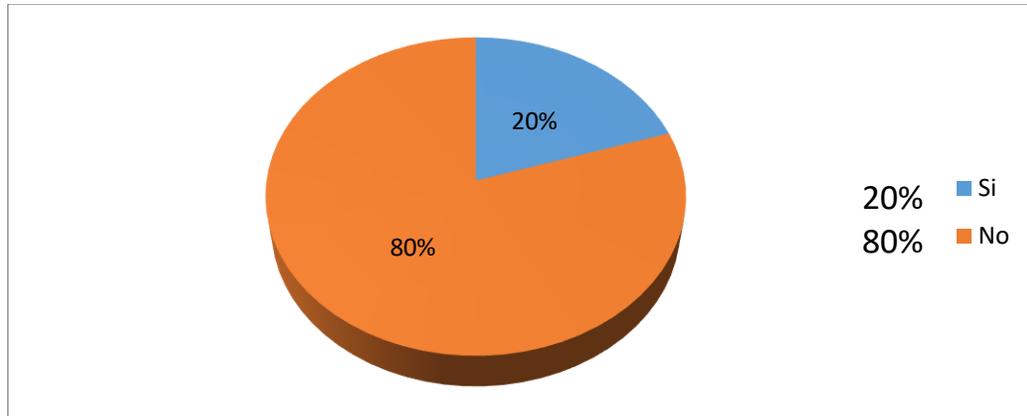


Figura 29. Conoce el análisis de nematodos, Yepocapa.

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 80 % de ellas que corresponde a 8 fincas que conoce el servicio de análisis nematológico y el 20 % restante que corresponde a 2 fincas no conocía este servicio.

En la figura 30, se presenta el trasplante de la muestra en la zona de Yepocapa

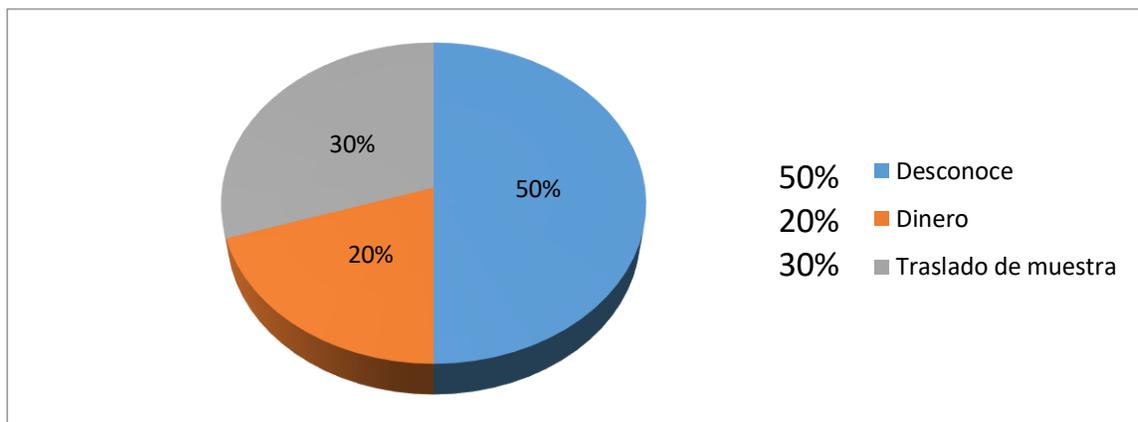


Figura 30. Porque no utiliza el análisis de nematodos, Yepocapa

En la figura anterior, se puede observar que en las 10 fincas encuestadas en Yepocapa, existe un 50 % de ellas que corresponde a 5 fincas no utilizan el análisis nematológico porque desconoce la utilidad del mismo, 30 % que corresponde a 3 fincas debido al traslado de las muestras y el 20 % restante que corresponde a 2 fincas debido al costo.

2.6.3. Propuesta técnica

Esta consiste en divulgar y capacitar caficultores de Acatenango y Yepocapa, mediante charlas técnicas, boletines, afiches y trifoliales, sobre el conocimiento de nematodos y elaboración de MIP (cuadro 3).

Cuadro 5. Propuesta técnica y económica sobre el conocimiento de nematodos y manejo integrado de nematodos (MIN)

| TEMAS | SUBTEMAS | OBJETIVOS | METODOLOGIA | INDICADORES | No. PARTICIPANTES | TIEMPO (minutos) | COSTO (Quetzales) |
|--|--|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------|---|
| Conociendo los nematodos y el daño que causan a nuestro café | Que son los nematodos | Conocer la morfología de los nematodos: <i>Meloydogine</i> sp. y <i>Pratylenchus</i> sp. | Charlas magistrales | Evaluación practica de compresión | 20 | 30 | Q 800.00 de capacitador |
| | Daño que causan | | Presentaciones audio visuales | | | 30 | Q 300.00 de refrigerio |
| | Clasificación de nematodos en café | Reconocer la sintomatología de daño causada por los nematodos en campo y vivero. | Trifoliales informativos | | | 60 | TOTAL Q 1,100.00 |
| Muestreo de nematodos e interpretacion de resultados de laboratorio | Como realizar un muestreo | Realiazar mestreos en campo y almacigo | Charlas magistrales | Evaluación practica de compresión | 20 | 45 | Q 800.00 de capacitador |
| | Manejo de la muestra | Comprender los pasos e identificar la muestra | Presentaciones audio visuales | | | 30 | Q 300.00 de refrigerio |
| | Interpretación de datos | Generar criterios para interpretar resultados de laboratorio | Trifoliales informaticos | | | 30 | TOTAL Q 1,100.00 |
| | Que es un MIP | Conocer el concepto de manejo integrado de plagas (MIP). | | | | 45 | |
| Manejo integrado de nematodos (MIN) | ¿Qué estrategias pueden utilizarse en un programa MIN? | Conocer los componentes de un MIN | Charlas magistrales | Evaluación practica de compresión | 20 | 45 | Q 800.00 de capacitador |
| | Elaboracion de un MIN | Elaborar de un programa de MIN en café | Presentaciones audio visuales | | | 45 | Q 300.00 de refrigerio TOTAL Q 1,100.00 |

a) Charlas magistrales (capacitación)

Con el uso de equipo audiovisual y el asesor técnico de Anacafé debe de capacitar y concientizar al caficultor sobre las herramientas de control preventivo de nematodos existentes en el almacigo de café.

- **Suelo para elaboración de sustrato libre de nematodos:** Debe de presentar adecuadas condiciones de aireación, infiltración y disponibilidad de nutrientes. La textura deberá ser franco – arenosa, puede realizarse una mezcla con 70% de suelo fértil, del 10 % a 20 % de un material orgánico (pulpa descompuesta, lombricompost, etc.) y 10 % a 20 % de arena.
- **Desinfección de sustrato:** Esto puede realizarse con los productos mostrados en el cuadro 4.

Cuadro 6. Productos utilizados para la desinfección del sustrato

| PRODUCTO | DOSIS | ÉPOCA DE APLICACIÓN | FORMA DE APLICACIÓN |
|-------------------------------|-------------|------------------------------|--|
| TERBUFOS 10 G (AGROFOS) | 3 gr /bolsa | 8 días antes de la siembra | Se aplica en la orilla de la bolsa (sustrato), el sustrato tiene que estar húmedo y quedar tapado. |
| FURADAN 5 G | 2 gr/bolsa | 15 días antes de la siembra | Se aplica en la orilla de la bolsa (sustrato), el sustrato tiene que estar húmedo y quedar tapado. |
| MOCAP 10 G | 2 gr /bolsa | 12 días antes de la siembra. | Se aplica en la orilla de la bolsa (sustrato), el sustrato tiene que estar húmedo y quedar tapado. |

- **Injertación sobre robusta o Nemaya:** El injerto de cafetos de la especie *Coffea arabica* sobre patrón de *Coffea canphora*, variedad Robusta o Nemaya, debe de realizarse a los 60 días después de la siembra de las dos variedades. Se realiza con las platas de patrón Robusta o Nemaya están en estado de mariposa y la variedad comercial alcanza el estado de “soldadito”.
- **Monitoreo de nematodos en el almacigo previo a establecer en campo definitivo:** Esto puede realizarse a nivel de observación de síntomas, realizando la

confinación mandando muestras del almacigo al laboratorio, con una muestra compuesta de 6 a 8 bolsas de almacigo, con 3 a 4 cruces de altura de las plántulas.

