

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CARACTERIZACIÓN ISOENZIMÁTICA Y DISTRIBUCIÓN DEL
NEMÁTODO DEL NÓDULO DE LA RAÍZ (*Meloidogyne* spp.) EN EL
CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN SAN JUAN DEL ORO-
SANDIA, PUNO.**

TESIS

PRESENTADA POR:

Br. MARITZA MARIBEL MAYTA MAMANI

PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERU

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN ISOENZIMÁTICA Y DISTRIBUCIÓN DEL NEMATODO
DEL NÓDULO DE LA RAÍZ (*Meloidogyne* spp.) EN EL CULTIVO DE CAFÉ
(*Coffea arábica* L.) EN SAN JUAN DEL ORO-SANDIA, PUNO.

TESIS
PRESENTADA POR:

Br. MARITZA MARIBEL MAYTA MAMANI

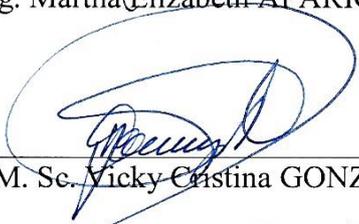
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE : 
Mg. Martha Elizabeth APARICIO SAAVEDRA

PRIMER MIEMBRO : 
M. Sc. Vicky Cristina GONZALES ALCOS

SEGUNDO MIEMBRO : 
D. Sc. Rosario Edely ORTEGA BARRIGA

DIRECTOR DE TESIS : 
M. Sc. Alfredo Ludwig LOZA DEL CARPIO

ASESOR DE TESIS : 
Ph. D. Israel LIMA MEDINA

AREA : Ciencias Biomédicas
SUBLINEA : Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales
TEMA : Recursos Naturales y Manejo Ecológico de Plagas: Entomología

Fecha de Sustentación: 10 de noviembre del 2017.

DEDICATORIA

DIOS que bueno eres, porque en las dificultades y en mi soledad humana tú estás conmigo me tomas en tus brazos y me das nuevas fuerzas, sabiduría, y salud. A ti, mi amado JESUS; Dios de los dioses y Señor de señores. Gracias por permitirme conocer y llegar a quienes tú quisiste, enseñarme en mí día a día.

A mis padres Gumercindo y Valeria por darme la vida y mucho más, apoyarme en mis estudios, y por cada una de sus palabras.

*A mis queridos hermanos Luis, Edin, Milagros y mi chiquitín Cristian
Por ser parte de mi vida.*

*A todas las amistades que me acompañaron durante esta travesía
Y aun a los que conocí dentro de ella.*

¡QUE EL SEÑOR LOS BENDIGA!

AGRADECIMIENTOS

A:

DIOS POR SU BENDICION DIARIA EN CADA MOMENTO DE MI VIDA. YA QUE; Todas las cosas por él fueron hechas, y sin él nada de lo que ha sido hecho, fue hecho (S. JUAN 1:3).

La Universidad Nacional del Altiplano Puno por la formación integral a lo largo de toda mi formación profesional, y a mis queridos docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por todos sus conocimientos impartidos y por cada experiencia compartida.

INNOVATE – PERU (Ministerio de la Producción) por el apoyo financiero mediante el proyecto: “Diversidad biológica de poblaciones peruanas de Meloidogyne spp.: descripción y caracterización de especies a través del uso de isoenzimas y marcadores moleculares” correspondiente al convenio 346 PNICP-BRI-2015

Al Proyecto Café de la Municipalidad Distrital de San Juan del Oro por el apoyo económico.

Ing. Henry Joel Santisteban Santamaría, jefe del Proyecto Café del Distrito de San Juan del Oro por el apoyo técnico, logístico.

Ing. Juan Edgar Huanca Yujra, jefe de sanidad vegetal de SENASA PUNO por todo el apoyo brindado.

Ing. Joel Henry Mamani, especialista de SENASA PUNO por su incondicional apoyo

Roger, Jaén, Emilio, Lizbeth, Cesar, Raúl, David, Leónidas, Grover, Mario, Franklin, José, extensionistas del proyecto café por su amistad, comprensión, experiencias y conocimientos compartidos, apoyo en las encuestas y colecta de muestras.

Cada uno de los productores del distrito de San Juan del Oro por su grato recibimiento y permitirme entrar en sus chacras de cafeto para la extracción de muestras.

Ing. Rosario Bravo Portocarrero por los consejos y exigencia durante la ejecución de la presente investigación.

Ph. D. Israel lima medina, por su asesoría y apoyo para la culminación de la presente investigación.

Mis compañeros: Yaneth, Shadam, Karen, Yeni, Noemí, Ángel, Aníbal, Roger, Cielo, Rafael.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN -----	11
ABSTRACT -----	12
I. INTRODUCCIÓN -----	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA -----	15
2.1. CULTIVO DE CAFÉ-----	15
2.2. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA DEL CAFETO-----	15
2.3. PRINCIPALES PAÍSES PRODUCTORES DE CAFÉ-----	16
2.4. PRINCIPALES REGIONES PRODUCTORAS DE CAFÉ EN EL PERÚ-----	16
2.5. VARIEDADES DE CAFÉ-----	17
2.5.1. Variedad typica-----	17
2.5.2. Variedad Caturra-----	18
2.5.3. Variedad Catimor-----	18
2.6. PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL CAFETO-----	18
2.6.1. Broca del café-----	18
2.6.2. Minador del café-----	19
2.6.3. Roya del café-----	19
2.6.4. Ojo de gallo-----	19
2.6.5. Nemátodo del café-----	20
2.7. NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS-----	20
2.8. FORMAS DE PARASITISMO-----	20
2.8.1. Nemátodos fitoparásitos del sistema radicular-----	21
2.9. GÉNEROS DE NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS-----	23
2.9.1. Género <i>Meloidogyne</i> spp. (Goeldi, 1987)-----	23
2.9.2. Género <i>Pratylenchus</i> spp. (Zimmermann, 1898)-----	24
2.9.3. Género <i>Helicotylenchus</i> spp. (Steiner 1945)-----	24
2.9.4. Género <i>Mesocriconema</i> spp. (Hafmanner y Menzel, 1914)-----	24
2.9.5. Género <i>Xiphinema</i> spp. (Coob, 1913)-----	25
2.9.6. Género <i>Dorilaymus</i> spp. (Dujardin, 1845)-----	25
2.9.7. Nemátodos de vida libre-----	25
2.10. HISTORIA DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> -----	25
2.11. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> -----	26
2.12. BIOLOGÍA DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> SPP.-----	26
2.12.1. Ciclo biológico de <i>Meloidogyne</i> spp.-----	26
2.13. TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> -----	27
2.13.1. Identificación morfológica y morfométrica-----	27
2.13.2. Identificación morfológica por medio del patrón perineal-----	28
2.13.3. Identificación electroforética por medio del Análisis Isoenzimatico-----	30
2.14. DAÑOS CAUSADOS EN LA PLANTA POR EL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> -----	31
2.15. SÍNTOMAS EN LA PLANTA CAUSADOS POR EL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> -----	32
2.16. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN-----	32

III. MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1. LUGAR DE ESTUDIO	36
3.2. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	37
3.2.1. Fase de campo	37
a) Identificación de la presencia y sintomatología de <i>Meloidogyne</i> a través de encuestas- diagnostico	37
b) Muestreo de suelos y raíces	37
3.2.2. Fase de laboratorio	38
b) Extracción y montaje de hembras de <i>Meloidogyne</i> del cultivo de café para la identificación de la especie del género <i>Meloidogyne</i> por medio del patrón perineal.	40
c) Análisis electroforético de isoenzimas en hembras de <i>Meloidogyne</i> del cultivo de café para la identificación de la especie del género <i>Meloidogyne</i>	41
d) Metodología para determinar la distribución del género <i>Meloidogyne</i> sp. por altitud y textura de suelo.	44
f) Condiciones Meteorológicas del ámbito de investigación	45
 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. IDENTIFICACIÓN DE SECTORES CON PRESENCIA DE NEMÁTODOS EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO, MEDIANTE ENCUESTAS-DIAGNOSTICO.	46
4.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES GÉNEROS DE NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS PRESENTES EN CULTIVO DE CAFÉ DEL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.	48
4.2.1. Características morfológicas y morfométrica del género <i>Meloidogyne</i>	48
4.2.2. Descripción morfológica y morfométrica del género <i>Pratylenchus</i>	50
4.2.3. Características morfológicas y morfométrica del género <i>Helicotylenchus</i>	51
4.2.4. Descripción morfológica y morfométrica del género <i>Mesocriconema</i>	52
4.2.5. Descripción morfológica y morfométrica del género <i>Xiphinema</i>	53
4.2.6. Descripción morfológica y morfométrica del género <i>Dorilaymus</i>	54
4.2.7. Descripción de nemátodos de vida libre	55
4.3 IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> POR MEDIO DEL PATRÓN PERINEAL ---	55
4.3.1. Identificación de la especie del género <i>Meloidogyne</i> por medio del análisis de isoenzimas de hembras de <i>Meloidogyne</i> del cultivo de café.	57
4.4. DENSIDAD POBLACIONAL DE NEMÁTODOS EN SUELOS DEL CULTIVO DE CAFÉ	59
4.5. DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LAS POBLACIONES DEL GÉNERO <i>MELOIDOGYNE</i> EN EL CULTIVO DE CAFÉ EN SAN JUAN DEL ORO, POR LA ALTITUD Y TIPO DE SUELO.	61
4.5.1. Distribución según altitud	62
a) Análisis de regresión lineal entre altitud y densidad de <i>Meloidogyne</i>	63
4.5.2. Distribución según textura de suelo	63
4.5.3. Comparación entre las densidades de <i>Meloidogyne</i> sp según sectores	64
4.5.4. Mapa geográfico de distribución del género <i>Meloidogyne</i>	66
4.5.5. Mapa geográfico de distribución de los géneros identificados en el cultivo de café de San Juan del Oro	67
 CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS	70
ANEXOS	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ectoparásitos a) <i>Aulosphora</i> en raíz de Maíz b) <i>Tylenchorhynchus</i> alimentándose de la punta de la raíz. Fuente: (Coyne <i>et al.</i> 2007).-----	21
Figura 2. Endoparásitos a y b) <i>Meloidogyne</i> spp embebido en raíz de calabaza y batata c) <i>Heterodera</i> spp. rompiendo el tejido cortical. Fuente: (Coyne <i>et al.</i> 2007).-----	22
Figura 3. Endoparásitos migratorios a) <i>Escutellonema bradys</i> b) <i>Hirschmanniella</i> en arroz. Fuente: (Coyne <i>et al.</i> 2007).-----	22
Figura 4. Semiendoparasito sedentario (<i>Rotylenchulus</i> spp) con la parte anterior dentro del tejido radical. Fuente: (Coyne <i>et al.</i> 2007).-----	23
Figura 5. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> spp. desarrollo de los diferentes estadios en raíz de maíz. Fuente: (Coyne <i>et al.</i> , 2007).-----	27
Figura 6. Caracterización de la hembra de <i>Meloidogyne</i> incognita a) longitud de cuerpo de la hembra b) región anterior de la hembra c) patrón perineal Fuente: (Kaur <i>et al.</i> , 2016).-----	28
Figura 7. <i>Meloidogyne exigua</i> . A-E: Parte anterior del macho, cabeza, parte posterior, estilete y campo lateral, respectivamente. F, G: Parte anterior de la hembra y forma del cuerpo. H, I: Parte anterior y posterior de la larva J: Huevo. K-M: Patrones perineales. Fuente: (Lordello y Zamnith, 1958).-----	28
Figura 8. Técnica de preparación del patrón perineal. Procedimiento de extracción y disección del corte perineal de hembras de <i>Meloidogyne</i> . Para su identificación. Fuente: (Shurtleff y Averre, 2000).-----	29
Figura 9. Estructura morfológica básica del patrón perineal de la hembra de <i>Meloidogyne</i> spp. Fuente: (Vergel <i>et al.</i> , 2000).-----	30
Figura 10. Fenotipo esterese de poblaciones de <i>Meloidogyne</i> spp, parásitos del café. Rm= proporción de migración en relación a la banda de <i>M. javanica</i> (J3). Fuente: Carneiro y Cofcewicz, (2008)-----	31
Figura 11. Síntomas de agallas en raíces ocasionadas por <i>Meloidogyne</i> spp. a, b y c) síntomas ocasionados en raíces de café d y e) raíz de zapallo f) raíz de zanahoria.-----	32
Figura 12. Mapa de ubicación del distrito de San Juan del Oro, Sectores de muestreo, 2016.-----	36
Figura 13. Colección de muestras en el distrito de San Juan del Oro a) recojo de suelos, setiembre del 2016 b) recojo de raíces del cafeto, octubre del 2016.-----	38
Figura 14. Procedimiento para la extracción de nemátodos de muestras del suelo, a) vertimiento de la muestra en los tamices, b) recojo de la muestra del tamiz 400 Mesh, c) adición de caolín, d) centrifugación, e) adición de sacarosa, f) muestras para su observación al estereoscopio. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, UNAP, octubre del 2016.-----	40
Figura 15. Extracción y montaje del patrón perineal de hembras de <i>Meloidogyne</i> sp. para su identificación morfológica. a) Extracción de la hembra madura b) hembra con conteniendo de ácido láctico c y d) Corte a nivel de cabeza del espécimen hembra y eliminación del material contenido dentro del cuerpo, e y f) Ubicación de la región perineal en la parte posterior de la hembra y corte en forma rectangular del perineo con la vulva en el centro. Fuente: (Vera, 2014).-----	41
Figura 16. Procedimiento de la extracción de hembras para el análisis de isoenzimas a) raíces con nódulos, b) hembras adultas de <i>Meloidogyne</i> dentro de la raíz de café, c)	