- **Control biológico:** para el control puede realizarse hongos como *Trichoderma* sp. y *Paecilomyces* sp. en dosis recomendada por el proveedor.

b) Afiches y trifoliales

Brindar al caficultor material de consulta rápida con consejos de prácticas culturales que minimicen el riesgo de contaminación o traslado almácigos infectados con nematodos a campo definitivo.

- Buenas prácticas en la elaboración del almacigo
 - ✓ Elaboración del sustrato
 - ✓ Desinfección del sustrato
 - ✓ Enjertación sobre Robusta o Nemaya
 - ✓ Monitoreo de nematodos previo a establecer a campo definitivo
- Identificación de síntomas
 - ✓ Amarillamiento
 - ✓ Raquitismo
 - ✓ Mal desarrollo de la plantilla
 - ✓ Parches amarillentos dentro del lote de almácigos
- Técnicas para realizar muestreo de nematodos y su traslado al laboratorio
 - ✓ La muestra compuesta consta de 6 a 8 bolsas de almacigo
 - ✓ 3 a 4 cruces de desarrollo o altura por plántula
 - ✓ Las plantas deben de llegar en buen estado, no deshidratadas o lastimadas por el viento o calor para su certero análisis

c) Costos de material didáctico

En el cuadro 5 se presentan el costo de la propuesta técnica, se recomienda realizar para el área de Acatenango por lo menos tres capacitaciones procurando agrupar a los caficultores en tres estratos, los de la parte alta, media y baja y para los caficultores de San Pedro Yepocapa enfocarse en dos tipos de productores:

1. Los que realizan almacigo para la venta, que deberían de ser los que reciban mayor seguimiento.
2. Los productores que realizan almacigo para siembras de su unidad productiva.

Cuadro 7. Costo de material didáctico

| RUBRO | COSTO | UNIDAD |
|--------------------------|------------|--------|
| Afiches (full color) | Q 5,000.00 | Millar |
| Trifoliales (full color) | Q 3,500.00 | Millar |
| TOTAL | Q 8500.00 | |

Se han programado un total de 3 capacitaciones en las que se estará utilizando y entregando el material impreso con un costo de Q. 8,500, el costo del asesor técnico de Anacafe por las 3 capacitaciones asciende a Q. 2,400.00 siendo el costo de inversión para Anacafe de Q. 10,900.00 quetzales.

Además, es necesario que el asesor técnico en cada visita a las unidades productivas coloque un afiche informativo, así como busque el apoyo de asociaciones y cooperativas de café en la zona.

2.7. CONCLUSIONES

1. Las técnicas para la elaboración de almácigos de café de los municipios de Acatenango y Yepocapa, son un pilar muy importante para la sostenibilidad de la caficultura de la región debido a que a manera de que se tenga un mayor conocimiento de los pasos a seguir para la elaboración de un almacigo libre de nematodos se podrá garantizar la buena producción de café.
2. El simple traslado de almacigo procedente de Yepocapa hacia Acatenango representa un peligro latente para la diseminación de las poblaciones de nematodos, por lo que es necesario la capacitación y comunicación de dicho problema.
3. La mayoría de caficultores de Acatenango y Yepocapa desconocen el servicio de análisis de nematodos, lo que es agrava la situación es que no poseen ni el más mínimo criterio de en qué puede ayudar realizar dicho análisis.
4. Los caficultores que conocen el análisis, no lo están realizando por falta de capital o por no tener como hacer llegar sus muestras al laboratorio.
5. Un efecto positivo es que el 100 % de los almácigos de Yepocapa están siendo injertados lo que favorece a la tolerancia de ciertas poblaciones de nematodos en la raíz, en contra parte Acatenango no utiliza el injerto.

2.8. RECOMENDACIONES

1. Crear una estrategia de capacitaciones con respecto al daño que causan los nematodos a las plantaciones de café.
2. Capacitar a los caficultores del área sobre la toma de muestras para análisis de nematodos.
3. Establecer medidas publicitarias para dar a conocer el servicio de análisis de nematodos tanto en almácigos como en plantaciones adultas.
4. Conocer las poblaciones de nematodos que existen en Acatenango y Yepocapa.

2.9. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, GN. 2005. Fitopatología. 2 ed. US, Academic Press. 831p.
2. Alvarado, J. 1997. Diagnóstico sobre parasitismo de los nematodos y cochinillas de raíz en la zona del suroccidente de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Quetzaltenango, Guatemala, USAC, CUNOC. 60 p.
3. Álvarez, GA; Samayoa, JO. 1997. Guía de prácticas de laboratorio de fitopatología I: prácticas de laboratorio. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 121 p.
4. ANACAFE (Asociación Nacional del Café, Guatemala). 1984. Manual de enfermedades y plagas de café. Guatemala. 111 p.
5. _____. 1988. Manual de caficultura. Guatemala. 247 p.
6. _____. 1998. Manual de caficultura. 3 ed. Guatemala. 317 p.
7. _____. 2002. Manual de caficultura. 2 ed. Guatemala. 169 p.
8. _____. 2006. Guía técnica de caficultura. Guatemala. 213 p.
9. Cea D'Áncora, M.A. 1999. Metodología cuantitativa. estrategias y técnicas de investigación social. Madrid, Síntesis.
10. Dixon, WJ; Massey, FJ. 1977. Introducción al análisis estadístico. Trad. José Pérez Villaplana. México, McGraw-Hill. 489 p.
11. E-Centro, BR. 2012. Generalidades de Epilnfo (en línea). Brasil. Consultado 1 abr 2014. Disponible en http://centrodeartigos.com/articulos-educativos/article_4477.html
12. García Domingo, B; Quintanal Díaz, J; 2011. Técnicas de investigación: la encuesta (en línea). Madrid, España. Consultado 20 oct 2015. Disponible en <http://brayebran.aprenderapensar.net/files/2010/10/TECNICAS-DE-INVEST.pdf>
13. Guimarães, RJ; Guimarães, AN; Pereira, D. 2010. Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas. Lavras, Brasil, UFLA. 215 p.
14. Jones, S. 1987. Sistemática vegetal. 2 ed. México, McGraw Hill. 527 p.
15. Moreira, MQ. 2014. Descripción de las fincas cafetaleras de Chimaltenango, Guatemala (comunicación personal). Chimaltenango, Guatemala, ANACAFE, Oficina Regional Acatenango, Asesor Técnico.

16. NAS (National Academy of Science, US). 1980. Control de nematodos parásitos de plantas; control de plantas y animales. Trad. J. Moran. México, Limusa. v. 4, 219 p.
17. Rayner, RW. 1972. Micología, historia y biología de la roya del cafeto. Turrialba, Costa Rica, IICA. 68 p. (Publicación Miscelánea no. 94).
18. Pulido, A. 1971. Estadística y técnicas de investigación social. Salamanca, Anaya.
19. Rodríguez, E. 1997. Biología de los nematodos. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 24 p.
20. Sierra, S. 1998. Muestreoneematológico. Cafetín 4(6):25-37.
21. Simmons, C; Tárano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Guatemala, Instituto Agropecuario Nacional. 1,000 p.
22. Tihohod, D. 1997. Guía práctico para a identificacao de fitonematoides. Sao Paulo, Brasil, Fundacao dos Estudos em Agronomia e Veterinaria do Jaboticabal. 246 p.

TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACION
FAUSAC
* REVISIÓN *

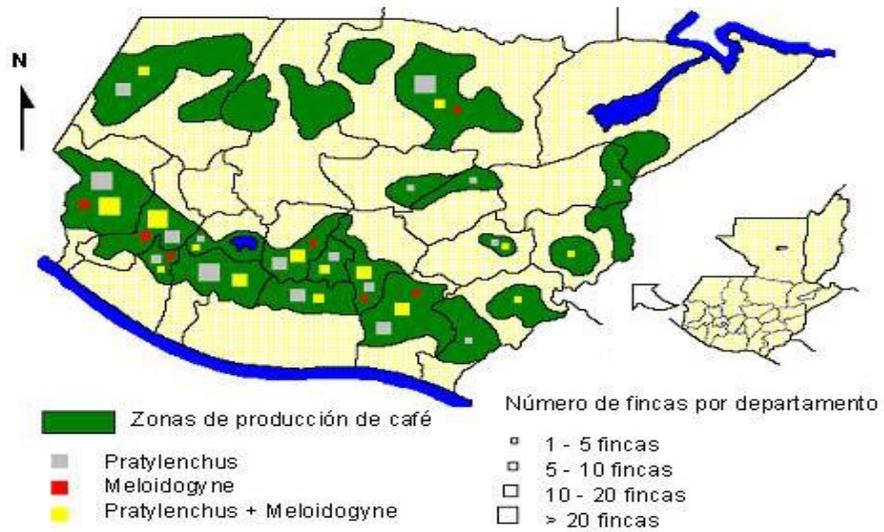
Polando Ramos

2.10. ANEXOS



Fuente: Elaboración propia, 2014

Figura 31A. Encuesta a productor, Finca Los Ángeles, Yepocapa



Fuente: Laboratorio de diagnóstico de ANACAFE

Figura 32A. Distribución geográfica de los dos géneros *Pratylenchus* y *Meloidogyne* sobre café.



Fuente: Elaboración propia, 2014

Figura 33A. Encuesta a productor, finca El Platanar, Acatenango.

|  | | ANALAB | | | |
|---|--|--------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|--|
| | | Laboratorio de Protección Vegetal | | | |
| Estudio sobre el uso del análisis nematológico en almácigos de café | | | | | |
| DATOS GENERALES | | | | | |
| Nombre de la finca: _____ | | | | | |
| Extensión (area de café en M2): _____ | | | | | |
| Departamento: _____ | | | Municipio: _____ | | |
| INFORMACIÓN DEL MANEJO | | | | | |
| SEMILLA | | | | | |
| Selecciona su semilla: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Compra semilla: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | Donde: _____ | |
| Variedad: _____ | | | | | |
| SEMILLERO | | | | | |
| Hace semillero: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Realiza control de nematodos: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Nombre del nematicida: _____ | | | | | |
| Dosis: _____ | | | Frecuencia: _____ | | |
| ALMÁCIGO | | | | | |
| # total Plantas del almácigo: _____ | | | | | |
| Procedencia del sustrato: _____ | | | | | |
| Preparación del sustrato: _____ | | | | | |
| Tipo de almácigo: | | al suelo <input type="checkbox"/> | bolsa <input type="checkbox"/> | tamaño: _____ | |
| Tratamiento del sustrato: _____ | | | | | |
| Utiliza injerto: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Utiliza injerto: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Insecticidas / fungicidas: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | cuales: _____ | |
| SERVICIO DE LABORATORIO | | | | | |
| Conoce el servicio de análisis nematológico de ANALAB: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Utiliza el servicio de analisis nematologico: | | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> | | |
| Porque No utiliza el analisis nematologico: | | transporte: <input type="checkbox"/> | | precio: <input type="checkbox"/> | |
| En que epoca del año manda muestras: _____ | | | | | |
| Le interesaría utilizar el servicio de análisis: _____ | | | | | |
| OBSERVACIONES: | | | | | |
| _____ | | | | | |
| _____ | | | | | |
| _____ | | | | | |

Fuente: Laboratorio ANACAFE

Figura 34A. Boleta para levantamiento de datos en fincas cafetaleras.

Cuadro 8A. Listado general de fincas cafetaleras en el área de Acatenango y San Pedro Yepocapa.

| NO | NOMBRE FINCA U ORGANIZACIÓN | MUNICIPIO | AREA TOTAL MANZANAS | AREA CON CAFÉ MANZANAS |
|----|-----------------------------|------------|---------------------|------------------------|
| 1 | La Soledad y Anexo | Acatenango | 133 | 65 |
| 2 | El Tempixque | Acatenango | 32 | 15 |
| 3 | Monte Verde | Acatenango | 175 | 70 |
| 4 | Palestina | Acatenango | 64 | 50 |
| 5 | El Platanar y Anexo | Acatenango | 250 | 192 |
| 6 | El Carmen | Acatenango | 128 | 64 |
| 7 | La Unión | Acatenango | 70 | 45 |
| 8 | Arcoiris | Acatenango | 48 | 38 |
| 9 | Tehuyá | Acatenango | 350 | 336 |
| 10 | Monte de Oro III | Acatenango | 65 | 54 |
| 11 | El Líbano | Acatenango | 35 | 30 |
| 12 | La Pampa | Acatenango | 35 | 30 |
| 13 | Los Nardos | Acatenango | 64 | 50 |
| 14 | La Esperanza | Acatenango | 40 | 35 |
| 15 | Chantunjay | Acatenango | 100 | 64 |
| 16 | El Olvido Patzac | Acatenango | 7 | 7 |
| 17 | La Hermosa | Acatenango | 320 | 153 |
| 18 | San Mateo | Acatenango | 64 | 20 |
| 19 | La Española | Acatenango | 15 | 14 |
| 20 | El Zapote y Anexo | Acatenango | 128 | 80 |
| 21 | El Naranjo Kikiyá | Acatenango | 516 | 125 |

| | | | | |
|----|-----------------------|--------------------|------|--------|
| 22 | Chalabal Estrella | Acatenango | 768 | 262 |
| 23 | Chalabal GOS | Acatenango | 903 | 258 |
| 24 | San Diego Buena Vista | Acatenango | 896 | 192 |
| 25 | La Unión, El Socorro | Acatenango | 64 | 30 |
| 26 | El Nogal | Acatenango | 128 | 64 |
| 27 | Tabancas | Acatenango | 32 | 25 |
| 28 | Campo Alegre | Acatenango | 30 | 16 |
| 29 | La Estancia | Acatenango | 32 | 30 |
| 30 | El Manantial | Acatenango | 24 | 20 |
| 31 | El Porvenir | Acatenango | 50 | 45 |
| 32 | El Granadillo | Acatenango | 32 | 20 |
| 33 | Santa Ana | Acatenango | 18 | 16 |
| 34 | Watasha | Acatenango | 30 | 24 |
| 35 | Santa Margarita | Acatenango | 1088 | 420 |
| 36 | Providencia | Acatenango | 324 | 300 |
| 37 | Valparaíso | Acatenango | * | 190 |
| 38 | Acatenango | Acatenango | 2000 | 1700 |
| 39 | San Antonio | Acatenango | 46 | 46 |
| 40 | San José (Luis Jerez) | Acatenango | 113 | 80 |
| 41 | Santa Feliza | Acatenango | * | 70 |
| 42 | Potosí (RigoPad) | Acatenango | 20 | 18 |
| 43 | La Conchita | San Pedro Yepocapa | 156 | 147.88 |
| 44 | El Recreo | San Pedro Yepocapa | 701 | 288 |
| 45 | La Argelia | San Pedro Yepocapa | 120 | 120 |
| 46 | El Paraíso | San Pedro Yepocapa | 16 | 15 |

| | | | | |
|----|---------------------|--------------------|-----|-----|
| 47 | Buena Vista | San Pedro Yepocapa | 125 | 64 |
| 48 | Las Nubes | San Pedro Yepocapa | 16 | 10 |
| 49 | Los Ángeles | San Pedro Yepocapa | 24 | 24 |
| 50 | Santa Elisa Pachup | San Pedro Yepocapa | 704 | 387 |
| 51 | Hacienda Don Carlos | San Pedro Yepocapa | 85 | 64 |
| 52 | Yepocapa | San Pedro Yepocapa | 117 | 35 |
| 53 | Nimaya | San Pedro Yepocapa | 576 | 512 |
| 54 | Santa Cristina | San Pedro Yepocapa | 476 | 163 |
| 55 | El Amparo | San Pedro Yepocapa | 84 | 84 |
| 56 | El Recuerdo | San Pedro Yepocapa | 128 | 100 |
| 57 | La Ensenada | San Pedro Yepocapa | 576 | 512 |

Fuente: Elaboración propia, 2016.



CAPÍTULO III

SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE PROTECCION VEGETAL DE ANACAFE, UBICADO EN GUATEMALA, GUATEMALA, C.A

3.1. PRESENTACIÓN

Como producto del diagnóstico, los servicios que se describen a continuación tuvieron como objetivo. Realizar una serie de actividades dentro de la empresa donde se realizó el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), el cual se realizó en el área de laboratorio de ANALAB, ubicado en la Asociación Nacional del Café (ANACAFE), Ciudad de Guatemala.