extracción de las hembras a través del estereoscopio, d) hembras en solución sacarosa. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.-----	42
Figura 17. Procedimiento para el análisis de isoenzimas a) cuba con una fuente de 80 volt, 35 Am b) retiro del papel filtro c) retiro del gel de la placa d) adición del tampón esterase e) proceso de revelación dentro de la estufa f) gel con bandas reveladas. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.-----	43
Figura 18. Resultados de la aplicación de encuestas-diagnóstico de la presencia de <i>Meloidogyne</i> spp en el distrito de San Juan del Oro.-----	47
Figura 19. Biometría del género <i>Meloidogyne</i> J2, a) largo del cuerpo b) largo del estilete laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	49
Figura 20. Biometría de la hembra adulta de <i>Meloidogyne exigua</i> a) Longitud y diámetro de la hembra b) hembra dentro de la raíz del cafeto. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, diciembre del 2016.-----	50
Figura 21. Biometría del género <i>Pratylenchus</i> , a) longitud del cuerpo b) longitud del estilete. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	51
Figura 22. Biometría del género <i>Helicotylenchus</i> a) longitud de cuerpo b) forma de la cabeza y tamaño del estilete c) forma de la cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	52
Figura 23. Biometría del género <i>Mesocriconema</i> a) longitud de cuerpo b) tamaño de estilete c) cola y vulva. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	53
Figura 24. Biometría del género <i>Xiphinema</i> a) longitud de cuerpo b) forma de la cabeza y tamaño de estilete c) forma de la cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	54
Figura 25. Biometría del género <i>Dorilaymus</i> a) parte anterior del nemátodo b) tamaño de estilete. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	54
Figura 26. Formas de nemátodos de vida libre, forma de la cabeza y cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.-----	55
Figura 27. Patrón perineal de <i>Meloidogyne exigua</i> . a) esterase E1 b) esterase E2; M y K comparación de esquemas para la identificación del patrón perineal de <i>M. exigua</i> . Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, enero del 2017.-----	56
Figura 28. Bandas fenotipo de <i>M. exigua</i> E1, de isoenzimas en gel de poliacrilamida. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.-----	57
Figura 29. Bandas fenotipo de <i>M. exigua</i> E2, de isoenzimas en gel de poliacrilamida. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.-----	58
Figura 30. Distribución geográfica del género <i>Meloidogyne</i> en el distrito de San Juan del Oro.-----	66
Figura 31. Mapa de distribución de los géneros de nemátodos identificados en el distrito de San Juan del oro-----	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales países productores de café a nivel mundial para el año 2015	16
Tabla 2. Principales Regiones productoras de café en el Perú para el 2016	17
Tabla 3. Sectores de muestreo del distrito de San Juan del oro por rangos altitudinales en 15 sectores de muestreo y 45 parcelas.	44
Tabla 4. Factores climatológicos del Distrito de San Juan del Oro en los meses de muestreo del 2016.	45
Tabla 5. Movimiento relativo del fenotipo esterase (E1), Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.	57
Tabla 6. Movimiento relativo del fenotipo esterase (E2), Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.	58
Tabla 7. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de siete géneros de nemátodos encontrados en los 15 sectores muestreados del distrito de San Juan del Oro (n = 45).	60
Tabla 8. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de <i>Meloidogyne</i> sp en 15 sectores del distrito de San Juan del Oro.....	62
Tabla 9. Análisis de varianza para la distribución de <i>Meloidogyne</i> con la altitud y la textura de suelo.	62
Tabla 10. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de <i>Meloidogyne</i> sp Por diferentes rangos altitudinales (n=45)	63
Tabla 11. Modelo del análisis de regresión lineal entre altitud y densidad de <i>Meloidogyne</i> ($p < 0.05$).	63
Tabla 12. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de <i>Meloidogyne</i> sp Por texturas de suelo (n=45).....	64
Tabla 13. Análisis de varianza de la densidad poblacional de <i>Meloidogyne</i> por sectores.....	65
Tabla 14. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de <i>Meloidogyne</i> sp en 15 sectores del distrito de San Juan del Oro. Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas a la Prueba de Tuckey.....	65

INDICE DE ACRÓNIMOS

ANVA: Análisis de Varianza

DBCA: Diseño de Bloques Completamente al Azar

DDM: Densidad Dañina Mínima

J2: Juvenil estadio dos

J3: *Meloidogyne javanica* (fenotipo esterase tres)

UNAP: Universidad Nacional del Altiplano Puno

µm: micrómetros

RESUMEN

El género *Meloidogyne* agrupa una diversidad de nemátodos fitoparásitos causantes de agallas radiculares, ocasionando grandes pérdidas en la producción de una diversidad de cultivos agrícolas a nivel mundial. En el distrito de San Juan del Oro-Sandia se tenía indicios de la presencia de este género en el cultivo de café; sin embargo, no se conocía las especies ni la distribución del género *Meloidogyne*. El estudio se realizó en setiembre del 2016 a febrero del 2017; con los siguientes objetivos: caracterizar morfológica e isoenzimáticamente las especies de *Meloidogyne* presentes en las raíces de plantaciones de cafetos del distrito de San Juan del Oro y verificar su distribución. Para este fin se realizaron encuestas a 427 productores de café, beneficiarios del Proyecto Café, Posteriormente se seleccionaron 15 sectores en rangos de altitud desde 1100 a 1900 msnm, tomando tres parcelas por sector para realizar el muestreo de suelos y raíces de cafetos en fase fenológica entre descanso y floración. Las muestras de suelo fueron procesadas con la metodología de centrifugación con solución sacarosa para la determinación de los diferentes géneros de nemátodos mediante el análisis morfológico y morfométrico. Así mismo se extrajeron hembras de los nódulos de las raíces para la identificación de la especie del género *Meloidogyne* a través del análisis electroforético de isoenzimas. Adicionalmente se determinó la distribución de *Meloidogyne* respecto a la textura de suelo y la altitud mediante un análisis de varianza. Se identificaron seis géneros de nemátodos fitoparásitos: *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Dorilaymus*; además de nemátodos de vida libre. Analizadas isoenzimáticamente las hembras de *Meloidogyne*, la especie identificada fue *Meloidogyne exigua* (Esterase E1); (Esterase E2). Se determinó que la textura de suelo franco arenoso influye en la densidad de *Meloidogyne* ($P > 0,0001$); en cambio no se encontró relación significativa con la altitud ($P > 0.707$).

Palabras Clave: *Meloidogyne* spp, morfométrica, análisis electroforético, distribución espacial.

ABSTRACT

The kind *Meloidogyne* groups a diversity of nematodes causing phytoparasites of radicular guts, causing magnus losses in the production of a diversity of agricultural worldwide cultivations. In the district of San Juan of the Oro Sandia he has indications of the presence of this kind in the cultivation of coffee; However, species neither the distribution of the kind do not know *Meloidogyne* that meets causing losses and quality in their production themselves. For such present reason investigation came true in the months of September from 2016 to February of 2017; With the following objectives: Characterizing morphometric and isoenzimatica present the species of *Meloidogyne* in the roots of plantations of coffee trees of the district of San Juan of Gold and verifying his Distribution. With this aim opinion polls to 427 producers of coffee came true. At a later time three plots of land for sector to accomplish the sampling of grounds and coffee tree roots in phonological phase between rest and flowering selected to 1900 msnm, Tomando 15 sectors in status of altitude since 1100. The samples of ground were processed with the methodology of spin-drying with solution sucrose for the determination of the different kinds of nematodes intervening the morphologic and morphometric analysis. Likewise the females of the nodules of the roots for the identification of the species of the kind extracted *Meloidogyne* through the electrophoretic analysis of isoenzymes themselves. Additionally an analysis of variance determined *Meloidogyne's* distribution in relation to the texture of ground and the intervening altitude itself. Phytoparasites authenticated six kinds of nematodes themselves: *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Dorilaymus*; In addition to nematodes of free life. Analyzed isoenzimatica *Meloidogyne's* females, the identified species was *Meloidogyne exiguous* (Mat E1); (Mat E2). It was determined that the texture of sandy loam soil influences the density of *Meloidogyne* (P 0.0001); On the other hand the significant acquaintance did not come up against the altitude (P 0,707). Coffee growers require training in relation to the symptomatology and damages that roundworms cause.

Key Words: *Meloidogyne* spp, morphometric, electrophoretic analysis, spatial distribution.

I. INTRODUCCIÓN

El café es considerado el segundo valor más importante después del petróleo, en el mundo debido a que constituye la base económica de varios países productores, por ser una de sus principales fuentes de divisas, tiene gran importancia económica y social, debido a que sustenta a 223 mil familias de pequeños productores así mismo, el Perú ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en la producción de café con 264, 605 toneladas anuales, sin embargo acredita uno de los menores índices de productividad a nivel de Sudamérica.

Actualmente en el Perú no se tiene conocimiento de las especies de *Meloidogyne* presentes en los diferentes cultivos y mucho menos existen registros de la identificación isoenzimática de las especies de este género en el cultivo de café de la selva puneña, pese a que este es considerado el mejor café de altura siendo un producto de exportación a países como Estados Unidos, Italia, Alemania y Francia.

El departamento de Puno tiene el 1,2 % de la producción con 20,019 toneladas registradas para marzo del 2017 (INEI, 2017) ocupando el octavo lugar en la producción de café de todos los departamentos del Perú; sin embargo, la producción es muy inferior comparada con otros departamentos como San Martín, Junín, Cajamarca que alcanzan el 84% de la producción total con 220 mil toneladas; cabe resaltar que la región de Puno realiza una producción orgánica en un 70%.

El género *Meloidogyne* es uno de los nemátodos fitoparásitos más importantes de diversos tipos de plantas por la diversidad de las especies y el alto rango de hospederos que posee este género, adaptados a diferentes climas lo que permite su distribución en todo el mundo; además de su alta capacidad reproductiva y su parasitismo lo que crea la necesidad de generar información de identificar las especies que atacan el cultivo de café en determinadas zonas para precisar su importancia y el grado de daño que causa, así definir medidas de control de esta plaga y mejorar la producción del café de la selva de Puno.

A pesar de que se tiene indicios de la presencia del nemátodo en el distrito de San Juan del Oro, esto porque los extensionistas mencionan que se han observado nodulaciones en las raíces de los cafetos; no se ha realizado estudios sobre la identificación de los géneros ni especies de fitoparásitos del cultivo de café en este distrito.

En tal sentido en el presente estudio se realizó 427 encuestas con el fin de obtener antecedentes de la presencia de nemátodos y el diagnóstico del conocimiento que tienen los agricultores sobre el problema de esta plaga, así mismo, la caracterización morfológica como bioquímica a través de la enzima esterasa para la identificación del género *Meloidogyne*, pues el estudio de la morfología y anatomía no ha sido suficiente para proporcionar una descripción objetiva que identifique con certeza a cada una de las especies del género *Meloidogyne*, además se determinó la distribución de las poblaciones de esta plaga en los diferentes sectores del distrito de San Juan del Oro.

Teniendo como objetivos:

- a) Identificar sectores con presencia de nemátodos en cultivo de café del distrito de San Juan del Oro-Sandia, Puno. Mediante encuestas-diagnóstico.
- b) Identificar los principales géneros de nemátodos fitoparásitos presentes en cultivo de café del distrito de San Juan del Oro-Sandia, Puno.
- c) Identificar las principales especies del género *Meloidogyne* mediante el análisis isoenzimática en cultivo de café del distrito de San Juan del Oro-Sandia, Puno.
- d) Determinar la distribución del género *Meloidogyne* en cultivo de café del distrito de San Juan del Oro-Sandia, Puno, por altitud y tipo de suelo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cultivo de Café

El café, cuyo origen se remonta a la antigua Etiopía, probablemente en la provincia de Kaffa, es una bebida muy popular a nivel mundial, por ejemplo, los países con gran “cultura cafetalera” son: España, Estados Unidos, Italia, Alemania. (Proyecto café, 2015), un cultivo cuyo hábitat tradicional es la ceja de selva, se desarrolla entre los 500 y 1700 msnm, con una temperatura promedio favorable que oscila entre los 17 a 23 ° C, con humedad relativa promedio de 50 a 70 % y precipitaciones de 1000 a 3000 mm anuales (CICAPE, 2011).