El primer servicio, fue la realización de una sistematización del procedimiento para el análisis nematológico a nivel laboratorio, en cual consiste en detallar todos los procesos que se realizan en el laboratorio de Analab, con el fin que el personal tenga el conocimiento de cada uno de los pasos para realizar en el momento de la extracción de nematodos.

El segundo servicio consistió, en la crianza de *pratylenchuns sp* sobre discos de zanahoria (*daucus carota*) in vitro. Este proceso está conformado en la esterilización de los discos de zanahoria, así mismo la inoculación de solución concentrada de nematodos para la crianza de nematodos, con el fin de establecer metodología de dicho patógeno.

3.2. SERVICIO No. 1. SISTEMATIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS NEMATOLÓGICO A NIVEL LABORATORIO.

3.2.1. Objetivos

Sistematizar la metodología de extracción de nematodos, utilizando el análisis nematodológico del área de protección vegetal de Anacafé.

3.2.2. Metodología

Para la sistematización del procedimiento para el análisis de nematológico, se llevó a cabo una revisión bibliográfica y se utilizó la metodología utilizada en el laboratorio de ANALAB

3.2.2.1. Métodos para la extracción de nematodos en raíz

La metodología utilizada para la extracción de nematodos, fue el método de tamizado y centrifugado en el laboratorio de fitopatología en ANACAFE.

a) Extracción de nematodos en la raíz

Se lavaron las raíces colectadas, en un recipiente plástico de 10 litros de capacidad. Las raíces lavadas se picaron en trozos de 0.5 cm aproximadamente y se licuaron por 1 minuto. Luego se decantó la suspensión sobre un tamiz de 20 μ mesh que fue ubicado sobre otro tamiz de 200 μ , 400 μ y 500 μ mesh, al momento se procedió a lavar la última para recolectar con una pizeta los nematodos que se encuentran en el último tamiz se recogieron en un beacker de 30 ml, en un volumen de 10 ml de agua, luego se repitió el proceso de filtración por los tamices.

Luego se llenaron los tubos de la centrifugadora, mezclando en cada tubo aproximadamente 0.1 g de caolín. Todos los tubos de la centrífuga con caolín tuvieron el mismo peso y se procedió a centrifugar a 2-3 mil rev/min, durante 5 min, después se desechó el sobrenadante de los tubos. El precipitado de los tubos se re-suspendió con una solución azucarada al 45% (0.45 kg/l de agua) y nuevamente los tubos debieron pesar los mismo, y se centrifugó por un período de 30 a 60 s a 3 mil rev/min. El sobrenadante de los tubos se vertió inmediatamente en el tamiz de 400 μ mesh y se lavó con agua, sumergiendo y levantando el fondo del tamiz en una cubeta con agua. Después de eliminar la solución azucarada de la superficie del cuerpo de los nematodos, estos se recuperaron en un vaso de precipitado (10-15 cm³ de agua).

b) Identificación de géneros de nematodos fitoparásitos

Se observó si la extracción realizada contenía nematodos, y se procedió a realizar los montajes de estos en portaobjetos. La realización de esta técnica se visualizó el nematodo sin ninguna modificación, prestando atención a los movimientos y a la morfología, para su determinación.

En la identificación de géneros se tomó caracteres básicos, con apoyo de una guía llamada Plant-parasitic nemátodes a pictorial key to genera, por William F Main y Perter G, Mullin de 1,996 se identificaron los nematodos parásitos presentes.

c) Conteo de nematodos

Para la realización de conteos de nematodos, se extrajeron dos mililitros (sub-muestra) de cada muestra y se cuantificaron por cada género. Después cada género cuantificado se multiplicó por el número de los mililitros del beacker y se dividió dentro de los mililitros extraídos de la sub-muestra. Con ello se obtuvo el total del número de nematodos de cada uno en 300 gramos de suelo.

3.2.3. RESULTADOS

3.2.3.1. Extracción de nematodos por tamizado y centrifugado

A. Ingreso e identificación de muestras

Esta actividad consiste en el recibir la muestra por parte del auxiliar del laboratorio de protección vegetal, y verifique si la muestra cumple con los criterios establecidos por el laboratorio, siendo así (temperatura, humedad y peso).

B. Limpieza y lavado de raíces

Consistes en lavar las raíces en un recipiente para retirar el exceso de suelo en la raicillas y resto de materia orgánica figura 35.



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 35. Lavado de raíces.

En la figura 31, se puede observar el lavado de raíces que consiste en lavar las raíces con agua con el objetivo que las raicillas finas floten y sean capaces de pasar por el tamiz 20 μ donde se colocan las raíces grandes para el lavado y escurrimiento hasta que se elimine toda el agua, una vez se allá completado el proceso se lava las raíces, y se colocan en una bandeja de plástico limpia e identificada con el número de laboratorio y orden.

C. Picado de raíces

Consiste en seleccionar el tejido de interés se corta en trozos de más o menos un centímetro de largo para obtener una muestra de tamaño uniforme y homogénea

D. Pesado y licuado de raíces



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 36. Pesado y licuado de raíces

En la figura 32, se observa el pesado y licuado de raíces, para este procedimiento se deben de pesar 25g de la muestra que se ha picado y homogenizado, las muestras que no alcancen el peso 25g deben de ser pesadas y anotado el peso correspondido. Debido a la composición morfológica y fisiológica de la raíz del café el uso del cloro permite captar en la forma la masa la parte de la raíz en la se hospedan los nematodos, según el peso de las raíces 5cc de cloro, se colocan la muestra de la raíz en cloro y agua dentro de un vaso de la licuadora y licua durante un minuto abaja velocidad seguido de este se licúa durante un minuto a velocidad alta

E. Tamizado de muestra

El resultado de este proceso se tamiza en una batería compuesta de 4 tipos de mesh 500 μ , 400 μ , 200 μ y 20 μ en orden descendente. Una vez tamizado se procede a capturar lo de los tamices bajos (500 μ y 400 μ) en un recipiente para el centrifugado.

F. Agregar Caolín

Se deben de agregar 25g de caolín al recipiente para centrifugar y completar a 250 g de peso con agua corriente, agitar vigorosamente con ayuda del votex a velocidad 8 para homogenizar el caolín con el agua y la muestra, colocar los recipientes para centrifugar en las capsulas de la centrifugadora cerrar las capsulas y centrifugar durante 6 minutos a 2500 rpm.

G. Tamizar el sobresaliente

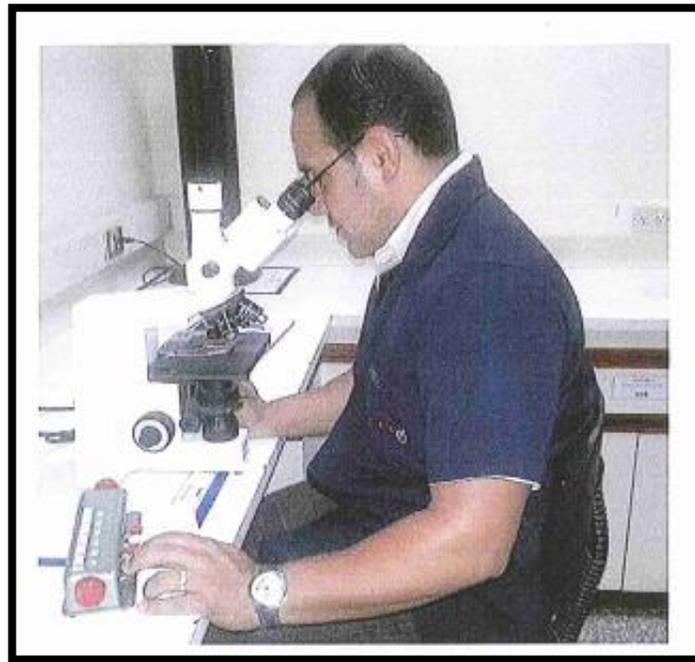
Tamizar el sobresaliente en mesh 500 μ , y lavar con agua corriente durante 1 minuto con poca presión para evitar daños a los nematodos.

H. Recolectar muestra

Depositar el sedimento captado en el tamiz en una probeta y completar a 100 ml con agua corriente

I. Lectura al microscopio

La lectura al microscopio consiste en tomar una alícuota de 2ml del total de 100 ml de la probeta y colocarla en las láminas contadoras de nematodos que están cuadrículadas, cada lamina puede contener 1ml las lecturas se toman dobles figura 33.



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 37. Conteo de nematodos al microscopio.

En la figura 33, se puede observar el conteo de nematodos al microscopio, por cada nemátodo observado se multiplica por 100 y se divide dentro de dos lecturas,

Resultado de la toma de datos de una lectura

$$45 * 100 = \frac{450}{2} = 225 \text{ nematodos en } 25 \text{ g de raiz}$$

Si la cantidad de raíces es menor a 25 g se debe realizar una regla de tres para reportar la cantidad de nematodos en 25 g de raíz, en 18 g de raíz se observaron 45 nematodos en las dos lecturas el resultado:

$$\begin{array}{r} 225 \text{ nematodo} \text{ --- } 18 \text{ g de raíz} \\ x \text{ --- --- --- } 25 \text{ g de raíz} \end{array}$$

La cantidad de nematodos a reportar en el informe es de 3133 nematodos en 25 g de raíz

J. Redacción de informe final

Consiste en ingresar los resultados de los conteos al formato de que el laboratorio de ANALAB tiene para hacer la entrega de los resultados obtenidos durante los procesos de la identificación de los nematodos y así mismo hacer entrega al cliente de los resultados obtenidos.

3.2.4. EVALUACIÓN

Mediante la recopilación de la información se deja de manera escrita los pasos que se deben de seguir para realizar el análisis de nematodos en el laboratorio de protección vegetal de Analab.

3.2.5. Sistematización de la extracción de nematodos para la raíz



TÍTULO: Extracción de Nematodos para raíz

Código: LAB_Pr_ExtracciónNematodosRaiz

Versión: 1

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 96 |
| 1.1. Principio del método..... | 96 |
| 2. ALCANCE..... | 96 |
| 2.1. Aplicación..... | 96 |
| 2.2. Parámetros de desempeño..... | 96 |
| 2.3. Puntos de control o interferencias..... | 96 |
| 3. RESPONSABILIDADES..... | 96 |
| Coordinador de laboratorio: Encargado de autorizar y entregar los resultados al cliente. | 97 |
| 4. Equipo..... | 97 |
| 5. Reactivos y Materiales..... | 97 |
| 6. PROCEDIMIENTO..... | 97 |
| 6.1. Verificación de las muestras..... | 97 |
| 6.2. Limpieza y lavado de muestra..... | 97 |
| 6.3. Selección y picado de muestra..... | 97 |
| 6.4. Pesado y licuado de muestra..... | 97 |
| 6.5. Tamizado de muestra..... | 98 |
| 6.6. Recolección de muestra..... | 98 |
| 6.7. Agregado de caolín..... | 98 |
| 6.8. Primera centrifugación..... | 98 |
| 6.9. Descartar y agregar solución de sacarosa..... | 98 |
| 6.10. Homogenizar la muestra..... | 98 |
| 6.11. Segunda centrifugación..... | 98 |
| 6.12. Tamizado de sobrenadante..... | 98 |
| 6.13. Recolección de sedimento..... | 98 |
| 6.14. Lectura de muestra..... | 98 |
| 7. Calculos..... | 99 |
| 8. DOCUMENTOS RELACIONADOS..... | 99 |
| 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 99 |
| 10. GLOSARIO..... | 99 |
| 11. ANEXOS..... | 99 |

1. INTRODUCCIÓN

Los nematodos pertenecen al reino animal. Los nematodos, en ocasiones denominados anguilillas, tienen un aspecto vermiforme pero taxonómicamente son bastante distintos de los verdaderos gusanos. La mayoría de las varias especies de nematodos viven libremente en gran número en aguas saladas o dulces o en el suelo alimentándose de plantas y animales microscópicos. Numerosas especies de ellos atacan y parasitan al hombre y a los animales, en los que producen diversas enfermedades. Sin embargo, se sabe que varios centenares de sus especies se alimentan de plantas vivas en las que producen una gran variedad de enfermedades.

1.1. Principio del método

El método consiste en obtener un volumen de 100 mililitros de extracción en la que se tiene una suspensión de nematodos de la que se cuentan los principales géneros reportados para diversos cultivos

2. ALCANCE

2.1. Aplicación

El método es aplicable a toda raíz secundaria (pelos absorbentes), con un grado de humedad.

2.2. Parámetros de desempeño

2.3. Puntos de control o interferencias

- Humedad de la raíz.
- Presión de agua al lavar el sobrenadante de los tamices.
- Tiempo con solución de sacarosa con los nematodos.
- Tiempo de lectura por crecimiento de protozoos.

3. RESPONSABILIDADES

Auxiliar de laboratorio:

Encargado de preparar y muestrear las muestras.

Analista Técnico:

Encargado de llevar a cabo el análisis de las muestras.

Especialista de área: Encargado de realizar la revisión de los resultados.

Coordinador de laboratorio: Encargado de autorizar y entregar los resultados al cliente.

4. Equipo

Microscopio Axiostar Plus

Centrifugadora Sorvall ST 40

5. Reactivos y Materiales

Reactivos a utilizar

- Solución Sacarosa

Materiales a utilizar

- Tamices de diferente Mesh
- Recipiente de centrifugadora
- Embudo
- Caolín
- Picheles graduados
- Probeta

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Verificación de las muestras

Verificar que la muestra de raíz cuenta con suficiente humedad y que la cantidad de raicillas sea

mayor a 40 g. para tener un resultado representativo.

6.2. Limpieza y lavado de muestra

Se lavan las raíces en un recipiente para retirar el exceso de suelo en las raicillas y restos de materia orgánica, el agua se contiene en el recipiente con el objetivo de que las raicillas finas que flotan sean captadas en el tamiz No. 20, en el que se colocan las raíces grandes para el lavado y escurrido final. Una vez se ha completado el proceso de lavado de las raíces, estas son colocadas en una bandeja de plástico limpia e identificada con el número de laboratorio y orden.

6.3. Selección y picado de muestra

Seleccionar el tejido de interés solo raicillas no las del tipo lignificadas, se corta en trozos de más o menos un centímetro de largo para obtener una muestra de tamaño uniforme y homogénea.

6.4. Pesado y licuado de muestra

Pesar 25 g de la muestra, colocarla dentro del vaso de la licuadora con agua y agregar 10 cc de cloro, licuar durante un minuto a baja velocidad seguido de este se licua durante un minuto a velocidad alta.

Debido a la composición morfológica y fisiológica de la raíz

en café, el uso de cloro permite captar en forma de masa la parte de la raíz en la que se hospedan los nematodos, según el peso de las raíces para 20 - 25 g es necesario 10 cc de cloro y en cantidades menores a 20 g se emplean 5 cc de cloro.

6.5. Tamizado de muestra

El resultado de este proceso se tamiza en una batería compuesta de 4 tipos de mesh 20 μ , 200 μ , 400 μ , y 500 μ en orden ascendente.

6.6. Recolección de muestra

Una vez tamizado se procede a captar el sedimento de los tamices bajos (400 μ y 500 μ) en un recipiente para el centrifugado.

6.7. Agregado de caolín

Agregar 20 g de caolín al recipiente para centrifugar y completar a 200 g de peso con agua corriente en balanza.

6.8. Primera centrifugación

Colocar los recipientes para centrifugado en las cápsulas de la centrifugadora cerrar las capsulas y centrifugar durante 6 minutos a 2500 rpm.

6.9. Descartar y agregar solución de sacarosa

Finalizado el proceso de centrifugación descartar el sobrenadante con cuidado de no remover lo que se ha sedimentado.

Completar a 200 g de peso con solución de sacarosa (1:2) preparada previamente.

6.10. Homogenizar la muestra

Agitar vigorosamente con ayuda del Vortex a velocidad 8 para homogenizar el caolín con la solución de sacarosa y la muestra.

6.11. Segunda centrifugación

Colocar los recipientes para centrifugado en las cápsulas de la centrifugadora cerrar las capsulas y centrifugar durante 6 minutos a 2500 rpm.