2.2. Clasificación Sistemática del Cafeto

Reino: Plantae, Linnaeus, (1735)
 Tipo: Espermatofitas, Scopoli, (1735)
 Sub-tipo: Angiospermas, Linnaeus, (1735)
 Clase: Dicotiledóneas, Jussieu, (1773)
 Sub-clase: Gamopétalas, Scopoli, (1735)
 Orden: Rubiales, Jussieu, (1773)
 Familia: Rubiáceas, Jussieu, (1773)
 Género: Coffea, Linnaeus, (1735)
 Especies: *Arábica*, *canéphora*, *liberica*

La planta de café es una dicotiledónea, arbusto perenne que alcanzan hasta 10 m de altura de manera silvestre y en plantaciones controladas varia de 3 a 5 m dependiendo de la variedad; donde las ramas primarias se oponen, en sentido horizontal o caídos y las hojas crecen en pares, las primeras flores aparecen entre los 3 y 4 años de edad de color blanca, aparecen en las axilas de las hojas y cada flor formara un grano de café (Temis *et al.*, 2011) dentro del género *Coffea*, existen más de 30 especies, todas ellas indígenas de Etiopia y de ciertas islas del Océano Indico, entre ellas, las más importantes con las que se elaboran la mayor parte de los cafés comerciales son: los cafés arábigos (*Coffea arábica*), Robusta (*Coffea canephora*) (Pierre Ex Frohenner, 1898) y (*Coffea liberica*) (Bull Ex – Hiern, 1881) las primeras son las dos principales especies de café que se producen, comercializan y cotizan en los diferentes mercados internacionales (Proyecto café, 2015). Por sus diferencias botánicas, como su procedencia geográfica, hacen que el café obtenido de cada una de ellas presente matices organolépticos distintos (Figuroa, 1990).

2.3. Principales países productores de café

Las principales zonas productoras de café se distribuyen en Centroamérica y Sudamérica, África, Asia y Oceanía (Tabla 1); Destacando en América del Sur, Brasil, Colombia y Perú, y en Centroamérica, México, Guatemala, y Honduras (Proyecto Café, 2015) de los cuales Brasil (30,16%) y Vietnam (19,18%), tienen el 50% de la producción mundial seguido de Colombia (9,42%), Indonesia (7,67%) y Etiopia (4,46%). El Perú ocupa el puesto 11 con (2,23%) de la producción a nivel mundial (INFOCAFE, 2015).

Tabla 1. Principales países productores de café a nivel mundial para el año 2015

PUESTO	PAIS	PRODUCCION (en miles Kg)	% DE PRODUCCION MUNDIAL
1	Brasil	2.594.100	30,16
2	Vietnam	1.650.000	19,18
3	Colombia	810.000	9,42
4	Indonesia	660.000	7,67
5	Etiopia	384.000	4,46
6	India	350.000	4,07
7	Honduras	345.000	4,01
8	Uganda	285.000	3,32
9	Mexico	234.000	2,72
10	Guatemala	204.000	2,37
11	Perú	192.000	2,23
12	Nicaragua	130.000	1,52
13	Costa de Marfil	108.000	1,26
14	Costa Rica	89.520	1,04
15	Kenia	50.000	0,58
16	Tanzania	48.000	0,56
17	Nueva Guinea	48.000	0,56

Fuente: International Coffee Organization. INFOCAFE, 2015

2.4. Principales regiones productoras de café en el Perú

En el Perú son 210 distritos rurales ubicados en 47 Provincias y 13 Regiones los responsables de la producción total de café (Tabla 2), de las 13 Regiones son 5 las que concentran el 86% del área cultivada: Junín (25,4%), San Martín (22%), Cajamarca (17,2%), Cusco (12,3%) y Amazonas (10%) (JNC, 2016), no en tanto según el (MINAGRI, 2016), Fue la región de San Martín quien obtuvo la mayor producción para agosto del 2016 con 97, 9 toneladas, seguido de Cajamarca con 42,9 toneladas, ubicando a Puno en el séptimo lugar de producción a nivel de regiones del Perú.

Tabla 2. Principales Regiones productoras de café en el Perú para el 2016

PUESTO	DEPARTAMENTO	SUPERFICIE	% DE PRODUCCIÓN
1	Junín	107,903.85	25.4
2	San Martín	93,687.77	22.0
3	Cajamarca	73,098.11	17.2
4	Cusco	52,222.57	12.3
5	Amazonas	42,744.24	10.0
6	Huánuco	16,819.22	4.0
7	Pasco	11,429.03	2.7
8	Ayacucho	8,782.08	2.1
9	Puno	8,213.07	1.9
10	Piura	4,678.19	1.1
11	Ucayali	2,026.43	0.5
12	Loreto	1,591.25	0.4
13	Lambayeque	1,588.02	0.4
	Total	425,416.00	100

Fuente: Junta Nacional del Café, 2016

2.5. Variedades de café

A nivel mundial existen dos variedades *C. arábica* y *C. canephora*, donde la primera crece en altitudes superiores a 900 msnm, ocupando las tres cuartas partes de la producción mundial de café (Ciriaco, 2012), con mucho, es la especie dominante en Perú, la única especie comercial pues es considerada para producir la más alta calidad de la bebida; esta especie se compone de muchas variedades (WCR, 2016), algunas de las variedades más cultivadas de café *arábica* en la región de Puno son las siguientes:

2.5.1. Variedad typica

Figuroa, (1990), reporta el cultivar *typica* como el primero en distribuirse en el Perú, estableciéndose en el valle de Chanchamayo el primer centro de producción a escala comercial en el año 1876. Esta variedad es la base de muchas variedades de café que se han desarrollado a partir de ella, las plantas de café *Typica* tienen una forma cónica con un tronco vertical y ramas verticales secundarios que crecen con una ligera inclinación. En tanto Vergara, (2012) menciona que la variedad *Typica* es una planta que llega a 3,5-4 m de altura; sin embargo, tiene una producción muy baja, pero una calidad excelente; los frutos a la madurez adquieren el color rojo vinoso.

2.5.2. Variedad Caturra

Posiblemente originada como una mutación de un gen de la variedad Bourbon descubierta en Minas Gerais Brasil, con una alta producción y buena calidad, pero que requiere de una amplia atención y fertilización, sistema radicular de mayor extensión y densidad (CICAFAE, 2011); la planta es más baja, con un tronco grueso y muchas ramas secundarias. Tiene hojas grandes y anchas de color verde oscuro similar al Bourbon. Se adapta bien a casi todo ambiente, pero mejor entre los 500 y 1700 metros con precipitaciones anuales entre 2500- 3500 mm (Vergara, 2012), A mayor altitud amplía la calidad, pero disminuye la producción. Por su porte permite una alta densidad de siembra; sin embargo, es altamente susceptible a la roya del cafeto limitando la producción y la calidad del café (CENICAFAE, 2005).

2.5.3. Variedad Catimor

Es un cruce entre Timor (híbrido de robusta y caturra roja de arábica muy resistente a la oxidación) identificada entre 1917 en la isla de Timor Oriental (Océano Indico) (ANACAFAE, 2013) Relativamente pequeños en estatura, tienen grandes frutos y semillas de café, 16 es el número de ramas laterales, formando una copa medianamente vigorosa y compacta, se adapta bien a regiones más bajas, pero a una altura mayor tiene una mejor calidad de taza. Además, muestra un comportamiento favorable con respecto a la enfermedad de la roya que prolifera en la caficultura peruana (Vergara, 2012).

2.6. Plagas y enfermedades del cafeto

2.6.1. Broca del café

El daño es causado por el insecto *Hypothenemus hampei* (Ferrer) que pertenece a la familia curculionide, orden coleóptera. Plaga propia del café. Entra agujereando los frutos por la cicatriz de la corola (frutos preferentemente maduros), ya dentro pone huevos, que eclosionan y continúan con su ciclo. Las hembras, después de fecundadas, son las que abandonan el fruto plagado (caminando y volando) (Lizárraga, 2012). Plaga de difícil control debido a su permanencia dentro de los granos del café, ocasionando pérdidas económicas y la disminución de la calidad del grano (COMUNICAFAE, 2011); también es capaz de atacar en almacén cuando existe alta proporción de humedad, además origina la caída de granos verdes picados y la destrucción de granos maduros (CEPICAFE, 2008).

2.6.2. Minador del café

El daño es causado por la polilla *Perileucoptera coffeella* (Green) que pertenece a la familia Lyonetidae, orden Lepidóptera, de color blanca que mide unos 2, 5 mm de largo los daños son principalmente causado por las larvas, que penetran las hojas consumiendo la parte interna de ellas sin consumir las nervaduras (Cardona, 2003), los adultos son inactivos durante el día y permanecen quietos en el envés de las hojas, ovopositan en el haz de las hojas durante la noche (Lizárraga, 2012) no en tanto las precipitaciones detienen el vuelo y disminuye el ataque (mayor infestación en temporada seca) sin embargo, les favorece el exceso de sombra; los daños ocasionados por esta plaga son minaduras en forma de ampolla que al comienzo son verde claras, pero luego se vuelven de color pardo o marrón oscuro. También reducen el área fotosintética de la hoja, Además, ante infestaciones intensas puede causar defoliación y desarrollo pobre del tallo y del sistema radicular por ende disminución del rendimiento y la calidad del grano (CEPICAFE, 2008).

2.6.3. Roya del café

La Roya tiene como agente causal al hongo *Hemileia vastatrix* (Berk. & Br) y está presente en todas las regiones del mundo donde se cultiva café (FAO, 2015), ocasionando síntomas como: manchas redondeadas, amarillo naranja, que al tocarlas desprenden un polvo color naranja, las esporas se liberan y se propagan en el aire (CEPICAFE, 2008), la sintomatología al inicio solo se muestra como manchas pequeñas que gradualmente aumentan de tamaño, causando daños como la caída prematura de las hojas y el secamiento de las ramas y por consiguiente poca producción al siguiente año, Además de la defoliación y muerte descendente ante fuertes infestaciones (FAO, 2015) esta enfermedad tiene mayor importancia en zonas cafetaleras con temperaturas cálidas, húmedas y lluviosas (Heredia, 2011).

2.6.4. Ojo de gallo

El “ojo de gallo” es una enfermedad causada por el hongo *Mycena citricolor* (Berk.) que ataca tanto a las hojas y a los frutos (Julca *et al.*, 2010), la sintomatología que origina este patógeno consiste en manchas circulares de color café a gris en las hojas y en frutos donde se puede observar una mancha redonda hundida de diferente tamaño, de color amarillo al inicio y pardo al final (CICAFE, 2011), los daños ocasionados por esta enfermedad son la defoliación y debilitamiento de la planta. Su disseminación es favorecida por el viento,

alta humedad, precipitaciones constantes; también es favorecida por el exceso de sombra siendo el ataque más severo en zonas colindantes al bosque primario (Lizárraga, 2012).

2.6.5. Nemátodo del café

Agente causal: la enfermedad es producida por nemátodos siendo el género *Meloidogyne* el más importante por su distribución, rango de hospedantes, y los daños que origina en las plantas cultivadas (Godoy *et al.*, 2002) los síntomas principales originadas por *Meloidogyne* son la presencia de agallas en las raíces, Pérdida del vigor de la planta, Muerte regresiva de la planta, Pérdida de la calidad y el rendimiento, esto hace que la planta sea más susceptible a otras enfermedades y plagas. (Coyne *et al.*, 2007) la diseminación generalmente es por movimientos de la tierra de suelo infestado a suelos sin presencia de la plaga, Por el agua que discurre con el exceso de lluvia, a partir de plantas infestadas; además los nemátodos se reproducen en el periodo lluvioso (Mateille, 1993).

2.7. Nemátodos Fitoparásitos

Los nemátodos fitoparásitos presentan forma de gusanos microscópicos no segmentados, con una longitud entre 1,1 y 3 mm y un diámetro unas 20 veces menos que su longitud, aunque algunas especies presentan dimorfismo sexual; carecen de sistema circulatorio y respiratorio, cubiertos de una cutícula hialina (Talavera, 2003) permitiéndoles la movilidad en dirección dorso ventral, Poseen un tubo digestivo compuesto esquemáticamente por esófago, intestino y ano desde la región encefálica hasta la cola (Flor, 2013).

Hembras: Las hembras presentan uno o dos ovarios, útero, vagina y vulva, en ocasiones son observables una o dos espermatecas donde se almacena el esperma

Machos: Los machos se distinguen fácilmente por la presencia de un aparato copulador en la parte posterior del cuerpo

2.8. Formas de Parasitismo

Los nemátodos parásitos de plantas han sido categorizados principalmente de acuerdo con el hábitat parasítico y la sintomatología en el sistema radicular y en el tejido aéreo.

2.8.1. Nemátodos fitoparásitos del sistema radicular

a) Ectoparásitos. Son los nemátodos que atacan por la parte exterior de los tejidos es decir se alimentan sin penetrar a las raíces solo incrustando su estilete (Gómez y Montes, 2000), por lo general, los ectoparásitos son de mayor tamaño y con estiletes más largos que los endoparásitos con el fin de penetrar el tejido de las raíces este grupo se divide en ectoparásitos migratorios y sedentarios, siendo los géneros más representativos: *Aulosphora*, *Tylenchorhynchus*, (Figura 1) *Longidorus*, *Paratrichodorus*, *Criconemella*, *Xiphinema*, *Paratylenchus*, entre otros (Guzmán *et al.*, 2012).