6.12. Tamizado de sobrenadante

Tamizar el sobrenadante en mesh 500 μ y lavar con agua corriente durante 2 minutos con poca presión para evitar dañar los nematodos o rebalsar el tamiz.

6.13. Recolección de sedimento

Depositar el sedimento captado en el tamiz a una probeta y completar a 100 mL con agua corriente.

6.14. Lectura de muestra

Llevar la probeta al área de microscopía para su lectura

7. Calculos

$CN = CN \times 100$

CN= Conteo de Nematodos

8. DOCUMENTOS RELACIONADOS

| Título del documento | Código del documento | Versión |
|-------------------------------|-------------------------|---------|
| Control de lecturas nematodos | LAB_F_ConteoNematodos | 1 |
| Control de muestras | LAB_F_RecepcionMuestras | 1 |

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agrios, GN. 2005. Fitopatología. 2 ed. US, Academic Press. 831. pag. 734 – 741.
2. G. NOMBELA y A. BELLO, Bol. Ser. Plagas. 9. 1983, pág. 183 - 189 Modificaciones al método de extracción de nematodos
3. fitoparásitos por centrifugación en azúcar.

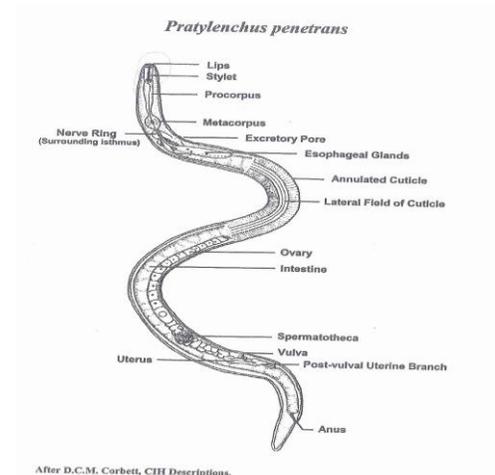
10. GLOSARIO

1. **Vermiforme:** es un adjetivo utilizado para caracterizar seres vivos o estructuras que tienen forma parecida a un gusano o verme.
2. **Terrón:** masa compacta de tierra o de otra sustancia.

3. **Caolín:** es una arcilla blanca muy pura que se utiliza para la fabricación de porcelanas y de refractarios. También es utilizada en ciertos medicamentos y como agente adsorbente y de aprestos para almidonar.
4. **Mesh:** Las mallas que poseen los tamices pueden ser especificadas por el número de aperturas por pulgada lineal (MESH) y el espesor del alambre; o también por el diámetro de apertura (dA).

11. ANEXOS

ANEXO 1: Descripción de las partes de un nematodo fitoparásito.



Control de Cambios

| Fecha | Versión | Descripción del cambio | Responsable |
|-------|---------|------------------------|-------------|
| | | | |

1.2.4. BIBLIOGRAFIA

1. Agrios, GN, 2005, Fitopatología. 2 Ed, US, Academic press. 831 p
2. Alfenas, AC; Mafia, RG. 2007. Métodos en fitopatología, Brasil, universidad Federal de Vicososa, 382 p.



TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACIÓN
FAUSAC
REVISIÓN

Polando Barrios

3.3. SERVICIO No. 2. SISTEMATIZACION DE METODOLOGIA DE CRIA DE *Pratylenchus* SP SOBRE DISCOS DE ZANAHORIA (*Daucus Carota*) IN VITRO.

3.3.1. Objetivo

Realizar la sistematización de la metodología de cría de nematodos del genero *Pratylenchus* sp. En disco de zanahoria (*Daucus carota*).

3.3.2. Metodología

A) Fase campo

Consiste en obtener muestras de campo que tengan presencia de nematodos, luego llevarlas al laboratorio de ANALAB.

El muestro que se realizó fue en la Finca El Planatar, en lote Chim presentado una sintomatología de posible daño por nematodos, para corroborar la presencia del patógeno se realizó el análisis de nematología en el laboratorio así mismo contabilizar los nematodos presentes.

B) Fase laboratorio

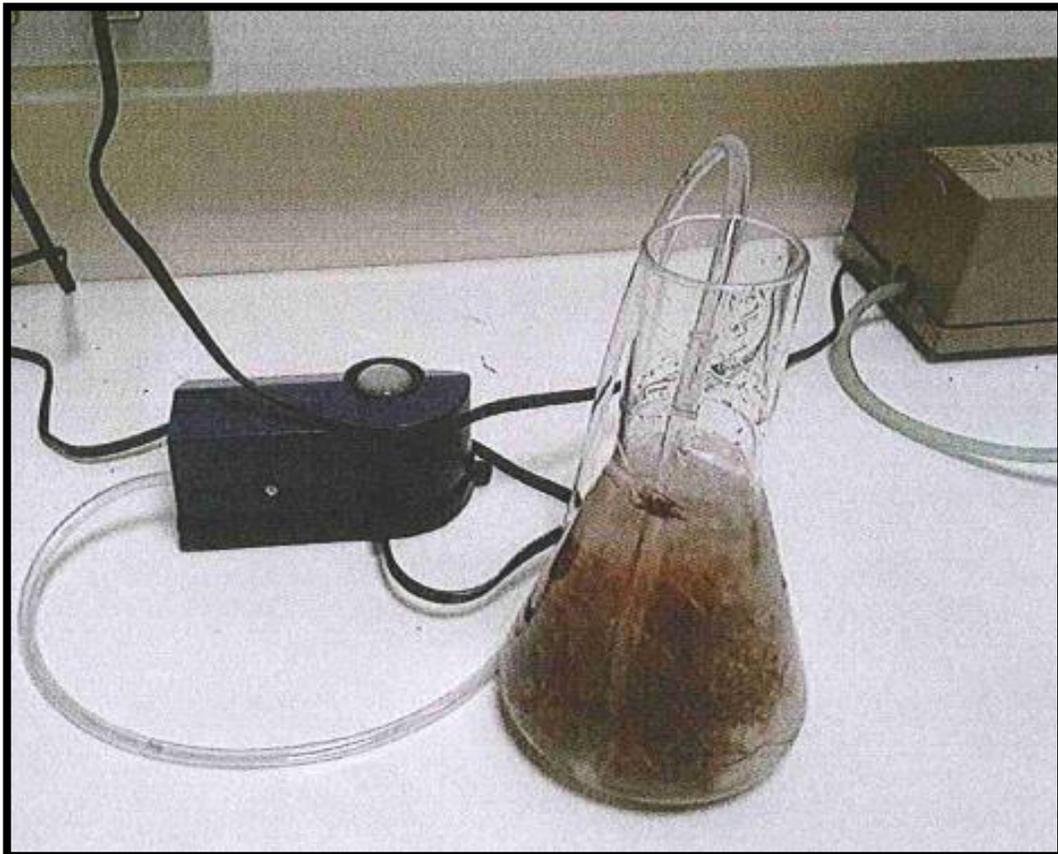
Luego que sacar las muestras del campo, y llevarlas al laboratorio se procede a lavar las raíces del café para eliminar residuos del suelo

Posteriormente se pica y se pesa la muestra las raíces y de la muestra se extrae 10 g de raíces por unidad de oxigenación

1. Oxigenación de nematodos

De las raíces lavadas y picadas se colocan de 10 a 15 g de raíces, y 300 ml de agua, la oxigenación consiste en tener un Erlenmeyer de 300ml y con un motor de pecera se le adhiere una manguera con una micro pipeta de vidrio de 2 ml, permitiéndole al agua mantenerse en movimiento y que las raíces no se oxiden, así mismo le permite al nematodo salir de las raíces del café,

A los Erlenmeyer o oxigenadores, figura 34, se les debe de cambiar el agua cada 24 horas, luego esa solución debe de pasar por un tamiz de 500 μ para verifica en el estereoscopio si se encuentra los nematodos, a medida que se van observando en el estereoscopio deben de pescar y luego identificar en el microscopio con la ayuda de un hilo de pescar o una herramienta odontológica que permite una mejor manipulación y selección de los nematodos.



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 38. Unidad de oxigenación

2. Desinfección de los nematodos

Los nematodos son capturados y se colocan en un microtubo de centrifuga de 1 ml con tapadera. A cada microtubo se le coloca por lo menos 50 nematodos.

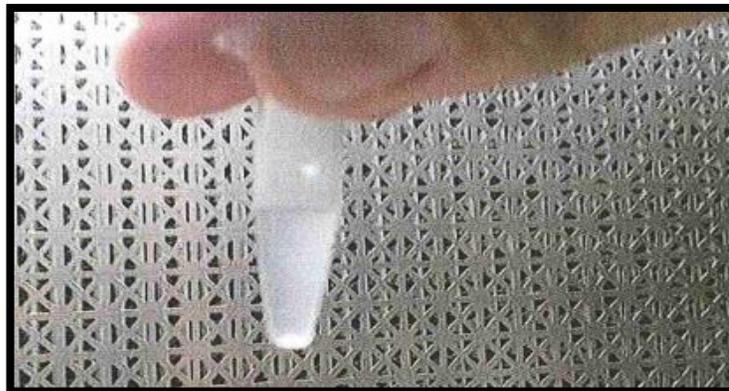
El microtubo contiene 50 nematodos se centrifuga durante 2 minutos a 2,500 rpm, después de cada centrifugación lo microtubo se asperja con alcohol al 95% antes de colocarlos de nuevo dentro de la campana de flujo laminar.

El sobrenadante se retira y se remplaza con una solución de HgCl_2 al 0.01%. los nematodos son puestos en suspensión por agitación del tubo, se vuelve a sellar el microtubo con papel parafil y se centrifuga por 2 min a 2,500 rpm. El sobrenadante se retira y remplaza con agua destilada (esta operación sirve de enjuague para eliminar el exceso de HgCl_2), y se vuelve a repetir el procedimiento de centrifugado.

Por último, se retira y remplaza con una solución de tetraciclina al 1%, se vuelve a sellar el microtubo con papel parafil y se centrifuga por 2min a 2,500 rpm.

Se debe de agregar agua destilada, debido a que se elimina el exceso de tetraciclina y eventualmente trazas HgCl_2 y nuevamente se vuelve a realizar el procedimiento de sellado de microtubo y centrifugado por 2 min a 2,500 rpm

El sobrenadante se retira y se le agrega agua destilada en la parte cónica del tubo Eppendorf. Los nematodos en suspensión concentrada se utilizan para inocular los discos de zanahoria en los frascos con una micropipeta Pasteur estéril figura 35.

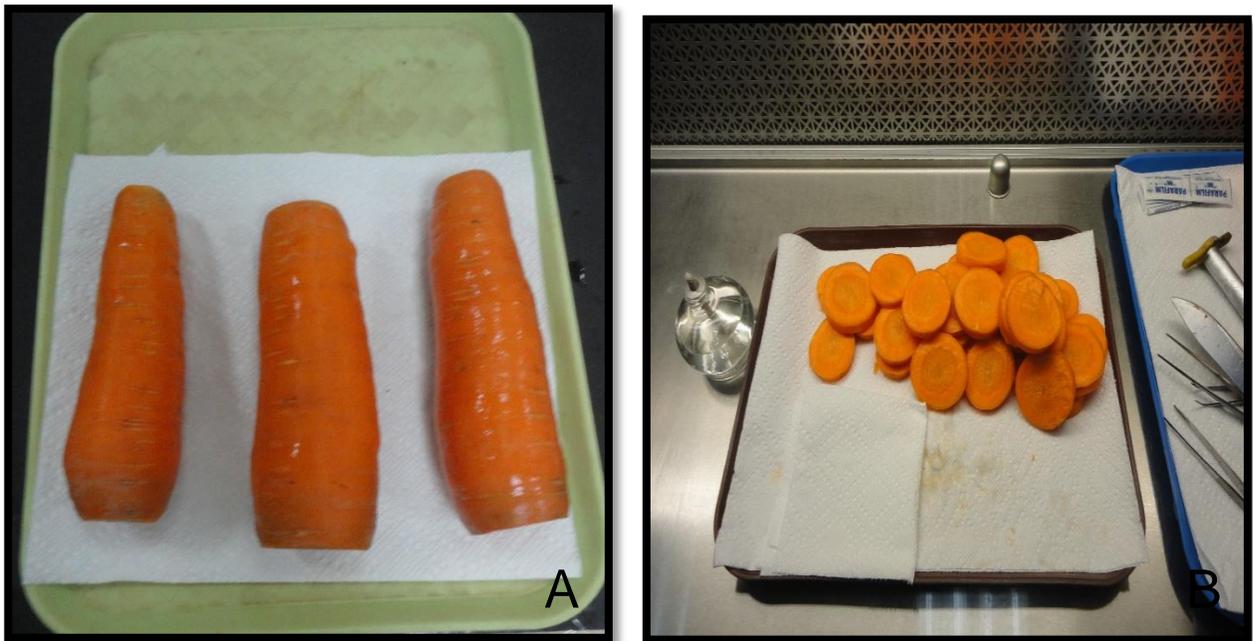


Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 39. Solución concentrada de nematodos

3. Preparación de los discos de zanahoria (esterilización)

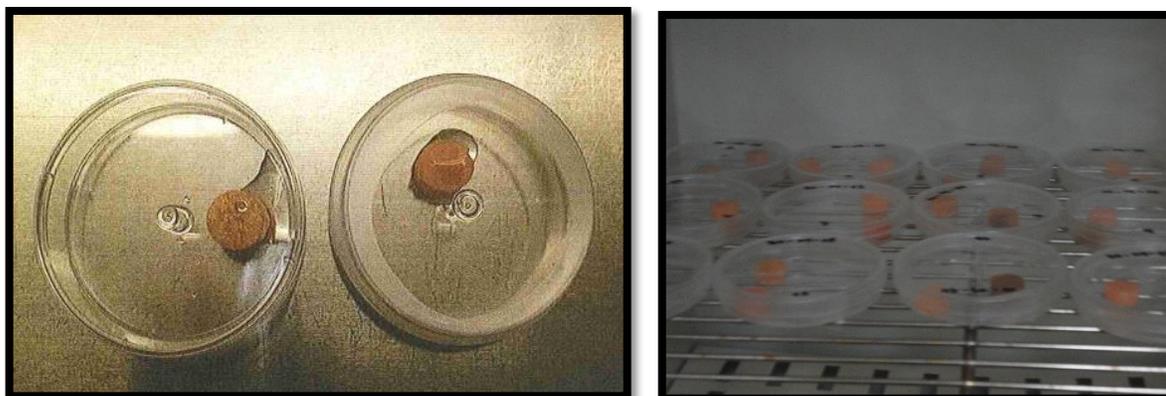
En la preparación de los discos de zanahoria se seleccionan zanahorias de buen tamaño y frescas, figura 36, posteriormente se lavan con una solución clorada del 1%, donde las zanahorias pasan por un proceso de flameado con un mechero de 95°C, se deben de cortar en rodajas de aproximadamente de 0.5 cm de grosor, cada disco se debe de perforar en el centro con un perforador, previamente esterilizado en la autoclave.



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 40. Esterilización: A) zanahorias, B) discos de zanahoria

Posteriormente se coloca un disco de zanahoria ya desinfectado en una caja Petri, selladas con papel parafilm, colocando las cajas Petri en un lugar oscuro a una temperatura entre 28- 30 °C, durante una semana para verificar que no haya contaminación de fitopatógenos, así mismo se procede a inocular los nematodos



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 41. Disco de zanahoria inoculado de nematodos

3.3.3. Resultados

3.3.3.1 Cría de *Pratylenchus sp.* Sobre discos de zanahoria (*Daucus carota*) in vitro

A. Muestreo de raíces en campo

Se llevó acabo la colecta de raíces de café en la finca el Plantar en el municipio Acatenango departamento de Chimaltenango, cuadro 6.

Cuadro 9. Información Finca El Platanar.