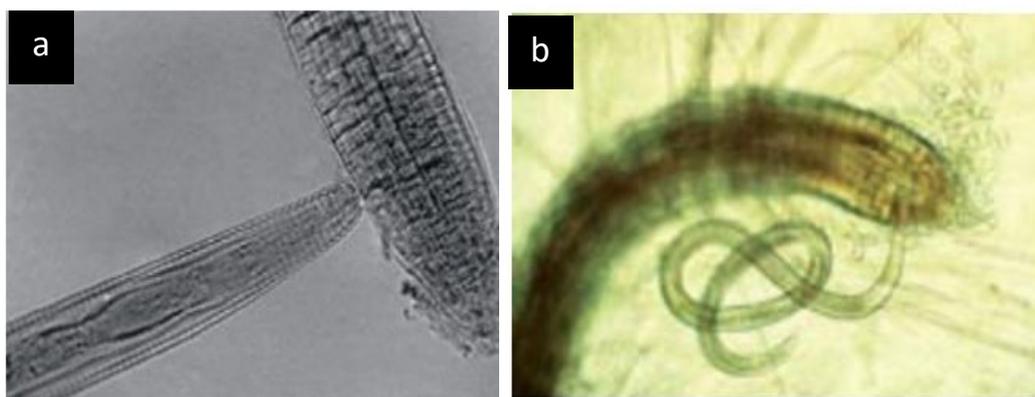


Figura 1. Ectoparásitos a) *Aulosphora* en raíz de Maíz b) *Tylenchorhynchus* alimentándose de la punta de la raíz. Fuente: (Coyne *et al.* 2007).

b) Endoparásitos. Son los nemátodos que penetran el tejido (total o parcialmente) por consiguiente, se nutren, se desarrollan al menos una fase de su vida en el interior de la planta (Figura 2) estos fitoparásitos se parten en dos grupos (Gómez y Montes, 2000), **Endoparásitos sedentarios** que se caracterizan por tener un estilete pequeño y delicado; los juveniles ingresan al tejido de la planta donde cumplen su proceso de desarrollo en un sitio de alimentación fijo e incitan la formación de un sofisticado sistema trófico llamado sincitia (células gigantes), las hembras permanecen allí durante todo su ciclo, se tornan inmóviles, adquieren una forma abultada para depositar los huevos. Los géneros más representativos de este grupo son: *Meloidogyne*, *Globodera*, *Heterodera*, *Nacobbus*, *Punctodera* y *Cactodera*, *Rotilenchulus* Coyne *et al.*, (2007).

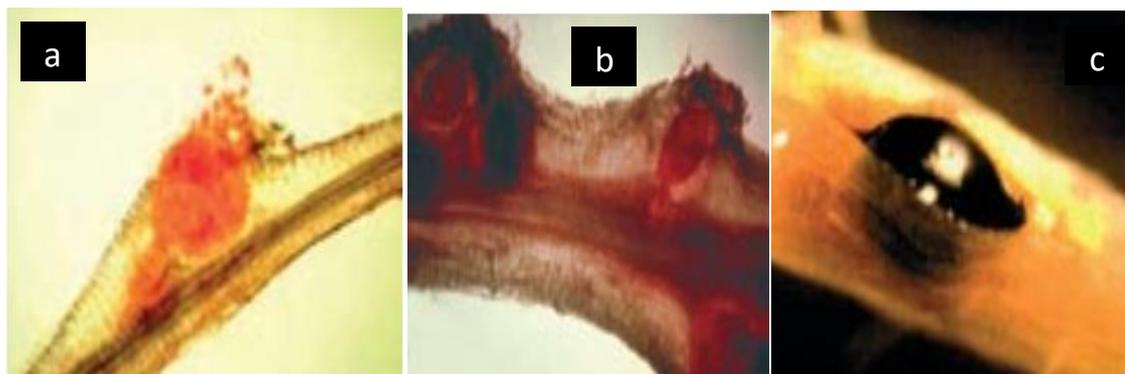


Figura 2. Endoparásitos a y b) *Meloidogyne* spp embebido en raíz de calabaza y batata c) *Heterodera* spp. rompiendo el tejido cortical. Fuente: (Coyne *et al.* 2007).

Endoparásitos migratorios son aquellos que, en cualquier período de desarrollo, excepto la fase de huevo, se baten dentro de los tejidos de la planta hospedera (Gómez y Montes, 2000) no están fijos en un sitio de alimentación, se hospedan y migran a través de los tejidos (Figura 3). No forman células modificadas de alimentación, y todas sus etapas de desarrollo son parasíticas (Godoy *et al.*, 2002) donde los géneros más representativos de este grupo son: *Pratylenchus*, *Radopholus*, *Escutellonema* y *Hirschmanniella*.

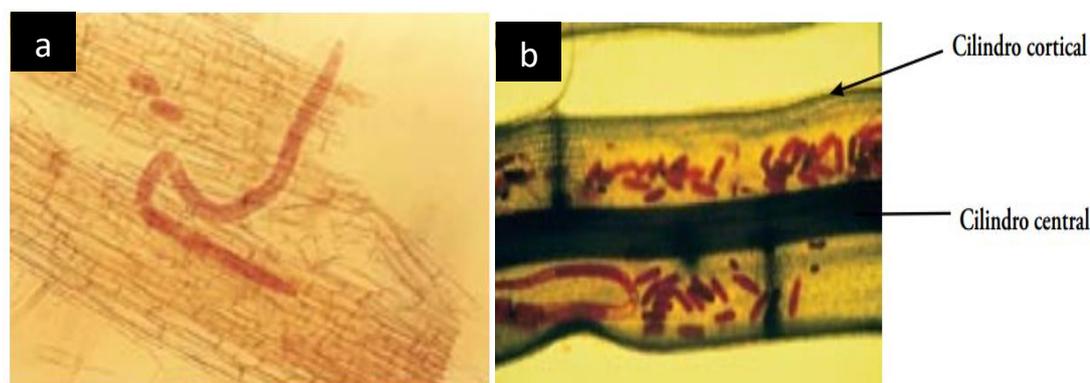


Figura 3. Endoparásitos migratorios a) *Escutellonema bradys* b) *Hirschmanniella* en arroz.
Fuente: (Coyne *et al.* 2007).

c) **Semi-endoparásitos sedentarios** se caracterizan porque las hembras se alimentan con el cuerpo parcialmente impregnado en las raíces (Figura 4), son de forma irregular abultada, poseen un saco de huevos y se nutren de células modificadas (Guzmán *et al.*, 2012), el tamaño del cuerpo y la longitud del estilete son intermedios comparados con los endoparásitos y ectoparásitos (Godoy *et al.*, 2002) Ejemplo: *Tylenchulus*, *Semipenetrans*, *Rotylenchulus* y los géneros *Sphaeronema* y *Tylenchulus*.



Figura 4. Semiendoparasito sedentario (*Rotylenchulus* spp) con la parte anterior dentro del tejido radical. Fuente: (Coyne *et al.* 2007).

d) Semi-endoparásitos migratorios se caracterizan por implantar en las raíces solo la parte anterior del cuerpo, mientras la parte posterior del nemátodo permanece en el suelo (Godoy *et al.*, 2002), conservan su aspecto vermiforme, colocan los huevos libremente en el suelo, se alimentan de células no modificadas, y todos sus estados de desarrollo son parasíticos, Ejemplo: *Helicotylenchus* y *Haplolaimus* (Guzmán *et al.*, 2012).

2.9. Géneros de Nemátodos Fitoparásitos

2.9.1. Género *Meloidogyne* spp. (Goeldi, 1987)

Meloidogyne spp., endoparásito sedentario a nivel mundial es una plaga muy importante de una amplia gama de hospedantes abarca más de 3000 especies de plantas, es una especie cosmopolita, se establece tanto en ambientes tropicales como templados y con menor reiteración en climas fríos., asociada con otros patógenos, ocasiona enfermedades complejas. Denominado “nemátodo del nódulo” o “nemátodo de la agalla” (Abad *et al.*, 2003) siendo este el género de impacto económico de los fitonemátodos. Las hembras son esféricas periformes de 0,5-0,7mm de diámetro, con una coloración característica blanca-perlada, gradualmente aumentan de tamaño y producen una matriz gelatinosa, generalmente se reproducen por partenogénesis y algunas especies por anfimixia, las hembras requieren aproximadamente tres semanas para producir los huevos y completar el ciclo; los machos generalmente ausentes son vermiformes de 1-2 mm de largo, con cola corta, fecundan la hembra y abandonan la raíz presentan un estilete fino (estomatostilio) mas no se alimentan por lo que presentan un esófago poco desarrollado, estado infectivo juvenil 2 (J2) (Lima y Casa, 2016).

2.9.2. Género *Pratylenchus* spp. (Zimmermann, 1898)

Los nemátodos de la lesión de raíz (*Pratylenchus* spp.) está entre lo más común y dañino para café (*Coffea* sp.) El género *Pratylenchus* está implícito de 97 especie válida de distribución mundial es el segundo género de importancia económica, que parasita una extensa variedad de especie de plantas. Provocan lesiones en las raíces del alimentador y ocasionalmente en algunas partes subterráneas de la planta como resultado de su alimentación. Son a veces llamados nemátodos del prado (Handoo *et al.*, 2006), son de forma vermiforme, posee un estilete de 15-20 μm (vigorosamente esclerotizado), hembras mono délficas, machos monorquios, reproducción anfimítica (especies donde ocurren machos), reproducción partenogenética (Lima y Casa, 2016). Las principales especies son *P. penetrans*, *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. pratensis*, *P. zaeae*, *P. teres*, *P. goodeyi*, *P. thornei*, Siendo un grupo importante de endoparásitos migratorios, daña seriamente muchas plantas de importancia económicas como el café (Ravichandra, 2014).

2.9.3. Género *Helicotylenchus* spp. (Steiner 1945)

De Ley y Blaxter, (2004), clasifican al género *Helicotylenchus* dentro de la familia Hoplolaimidae. Tienen forma de espiral, es un ectoparásito o Semi-endoparásito que ataca las raíces de muchas plantas; estos se alojan parcial o totalmente en las raíces donde se alimentan de una sola célula por varios días provocando contusiones corticales en las raíces (Flores, 2017), su distribución es a nivel mundial, endoparásito en raíces de varios cultivos, vid., banano, maíz, ornamentos, cultivos de plantación, árboles frutales. Son también ectoparásitos de varias raíces de la planta, que implantan sus estiletes en la epidermis de la raíz. Algunas especies viven la mitad escondidas en el tejido fino de la raíz, mientras otros penetran al interior de la raíz. Las especies más dañina son *H. multicinctus*, aparte de *H. mucronatus*, *H. dihystra*, *H. pseudorobustus*, y *H. vulgaris* (Ravichandra, 2014).

2.9.4. Género *Mesocriconema* spp. (Hafmanner y Menzel, 1914)

El género *Mesocriconema* se clasifica dentro de la familia Pratylenchidae, nemátodo ectoparásito migrador, corto y robusto; con una longitud de 0,2 a 1 mm, lo más característico de este género son los anillos de su cuerpo denominado por ello el “nemátodo anillado” (De Ley y Blaxter, 2004), las hembras presentan vulva posterior al cuerpo, reproducción por anfimixia y partenogénesis, son polífagos con un esófago tipo Criconemoides, tienen un estilete fuerte raramente fino (estomatostilio), ciclo de vida de

4 a 8 semanas (24°C 30 días) son poco móviles en el suelo se alimenta en la punta de las raíces o incluso en raíces maduras y su patogenicidad actualmente es muy poco estudiada (Lima y Casa, 2016).

2.9.5. Género *Xiphinema* spp. (Coob, 1913)

Christie, (1952) lo encontró asociado con necrosis extensiva y destrucción de raíces en el estado de Florida; De ley y Blaxter, (2004), clasifican al género *Xiphinema* dentro de la familia Longidoridae, ectoparásitos que se alimentan de la punta de las raíces. Varias especies de este género son consideradas problemáticas por el daño indirecto que generan al ser vectores de diversos virus (Ferris, 1999).

2.9.6. Género *Dorilaymus* spp. (Dujardin, 1845)

Fue reportado por Dujardin, (1845) como un nemátodo de distribución cosmopolita y se encuentra tanto en suelos cultivados como en suelos vírgenes Vázquez, (1980); De ley y Blaxter, (2004) clasifican a este género dentro de la familia Longidoridae. Es uno de los géneros mejor representados en los ecosistemas del mundo ya que pueden encontrarse en diversos hábitats de bastante humedad en el suelo y en lugares con bastante materia orgánica (Flores, 2017).

2.9.7. Nemátodos de vida libre

Se conocen 20 000 especies y se pueden encontrar en promedio de hasta 30 millones por metro cuadrado, los nemátodos no solo actúan como parásitos sino también se hallan como organismos de vida libre, la alimentación de estos nemátodos puede ser bacteriófagos, ficófagos, algivoros, protozoofagos, y predadores (Piedra, 2008) los mismos que actúan como agentes de control biológico y que, al ser beneficiosos se deberían tener en cuenta, a la hora de tomar medidas de control nematológico en campo (Lima y Casa, 2016); estos nemátodos son importantes ya que junto a otros organismos del suelo colaboran en la descomposición de materia orgánica, la redistribución de los minerales y nutrientes en el espacio y el tiempo, el secuestro de carbono, la desintoxicación de contaminantes, modificación de la estructura del suelo, regulación o supresión de especies de plagas, etc. (NEMAPLEX, 2010).

2.10. Historia del género *Meloidogyne*

Jobert, (1878), da las primeras atribuciones a los nemátodos, por un debilitamiento en el cultivo de café, aunque algunos reportes de historia mencionan que los nemátodos son

organismos que existen desde hace millones de años. Goeldi en (1887), publicó sobre los problemas del café causados por *M. exigua*. Coob en (1924), observa diferencias entre el “nemátodo del nódulo de la raíz” y del quiste. Chitwood en (1949), describió cinco especies de *Meloidogyne*.

2.11. Clasificación Sistemática del género *Meloidogyne*

Clasificación de acuerdo a Karssen y Moens, (2006):

Phylum: Nemata Potts, (1932)
 Clase: Chromadorea Inglis, (1983)
 Orden: Rhabditida Chitwood, (1933)
 Sub orden: Tylenchina Thorne, (1949)
 Infraorder: Tylenchomorpha De Ley & Blaxter, (2002)
 Superfamilia: Tilenchoidae Orley (1880)
 Familia: Meloidogynidae Skarbilovich, (1959)
 Género: *Meloidogyne*, Goeldi, (1892)

2.12. Biología del género *Meloidogyne* spp.

El género *Meloidogyne* spp. es un endoparasitos obligado altamente adaptados a las raíces de su hospedero, una vez dentro, la glandula esofagica que poseen embebe secreciones dentro de las celulas gigantes multinucleadas que proveen continuamente de comida y agua al parasito, las agallas se forman en el sitio de alimentacion debido a la extensiva hipertrofia e hiperplasia en las celulas de la raiz (Siddiqi, 2000). Los juveniles Posteriormente pasan por tres estadios juveniles mas, el tercer y cuarto estadio ocurre dentro de la cuticula del segundo estadio. Durante los estadios J3 y J4 los nemátodos no tienen estilete y no se alimentan. El estilete se regenera despues del cuarto estadio, una vez que se inicia la fase adulta. Los machos tienen un desarrollo vermiforme y las hembras toman una forma esferoidal y son fertilizadas por los machos. Despues de 15 a 30 dias de alimentarse y desarrollarse, empiezan a producir en gran cantidad huevos en promedio (500 a 1000 huevos) en un material gelatinoso secretado por la glandula rectal del nemátodo (Cruz, 2012).

2.12.1. Ciclo biológico de *Meloidogyne* spp.

Presentan seis etapas en su ciclo de vida: huevo, cuatro estadios juveniles (J1, J2, J3, J4) y adultos (Figura 5). Los pasos entre estadios juveniles y hasta adulto están separados por mudas o ecdise cambiando la cutícula mayor (Decraemer y Hunt, 2006), de la misma forma el estilete de forma cónica será sustituido por otro estilete. Posteriormente pasara al segundo estadio juvenil J2, en esta fase con ayuda del estilete perforara la cascara del

huevo para luego eclosionar. Una vez eclosionado el J2 se desplazará en el suelo, en busca de raíces de una planta hospedera. Dentro de la planta migra para localizar los sitios de alimentación y seguir su desarrollo con el tercer estadio juvenil (J3), cuarto estadio juvenil (J4) para finalmente pasar a ser adulto macho o hembra (Lima y Casa, 2016).

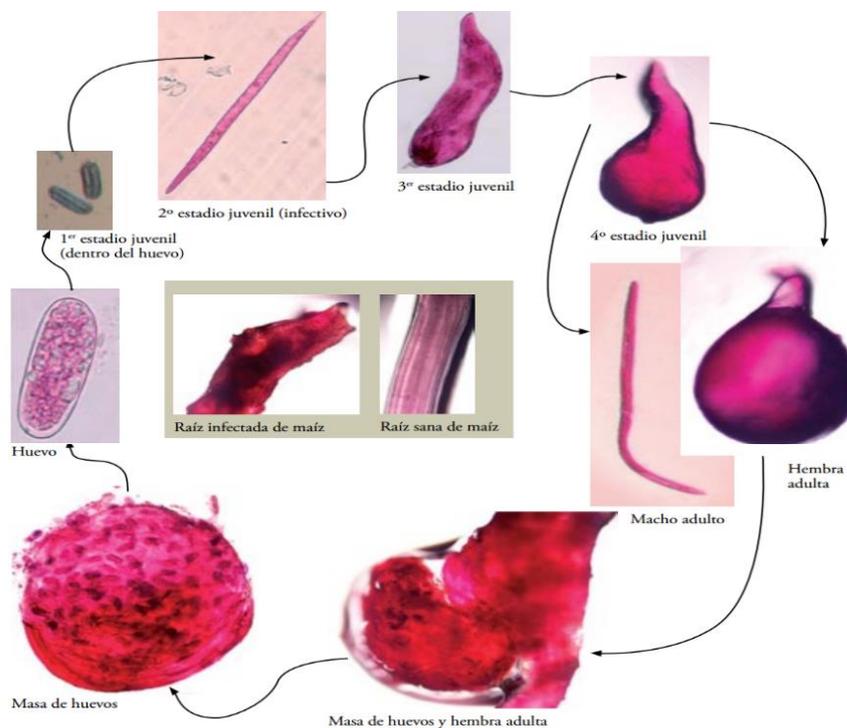


Figura 5. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. desarrollo de los diferentes estadios en raíz de maíz. Fuente: (Coyne *et al.*, 2007).

2.13. Técnicas para la identificación del género *Meloidogyne*

2.13.1. Identificación morfológica y morfométrica

El proceso de identificación del género *Meloidogyne* está principalmente basado en características morfológicas, biométricas y patrones perineales (Figura 6) (longitud del cuerpo, largo del estilete, largo de la cola, forma de la cabeza, forma de la cola, rasgos y características como la forma de la hembra (Figura 7), también es utilizado el rango de hospederos diferenciadores) (Damalzo & Bergé, 1978; Hartman y Sasser, 1985; País y Abrantes, 1989).



Figura 6. Caracterización de la hembra de *Meloidogyne incognita* a) longitud de cuerpo de la hembra b) región anterior de la hembra c) patrón perineal Fuente: (Kaur *et al.*, 2016).

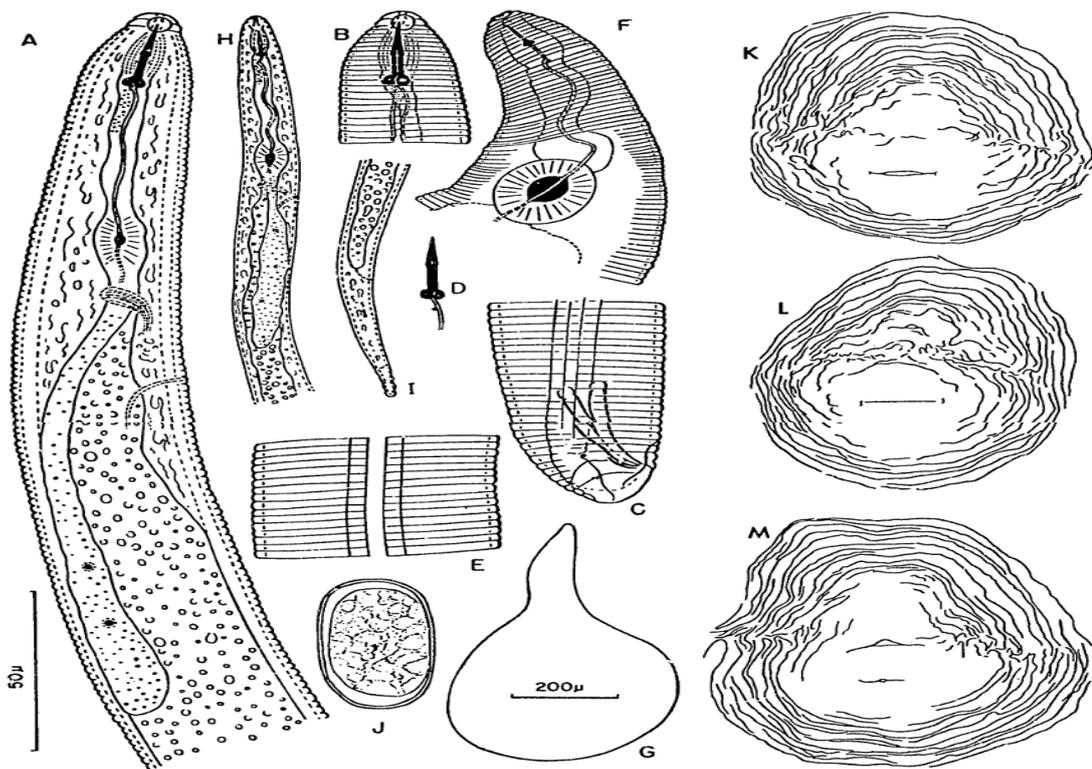


Figura 7. *Meloidogyne exigua*. A-E: Parte anterior del macho, cabeza, parte posterior, estilete y campo lateral, respectivamente. F, G: Parte anterior de la hembra y forma del cuerpo. H, I: Parte anterior y posterior de la larva J: Huevo. K-M: Patrones perineales. Fuente: (Lordello y Zammith, 1958).

2.13.2. Identificación morfológica por medio del patrón perineal

El criterio morfológico mayormente utilizado para identificar las especies de *Meloidogyne* es el estudio del patrón perineal de las hembras esta estructura es observada mediante una técnica de preparación (Figura 8) y está formada por estrías cuticulares arrugas que rodean la vulva y el ano (Figura 9) (Hartman y Sasser, 1985; Jepson, 1987).

Aunque este criterio sea bastante útil, presenta algunas dificultades, se requiere seguir el procedimiento que se muestra en la (Figura 8).

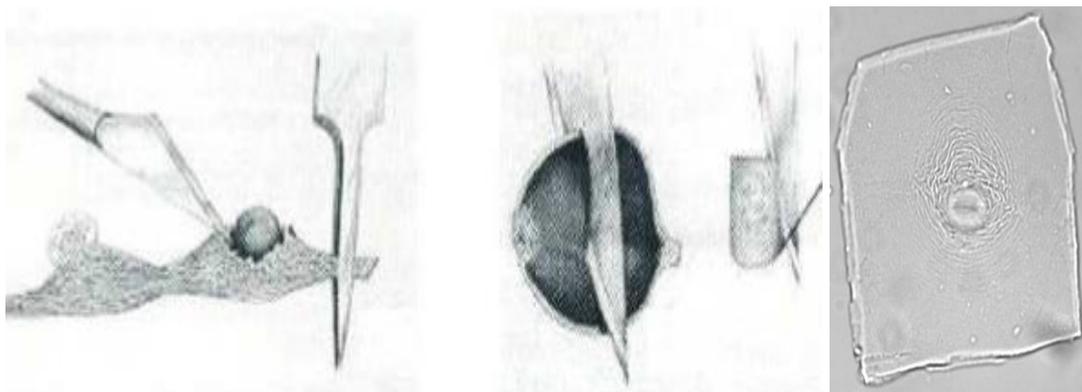


Figura 8. Técnica de preparación del patrón perineal. Procedimiento de extracción y disección del corte perineal de hembras de *Meloidogyne*. Para su identificación. Fuente: (Shurtleff y Averre, 2000).

La identificación morfológica de especies de *Meloidogyne* es mediante el uso de un microscopio, donde se colocan las hembras extraídas en portaobjetos con una gota de agua y una de glicerina (Sandoval *et al.*, 2002); con ayuda de la aguja de disección se fija la hembra de la parte cefálica; con una cuchilla se hace un corte transversal en la parte media del cuerpo, dejando la región del ano y la vulva para su identificación (Figura 8), con apoyo de una pajilla y con bastante cuidado de no romper las estructuras, se empieza a remover los residuos de tejidos que quedan dentro del cuerpo; con el fin de identificar con mayor facilidad las líneas anales y vulvares; posteriormente se coloca el cubreobjetos sobre el corte cuidando que las paredes del mismo se extiendan hacia fuera y faciliten su visibilidad, ambos cristales porta y cubreobjetos pueden sellarse con cera o esmalte (Shurtleff y Averre, 2000). Las características para la identificación de especies, es una vez obtenidas las muestras a través del corte perineal, se observa: tipo de arco dorsal, líneas de campo lateral y estrías de los patrones perineales en las hembras (Figura 9).