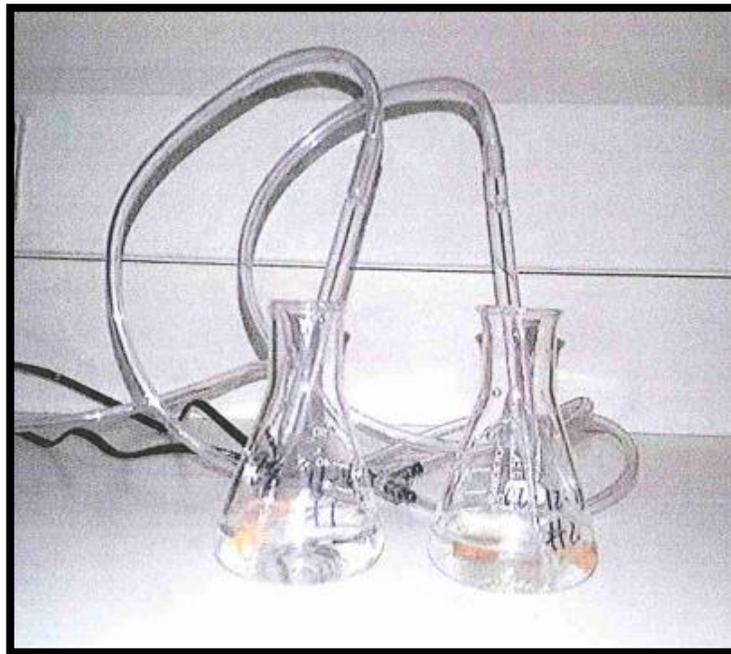
| | |
|------------------------------|---------------------------|
| FINCA | El Plantar |
| UBICACIÓN | Acatenango, Chimaltenango |
| LOTE | El Chim |
| VARIEDAD | Caturra |
| EDAD DE LA PLANTACION | 10 años |
| SOMBRA DEFINITIVA | Gravilea |

Fuente: Elaboración propia, 2014.

Los primeros nematodos comienzan a salir masivamente sobre el disco a partir de dos meses y medio a tres.

Extracción de nematodos de discos de zanahoria:

Para la obtención de las crías del disco de zanahoria se utiliza la técnica de oxigenación, colocando los discos de zanahoria dentro de la unidad de oxigenación por 24 horas aproximadamente, contiendo agua y un tamiz de 500 μ



Fuente: Elaboración propia, 2014.

Figura 42. Disco de zanahoria en oxigenación

3.3.4. EVALUACIÓN

A. Sistematización de extracción de la cría de *Pratylenchus* sp.

a. Extracción de nematodos de raíces infectadas

1. Se muestrearan raíces de café en el lote El Chim, de la finca El Platanar, en Acatenango, Chimaltenango. Se colocarán en bolsas de plástico identificadas. Luego se trasladaran en hieleras con hielo por dentro, al laboratorio de Anacafé.
2. Se elegirán raíces infectadas posiblemente por *P. coffeae.*, como raíces de café con un necrosamiento progresivo a partir de los puntos de infestación del nematodo, desaparición de raíces secundarias y en las partes aéreas de la planta problemas nutricionales.
3. Se lavarán las raíces.
4. Se cortarán las raíces en trozos pequeños (1/2 a ¼ pulg.) con un cuchillo o tijera y se mezclarán, para pesar una submuestra (15 g).
5. Se colocarán en un erlenmeyer de 250 ml la submuestra. Se añadira agua a modo de saturar el recipiente con suficiente humedad.
6. Se introducirá una pipeta pasteur, conectada a una bomba de pecera, para airear las raíces, mantener a los nematodos vivos y hacer que salgan de las raíces.
7. Se mantendrá este sistema por 48 horas.
8. Se colocarán dos tamices por arriba (20mm) y por abajo (400mm) para verter la extracción de nematodos previamente obtenida, se tamiza a modo de obtener un volumen mínimo de extracción, teniendo una concentración mayor del nematodo.

b. Identificación de *Pratylenchus coffeae*

1. Se colocará dentro de la cámara de conteo de nematodos 1 ml de la extracción de nematodos.
2. Con la guía de identificación de nematodos fitoparasitos de la Universidad de Clemson se realizaran las observaciones.

c. Preparación de los discos y cilindros de zanahoria *in vitro*

1. Se seleccionan zanahorias limpias, con una forma cilíndrica en lugar de una forma cónica. Las zanahorias no deben estar agrietadas, no muy gruesas y que no estén muy suculentas ya que tienden a ser menos susceptibles a la pudrición durante la incubación en comparación con una suculenta.
2. Se lavarán las zanahorias seleccionadas dejando correr el agua a modo de quitarle cualquier partícula de suelo. Se introducirán en hipoclorito de sodio al 3% por 15 minutos. Después se limpiarán con agua esterilizada antes de usarlas.
3. Se esterilizará suficiente agua destilada, cajas petri, papel mayordomo, pipetas y herramientas; con la autoclave todo a 121°C por 15 minutos. Se cubrirá el agua destilada y las herramientas con papel aluminio.
4. Se esterilizará la cámara de flujo laminar con etanol al 70% pasando papel mayordomo esterilizado y etanol sobre la superficie en la cual se va a trabajar.
5. Las herramientas antes de utilizar se rocían con etanol y luego se flamearán a modo de esterilizarlas.
6. Adentro de la cámara de flujo laminar se esterilizarán las zanahorias flameándolas con un mechero. Con un espray lleno de etanol al 70% se rociará la zanahoria, sosteniéndola con pinzas, y se volverá a pasar sobre el mechero; se repetirá 2 veces.
7. Se trabajará sobre el papel mayordomo y un pirex, se removerá la corona de la zanahoria con un cuchillo y se pelará con el pelador, esterilizando estas herramientas antes de usarlas.
8. Se cortarán las zanahorias peladas en discos de 5 mm de ancho y 20 mm de diámetro y cilindros de 5 mm de diámetro y 20 mm de ancho; con un perforador cilíndrico. Se esterilizará el cuchillo y el perforador cada vez que se corte un pedazo de zanahoria, para luego transferir los discos y cilindros de zanahoria a un beaker esterilizado y se cubrirá después de introducir cada uno.

d. Selección y esterilización de los nematodos

1. Se colocará dentro de la cámara de conteo de nematodos 1 ml de la extracción de nematodos para determinar el volumen a aplicar en cada caja de petri.
2. Se transferirá la extracción a una probeta de 10 ml.
3. Se pesarán 6 mg de sulfato de estreptomicina en un pedazo de papel aluminio.
4. Se transferirán estos 6 mg de estreptomicina a una probeta con 10 ml de agua esterilizada, dando como resultado una concentración de 6000 ppm de estreptomicina. Se agitará esta solución a modo de disolver la estreptomicina.
5. Se dejará reposar los nematodos al fondo de la probeta por 1 hora. Con una micropipeta se reducirá el volumen a 5 ml, se succionará solamente de la superficie. De la solución de estreptomicina, transferir 5 ml a la probeta con nematodos. Se dejará reposar por 1 hora, de nuevo se reducirá el volumen a la mitad de la probeta, se repondrá con agua esterilizada y se dejará otra hora más. Se repetirá el proceso por una tercera vez, y se dejará 30 minutos para finalmente reducir a un volumen deseado.

e. Inoculación de nematodos a los discos de zanahoria

1. Se colocarán las cajas petri con los discos y cilindros de zanahoria en la cámara de flujo laminar. Se transferirán los nematodos de la probeta, con una micropipeta, a la superficie de la zanahoria.
2. Se colocarán pequeñas gotas de la suspensión de nematodos en los márgenes de los discos de la zanahoria. Se aplicaran aproximadamente 50 *P. coffeae* por caja de petri.
3. Se sellarán las cajas petri con parafilm y se colocará la información necesaria (fecha de inoculación, tratamiento, repetición).

4. Se colocarán las cajas petri dentro de una incubadora a una temperatura de 27°C. Se incubarán en la oscuridad para replicar las condiciones del suelo. Se revisarán las cajas de petri periódicamente. Materia color blanco en la superficie de las zanahorias es un buen indicador del cultivo en la incubación.

3.3.5. BIBLIOGRAFÍA

1. Gonzaga, V; Dos Santo, J. 2010. Estudio comparativo de multiplicación *in vitro* de seis especies de *Pratylenchus* em cilindro de cenouro. Nematologia Brasileira 34(4):226-230.
2. Villain, L. 2000. Caractérisation et bioécologie du complexe parasitaire de genre *Pratylenchus* (Nemata: Pratylenchidae) présent sur caféiers (*Coffea* spp.) au Guatemala. Thèse PhD. Rennes, France, École Nationale Supérieure D'Agronomie de Rennes. 312 p.

TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACIÓN
FAUSAC
Revisión
Polando Ramos