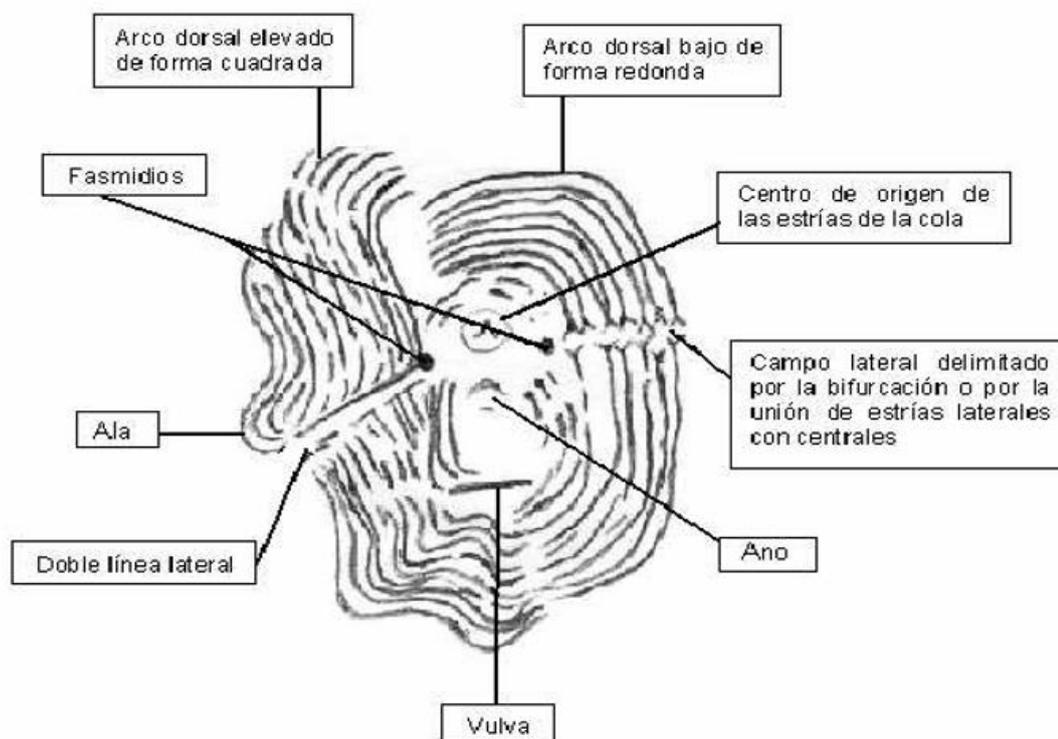


Figura 9. Estructura morfológica básica del patrón perineal de la hembra de *Meloidogyne* spp. Fuente: (Vergel *et al.*, 2000).

2.13.3. Identificación electroforética por medio del Análisis Isoenzimático

El uso de técnicas electroforéticas en el estudio de proteínas solubles y enzimas específicas ha sido popular desde principios de 1960 (Esbenshade y Triantaphyllou, 1985) en estudios iniciales de enzimas de nemátodos fueron empleados discos electroforéticos, los extractos de proteína de muchos nemátodos fueron combinados en un solo gel para la identificación de un fenotipo específico o de una población de nemátodos en particular (Dickson *et al.*, 1970; Hussey *et al.*, 1973; Carneiro & Almeida, 2001), en estudios posteriores fueron desarrolladas microtécnicas de electroforesis y acondicionadas para la extracción de pequeñas cantidades de proteína solubles solo de hembras adultas de *Meloidogyne* para su identificación, análisis enzimático y comparación de enzimas fenotipos; Las enzimas más utilizadas para discriminar especies son las esterases (Dickson *et al.*, 1970; Damalso & Berge, 1978; Ibrahim, 1992), pues una vez realizada la electroforesis las esterases se presentan como bandas de color oscuro en una placa de gel de poliacrilamida (Figura 10).

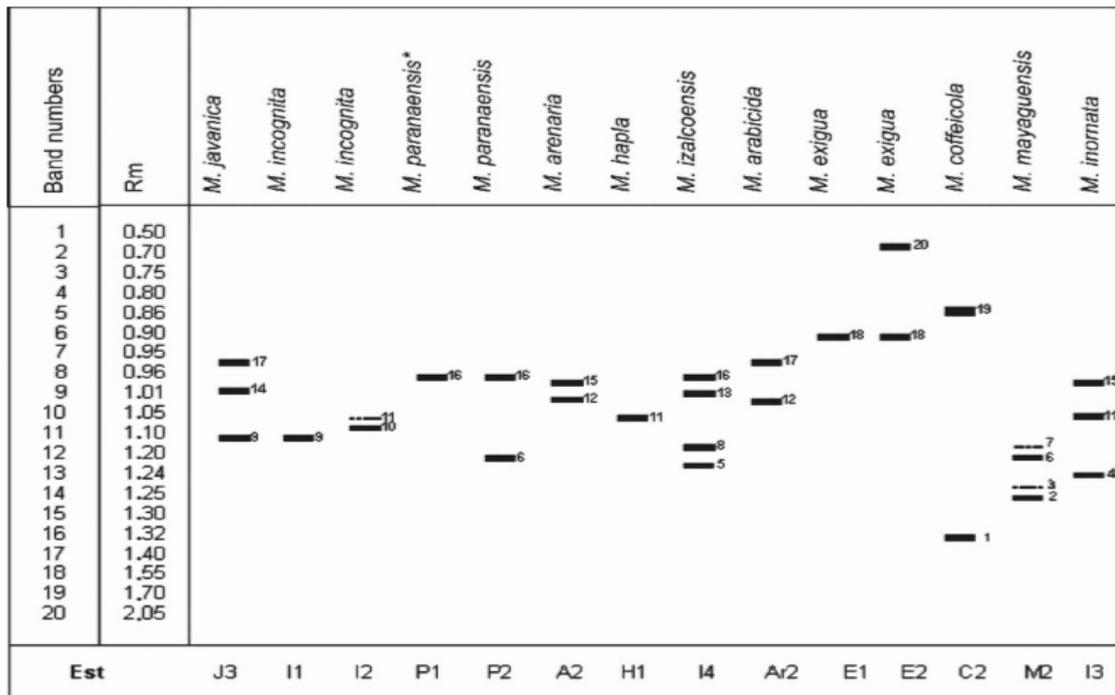


Figura 10. Fenotipo esterase de poblaciones de *Meloidogyne* spp, parásitos del café. Rm= proporción de migración en relación a la banda de *M. javanica* (J3). Fuente: (Carneiro y Cofcewicz, 2008)

2.14. Daños causados en la planta por el género *Meloidogyne*

Según Agrios, (2005) y Guzmán *et al.*, (2012) mencionan que el daño mecánico directo causado por los nemátodos mientras se alimentan es muy leve, la mayor parte de daños parece ser causado por la secreción de saliva introducida en los tejidos de la planta. Ellos penetran la pared celular, inyectan saliva dentro del citoplasma, extraen parte del contenido celular (Barbosa *et al.*, 2004).

Otros daños son el alargamiento anormal de células (hipertrofia), por supresión de la división celular de una manera controlada y que resulta en la formación de agallas (hiperplasia) o de un gran número de raíces laterales en o cerca de los sitios de infección (De Waele & Davide, 1998; Agrios, 2005). Los nemátodos también afectan la fisiología de las plantas, realizan heridas para la penetración de otros patógenos, que son los principales responsables del daño a las plantas (Perry *et al.*, 2009).

Sitios de alimentación, los nemátodos inducen la formación de células de alimentación multinucleadas, llamadas células gigantes que son el resultado de divisiones nucleares repetidas de la célula nodriza inicial sin citoquinesis, cada nemátodo desencadena el desarrollo de hasta doce células gigantes, cada una conteniendo aproximadamente 100 núcleos, se piensa que este fenómeno aumenta la toma de solutos del sistema vascular.

Cerca, las células de la corteza, el periciclo y el parénquima vascular aumentan de tamaño y se dividen, formando la agalla (Arias *et al.*, 2009).

2.15. Síntomas en la planta causados por el género *Meloidogyne*

En tejidos aéreos: origina crecimiento deficiente de la planta, clorosis de hojas, reducción del tamaño de la planta, menor cantidad del follaje menor rendimiento y vida productiva del cultivo

Raíces: nudos o agallas, raíces abultadas (como rosario), raíces con acumulación anormal de partículas de suelo, supresión del crecimiento de raíces (Figura 11).



Figura 11. Síntomas de agallas en raíces ocasionadas por *Meloidogyne* spp. a, b y c) síntomas ocasionados en raíces de café d y e) raíz de zapallo f) raíz de zanahoria.

2.16. Antecedentes de la investigación

Diversos géneros tales como: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Tylenchus*, *Pratylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Criconemella*, *Xiphinema* y *Paratylenchus*, fueron encontrados como fitoparásitos de la planta de café, de los cuales *Meloidogyne* representó el 91% de la población total, siendo diez veces más que la suma de los otros géneros de fitoparásitos (Julca *et al.*, 2015). En unos 76 países del trópico, subtropico y zonas templadas se han identificado 54 especies del género *Meloidogyne* de las cuales *M. incognita*, *M. javanica*, *M. megadora*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. coffeicola*, *M. africana*, *M. decalineata*, *M. kikuyensis*, *M. inornata*, *M. oteifae*, *M. tamesi*, *M. arabicida*, *M. konaensis* y *M. paranaensis* han sido encontradas parasitando raíces de café, causándoles reducción en su producción (Vergel *et al.*, 2000)

Entre los cultivos más directamente afectados por la acción patogénica de los nemátodos destacan el tomate, banana, cacahuete, tabaco, café, cacao, algodón, coco, soja y en regiones templadas principalmente los de cereales, papa, remolacha, maíz y judías y demás hortalizas (Andrés, 2003); los nemátodos “formadores de agallas en raíces” o especies del género *Meloidogyne* son los nemátodos parásitos de plantas que más limitan la producción de los cultivos. En España, las pérdidas causadas por nemátodos fitoparásitos han sido estimadas en torno al 12,0%, pero en el caso de *Meloidogyne* spp. Varían entre el 15,0% y el 60,0% de la cosecha (Flor, 2013).

En Costa Rica, Nicaragua y Honduras identificaron a *Meloidogyne exigua* (Goldi, 1987) con síntomas Típicos de agallas de tamaño relativamente pequeño, estas agallas eran más observadas en las raíces secundarias las cuales internaban a las hembras y las masas de huevos (Campos *et al.*, 1990), la histopatología de las raíces de café infectadas por *M. exigua*, mostraron varias infecciones en las raíces, y el origen de células especializadas (células gigantes) e hiperplasia (Di Vito *et al.*, 2000); Además de lo mencionado otros síntomas que este fitoparásitos ocasiona, es reducción del tamaño de la planta, amarillamiento, poca producción de granos, aborto de flores, disminución radicular, presencia de nódulos en las raíces (Rojas & Salazar, 2013).

Rodríguez, (2000) observó los síntomas que producen las poblaciones de *M. exigua* y *M. megadora*. Donde juveniles de segundo estadio de las dos especies perforaron a la raíz por la rizodermis, en ambos casos fue mayor la actividad sintetizadora de la raíz y las células de la raíz se volvieron multinucleadas para finalmente mostrar necrosis; la planta de café mostro más susceptibilidad a *M. exigua*, mientras que para *M. megadora* mostro resistencia y susceptibilidad. Así Hiroshi *et al.*, (2009) refiere que en Brasil las especies que causan mayor daño en el cultivo de café, son: *M. exigua* debido a que se distribuye en todas las variedades del cultivo; *M. paranaensis* y *M. incognita* por la alta intensidad de los daños, estas especies se han identificado en San Pablo y Paraná, por este motivo una de las estrategias más eficientes económicamente y ecológicamente son los cultivos resistentes.

Villain *et al.*, (2013) determinaron la diversidad biológica de los “nemátodos noduladores” en el café en Centro América, mediante la determinación de enzima esterasa, once fueron los fenotipos observados y nueve especies fueron identificadas de las cuales *M. exigua* fue la más distribuida. Mientras, Cruz, (2012) identificó al “nemátodo del nódulo de la raíz” en el café en Veracruz. Realizando varias encuestas;

donde precisó que el 44% de los agricultores sabe de la existencia de *Meloidogyne*, el 54% tuvieron pérdidas económicas, 56% no reconocen los síntomas, el 73% respondió que el síntoma más notorio es la defoliación y el 18% afirmó que los síntomas están presentes por más de 10 años.

El fenotipo esterese típico para *M. exigua*, es VF1 (Rm 1,60), el cual fue encontrado en el 20% de las muestras evaluadas. (Esbenshade e Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 2000) Así mismo Oliveira, (2002), identifico a *M. exigua* (VF1), en 22.8% y encontró que la mayoría de la población exhibió un fenotipo de dos bandas (VF2), en 77,2%.

Vovlas & Di Vito, (1991) compararon el incremento de la población y daños de dos especies de *Meloidogyne*, que fueron *M. incognita* y *M. javanica* en el crecimiento de plántulas de café. Las dos especies tuvieron la misma cantidad inoculada; ambas especies afectaron el crecimiento del cultivo mostrando síntomas como nodulaciones en la raíz, amarillamiento y marchitez en las hojas, afectaron en un 50% el crecimiento de las raíces. Además, que *M. incognita* mostro un alto índice de reproducción a diferencia de *M. javanica*, en otro estudio Rojas & Salazar, (2013) comprobaron que poblaciones iniciales de *M. exigua* superiores a 32 huevos/cm³ de sustrato causan una reducción de 20% en la altura y diámetro del tallo, 65% en el número de nudos y 50% en el peso aéreo, en comparación al testigo.

Rojas & Salazar (2013), reportaron la presencia de varias especies de *Meloidogyne*, entre ellas *M. exigua* en plantaciones de café en Costa Rica, además de *M. arabicida*, *M. javanica*, *M. incógnita* y *M. enterolobi* (*mayaguensis*), Así mismo Vera, (2014) identificó las especies del género *Meloidogyne* en el Perú, procedentes de diferentes zonas mediante la identificación morfológica y se encontró a *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*.

Alves (2014), concluye que *Meloidogyne exigua* es la segunda especie más distribuida seguida de *M. paranaensis* siendo una de las principales especies de nemátodos de agallas en café, la distribución de estos nemátodos en los suelos cultivados es alrededor de las raíces de las plantas susceptibles. La mayor concentración de nemátodos en la región de las raíces se debe primariamente a su mayor tasa de reproducción por la disponibilidad continua del alimento, condiciones óptimas y también a un proceso de atracción de los nemátodos por determinadas sustancias liberadas en la rizosfera (Andrés, 2003).

En un experimento realizado en Arizona (Estados Unidos) se observó que el nemátodo del nódulo de la raíz provocó daño severo a los cultivos de algodón sembrados en suelos con 50% o más de arena y en suelos limo arcillosos hubo pocos nódulos (Wallace, 1987) Además, muchos autores coinciden que en suelos con gran porcentaje de arcilla el daño es mínimo y es máximo en suelos arenosos, tales como (Hartman y Sasser, 1985, Magunacelaya y Dagnino 1999), quienes mencionan que el “nemátodo del nódulo de la raíz” es más severo en suelos que contienen menos del 10% de arcilla, menos del 30% de limo y más del 60% de arena (suelos franco-arenoso).

García (2012), en su estudio realizado en Nicaragua, determinó que el fitoparásitos que presento mayor densidad poblacional tanto en la raíz de café como en banano fue *Meloidogyne J2*, teniendo mayor presencia en las raíces del cultivo del café, no en tanto Escalona *et al.*, (2006) en Venezuela, encontró con mayor incidencia a los géneros *Tylenchorhynchus* y *Rotilenchulus* con 30%, mientras *Meloidogyne* spp. solo presento una incidencia del 17.5%.

Monzón (2010), realizó la evaluación del “nemátodo del nódulo de la raíz” en el cultivo del café en San Juan de Oro (1200-1800 msnm); determinó a través de evaluaciones morfológicas que el nemátodo que ataca el cultivo, es la especie *M. incógnita*; sin embargo, lo referido por Carneiro & Cofcewicz (2008), es que las técnicas más certeras para la identificación de estos nemátodos son la electroforesis mediante enzimas o las técnicas moleculares (PCR).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El distrito de San Juan del Oro pertenece a la provincia de Sandia, ubicada en la Región Puno (Figura 12); a una altitud de 1320 m.s.n.m. entre las coordenadas geograficas de 14°13'00'' Latitud Sur, 69°09'50'' Longitud Oeste. Presenta zonas de vida como Bmh-MBS/ Bosque muy humedo montano- bajo subtropical ocupa una superficie de 4275 Km² su distribucion es el flanco oriental de los andes, con temperatura media anual de 20.2°c y el promedio de precipitacion total por año es de 1889.5 mm según el diagrama de Holdrige tiene un promedio de evapotranspiracion de entre un cuarto (0.25) y la mitad (0.5) del promedio de precipitacion total por año, por lo que se le clasifica como PERHUMEDO (Castillo, 2003) El Distrito esta conformado por sectores rurales y una de sus poblaciones mas importantes es el centro poblado de Yanamayo.

En la actualidad los límites del distrito de San Juan del Oro son:

- Por el Norte: Distrito de San Pedro de Putina Punco
- Por el Sur: Distrito de Yanahuaya.
- Por el Este: República de Bolivia
- Por el Oeste: Distrito de Alto Inambari

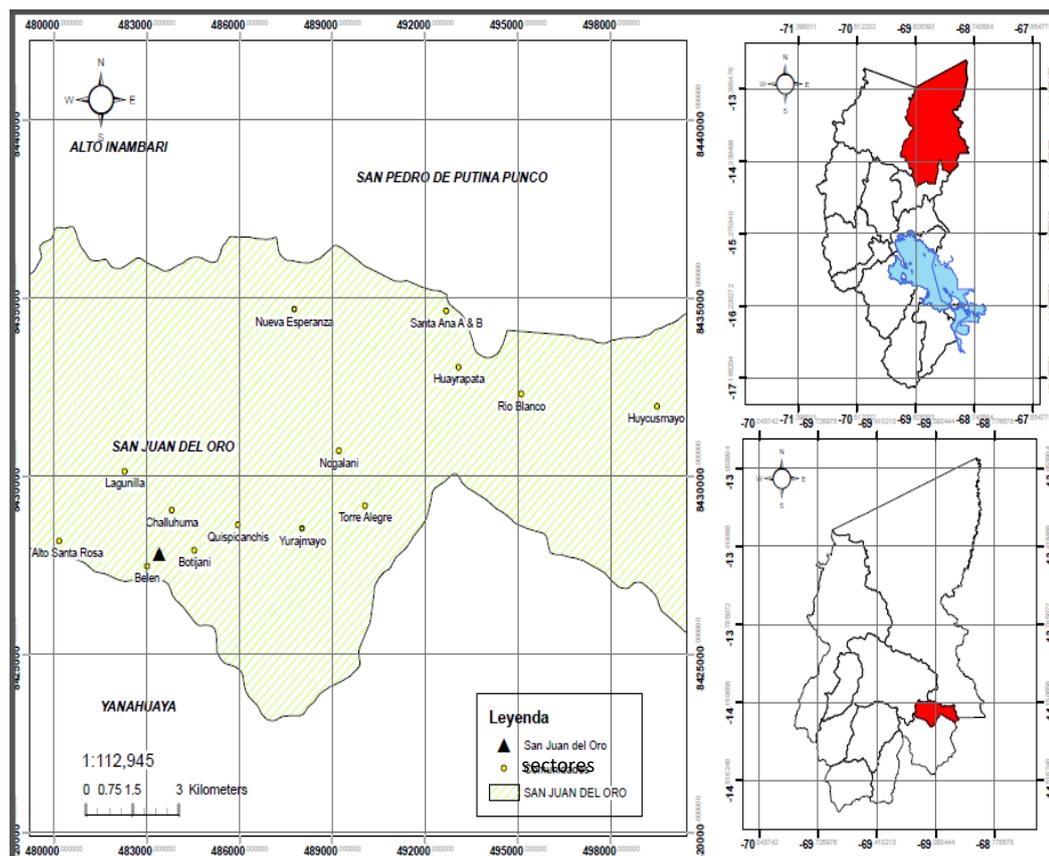


Figura 12. Mapa de ubicación del distrito de San Juan del Oro, Sectores de muestreo, 2016.

3.2. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

El trabajo se dio en dos fases: se aplicaron encuestas a los productores de café y se recolectaron muestras de suelo y raíces en 15 sectores rurales del distrito de San Juan del Oro-Sandía, Puno (fase de campo) para posteriormente ser trasladadas al Laboratorio de Entomología (Área de Fitopatología), Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, donde se realizó el análisis de las muestras de suelo y raíces, (fase de laboratorio).

3.2.1. Fase de campo

a) Identificación de la presencia y sintomatología de *Meloidogyne* a través de encuestas-diagnostico

Con el apoyo de los extensionistas del Proyecto Café se aplicaron 427 encuestas-diagnostico a los beneficiarios del Proyecto Café del distrito de San Juan del Oro, pues se tomó el 50% del total de los beneficiarios del Proyecto Café, además las encuestas fueron por inclusión ya que todos los beneficiarios realizan producción de café, las que consistieron en 11 preguntas (Anexo 1) relacionadas con la presencia y sintomatología del nemátodo del “nódulo de la raíz” en sus cafetales, las encuestas se realizaron en 24 sectores rurales del distrito de San Juan del Oro (Anexo 2), Con la finalidad de evaluar la incidencia de daños directos e indirectos ocasionados por nemátodos, así mismo conocer la importancia que los productores y los mismos técnicos de campo atribuyen a las enfermedades inducidas por nemátodos.

b) Muestreo de suelos y raíces

según lo referido con Tihohod, 2000, se debe tomar diez muestras en zigzag por cada área de cultivo, el cual fue adecuado a cinco muestras, tomando en cuenta el área del cultivo ya que en el distrito de San Juan del Oro las áreas generalmente son de 0,25 h; el muestreo fue realizado en M para realizar un muestreo en zigzag en los bordes pues según lo referido por Lima y Casa (2016), es donde existe mayor posibilidad de coleccionar los varios géneros de nemátodos presentes en el área; la profundidad en la cual se encuentran los nemátodos es entre los 10 a 20 cm; de igual forma las muestras compuestas de raíces debe ser entre 100 a 300 g, con sintomatología propia del género *Meloidogyne* spp. que son las agallas radiculares.

Se colectaron cinco muestras de suelo por parcela y tres parcelas por sector, en total los sectores evaluados fueron 15 y el total de las muestras analizadas fueron 225, la colecta se realizó en el mes de setiembre del 2016 (Anexo 4). Las muestras de raíces solo fueron 15 una muestra por sector, las cuales se colectaron con presencia de agallas radiculares, entre los meses de noviembre del 2016 a enero del 2017.

En cada parcela los puntos muestreados fueron cinco siguiendo un trayecto en M, abriendo la hojarasca y el suelo a una profundidad de 10 a 20 cm (Figura 13a), De cada punto se homogenizó la muestra y se recogió en promedio 500g de suelo dentro de bolsas plástico. Las cuales fueron debidamente etiquetadas. De la misma manera se tomaron las muestras de raíces con presencia de agallas, a una profundidad de 10 a 20 cm, se recogió en promedio 300g (Figura 13b), las que fueron transportadas a laboratorio de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.



Figura 13. Colectación de muestras en el distrito de San Juan del Oro a) recojo de suelos, setiembre del 2016 b) recojo de raíces del café, octubre del 2016.

3.2.2. Fase de laboratorio

a) Método de centrifuga con solución sacarosa para extracción de nemátodos de muestras de suelo (Jenkins, 1964), para la identificación de los géneros de fitoparásitos.

Metodología muy utilizada y conocida como el “método de Jenkins, (1964)” se fundamenta en que utilizando 100 cm³ de suelo, se puede obtener la densidad de nemátodos propicia para realizar un diagnóstico de campo, a ello se le agrega 10 veces más de agua, donde se homogeniza la muestra para liberar los nemátodos en la suspensión, posteriormente los nemátodos quedan atrapados en el sedimento por acción del caulim cuando las muestras son centrifugadas entre los 1800 y 2000 rpm, lo contrario pasa con la solución sacarosa pues el azúcar hace que los nemátodos floten y el suelo

sedimento y al verter la solución sacarosa al tamiz de 400 Mesh los nemátodos quedan retenidos para su posterior identificación y conteo.

Posteriormente se homogenizó bien la muestra de suelo del cafeto sobre una bandeja de la que se retiró una porción de 250 cm³ de suelo y se colocaron en un baldé vacío, cubriéndolo con agua (aproximadamente 1 litro), se mezcló el suelo con el agua con la finalidad de homogenizar la muestra, para la liberación de los nemátodos, luego se vertió el líquido a través de los tamices de 60, 100, 400 Mesh (BERTEL ISO 3310/1 Ind. Brasileira) ordenándolos de mayor a menor (Figura 14a), posteriormente se lavó y recolectó la muestra del tamiz 400, alrededor de 50 ml en vasos de plástico etiquetados (Figura 14b); a la suspensión de 50 ml, se adicionó una cuchara de caulim (cal deshidratada) fue homogeneizada y vertida a los tubos de centrifuga (HEAL FORCE, NEOFUGE 15, 0715150287S, 16,000 rpm) (Figura 14c) donde se centrifugó, por 3 minutos a una velocidad de 1,800 rpm (Figura 14d). Al finalizar el tiempo, se retiraron los tubos de la centrifuga, para eliminar el agua sobrante y Posteriormente se adicionó la solución sacarosa (Lot: S1602, Exp. 12/2018) (500 g de azúcar disuelta en 1 L de agua), lo requerido en cada tubo (Figura 14e). Los tubos fueron homogenizados con la ayuda de una cucharilla luego se volvieron a centrifugar a 1,800 rpm durante 3 minutos, al finalizar el tiempo, los tubos fueron retirados de la centrifuga y se vertió individualmente por el tamiz de 400 Mesh, luego se lavó con bastante agua, para retirar la solución sacarosa. Por último, cada muestra se recolectó en vasos de plástico individualmente y fueron llevados al estereoscopio (ZEISS STEMI 305) para su conteo e identificación (Figura 14f).



Figura 14. Procedimiento para la extracción de nemátodos de muestras del suelo, a) vertimiento de la muestra en los tamices, b) recojo de la muestra del tamiz 400 Mesh, c) adición de caolín, d) centrifugación, e) adición de sacarosa, f) muestras para su observación al estereoscopio. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, UNAP octubre del 2016.

b) Extracción y montaje de hembras de *Meloidogyne* del cultivo de café para la identificación de la especie del género *Meloidogyne* por medio del patrón perineal.

Este método ayuda en el estudio de la región terminal de la hembra, esto comprende el ano y la vulva, región donde se puede observar las marcas cuticulares que se encuentran en el perineo, las marcas cuticulares se definen por características que presenta cada especie, como la presencia o ausencia del campo lateral, la forma del arco dorsal, la forma de las estrías, entre otras características.

Las muestras de raíces fueron lavadas cuidadosamente sobre una bandeja y con la ayuda de estiletes se abrió cuidadosamente el tejido en la parte de la agalla tratando de no dañar

las hembras, la cuales fueron transferidas a ácido láctico al 45%, donde se dejaron por 24 horas (Figura 15 a y b), con la ayuda del microscopio (ACCU-SCOPE 3000- LED SERIES) y un bisturí se realizó un corte a la altura de la cabeza de la hembra, para retirar el contenido interno de la hembra (Figura 15 c y d), luego se realizaron cortes a la mitad del cuerpo y se realizaron cortes hasta obtener solo la región perineal en forma rectangular (Figura 15 e y f). Posteriormente se realizaron los montajes colocando los cortes perineales en un portaobjeto (BIOSLIDE Cat. No. 7105-1) conteniendo una micro gota de glicerina, orientando la vulva hacia la parte superior y la parte interior de la cubierta del cuerpo hacia abajo, finalmente se colocó un cubreobjetos y se selló con esmalte de uñas transparente etiquetando cada cubreobjetos

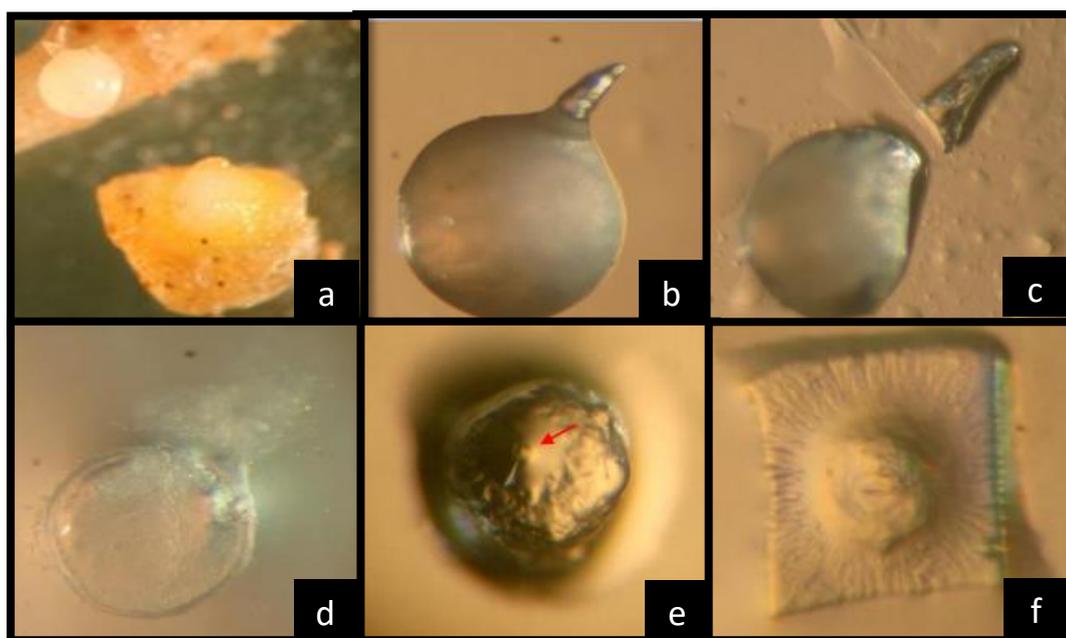


Figura 15. Extracción y montaje del patrón perineal de hembras de *Meloidogyne* sp. para su identificación morfológica. a) Extracción de la hembra madura b) hembra con contenido de ácido láctico c y d) Corte a nivel de cabeza del espécimen hembra y eliminación del material contenido dentro del cuerpo, e y f) Ubicación de la región perineal en la parte posterior de la hembra y corte en forma rectangular del perineo con la vulva en el centro. Fuente: (Vera, 2014).

c) Análisis electroforético de isoenzimas en hembras de *Meloidogyne* del cultivo de café para la identificación de la especie del género *Meloidogyne*.

Esta metodología fue utilizada desde hace muchos años atrás, que posteriormente fue perfeccionándose por otros autores; los primeros estudios de enzimas con nemátodos fueron por (Dickson *et al.*, 1970; Hussey *et al.*, 1973), más tarde la técnica fue mejorada por Carneiro y Almeida, (2000), siendo esta la metodología usada para esta investigación la cual se fundamenta en la extracción de proteínas de hembras del género *Meloidogyne*

placa de vidrio (Figura 17c). Luego de retirado el gel fue sometido a la enzima esterasa, utilizando una solución de 50 ml de tampón fosfato (monobásico y dibásico J.T. Baker, lot: E46599, lot: P02C15), 50 mg de Fast Blue RR sal y 400 μ l de α - naftil acetato 1%, (Figura 17d). Pasado un tiempo, la muestra fue llevada a la estufa (Figura 17e) donde permaneció a 37 °C durante unos 20 a 30 minutos hasta que las bandas esterásticas (de color oscuro) fueron apareciendo (Figura 17f). Después los geles pasaron a una solución que contenía 10% de ácido acético y una solución de alcohol metílico 40% durante 30 minutos. Después de la fijación, los geles fueron colocados entre dos hojas de papel de celofán y se secaron a temperatura ambiente para plastificarlos.

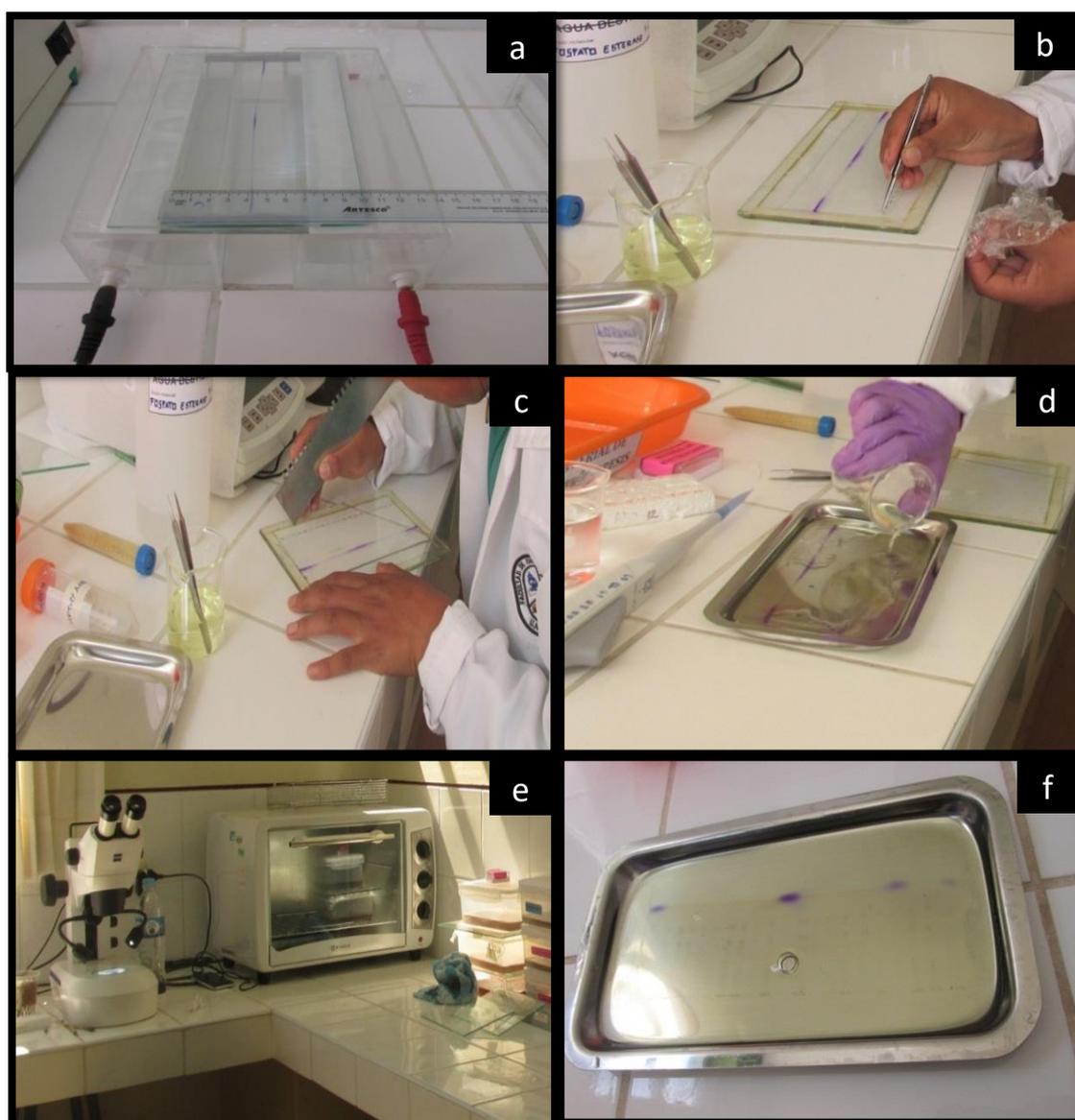


Figura 17. Procedimiento para el análisis de isoenzimas a) cuba con una fuente de 80 volt, 35 Am b) retiro del papel filtro c) retiro del gel de la placa d) adición del tampón esterasa e) proceso de revelación dentro de la estufa f) gel con bandas reveladas. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.

d) Metodología para determinar la distribución del género *Meloidogyne* sp. por altitud y textura de suelo.

Las muestras fueron colectadas en cuatro rangos altitudinales de 1100 a 1300, 1300 a 1500, 1500 a 1700 y 1700 a 1900 (Tabla 3), se estableció estos rangos considerando que el café en el distrito de San Juan del Oro se cultiva entre los 1000 a 2000 msnm, y teniendo en cuenta que el mejor desarrollo de la planta del cafeto es entre los 1200 a 1800 msnm. Además, se determinó la textura de las muestras de suelos al tacto de acuerdo a la dureza de la muestra. Determinando dos clases de textura: a) textura franco arcilloso, b) textura franco arenoso.

Los sectores muestreados fueron 15 pues es la mitad más uno del total de los sectores con los que trabaja el Proyecto Café, siendo 28 sectores. Estos sectores fueron determinados en base a las encuestas realizadas, considerando a los sectores donde los encuestados en mayor porcentaje respondieron saber de la existencia de nemátodos en sus plantaciones de cafetos, así mismo si tales sectores se encontraban dentro de nuestros rangos altitudinales establecidos, las parcelas también fueron determinadas en base a los rangos altitudinales.

Tabla 3. Sectores de muestreo del distrito de San Juan del oro por rangos altitudinales en 15 sectores de muestreo y 45 parcelas.

RANGOS ALTITUDINALES	SECTORES DE MUESTREO
1100 A 1300 msnm	Nogalani (I), Nueva Esperanza (I)(III), Santa Ana A (I)(II)(II), Yurajmayo, (I)(II)(III), Belén (I), Huayrapata (III)
1300 A 1500 msnm	Nogalani (II)(III), Nueva Esperanza (II), Belén (II)(III), Challohuma (I)(II)(III), Huycusmayo (I)(III), Huayrapata (II), Torre Alegre (III), Santa Ana B (III)
1500 A 1700 msnm	Lagunillas (I)(II)(III), Huycusmayo (II), Huayrapata (I), Torre Alegre (I)(II), Santa Ana B (I), Quispicanhis (II)(III), Botijani (II)
1700 A 1900 msnm	Santa Ana B (II), Quispicanhis(I), Rio Blanco (I)(II)(III), Botijani (I) (III), Alto Santa Rosa (I)(II)(III)

Cumpliendo los supuestos establecidos por Little y Hills (1991) como son la, homogeneidad de varianzas, se utilizó la prueba de Levene para todos los grupos obteniendo ($p > 0,503$) a un nivel de significancia de (0,05). Comprobando que si existe la homogeneidad de varianza para aplicar un Análisis de Varianza.

El análisis estadístico para la distribución del generó *Meloidogyne* sp. fue el Análisis de Varianza (ANVA) en un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) en arreglo factorial 4x2 donde:

Nº de individuos juveniles = variable dependiente

Los rangos altitudinales = tratamientos (04) variable independiente

Textura de suelo = bloques (02) variable independiente

Para la distribución geográfica se utilizó el programa Argis 10.3. Un software para la elaboración de mapas de distribución para el género *Meloidogyne* por medio de coordenadas geográficas.

f) Condiciones Meteorológicas del ámbito de investigación

La información que se tiene de agosto hasta diciembre es proveída por el “SENAMHI” de la estación CO. 110043 TAMBOPATA, ubicada en el Departamento de PUNO, Provincia de SANDIA, Distrito de SAN JUAN DEL ORO (Anexo 5). Entre los meses de agosto a setiembre la temperatura promedio fue de 22.3⁰C, el promedio de la precipitación total es de 64.6 mm (Tabla 4), el promedio de Humedad solo vario de 95 a 97%.

Tabla 4. Factores climatológicos del Distrito de San Juan del Oro en los meses de muestreo del 2016.

Meses del año	T ⁰ C Promedio	T ⁰ C Máxima	T ⁰ C Mínima	% HR promedio	Precipitación Mm
Agosto	21.6	29.4	13.8	97	31.6
Setiembre	22.3	30.0	14.6	96	71.0
Octubre	22.2	28.8	15.6	95	87.0
Noviembre	22.8	29.0	16.5	97	59.6
Diciembre	22.8	28.9	16.6	96	73.7

T° C= temperatura en grados centígrados, HR= humedad relativa en porcentaje, precipitación total en milímetros cúbicos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación de sectores con presencia de nemátodos en el distrito de San Juan del Oro, mediante encuestas-diagnostico.

De acuerdo al análisis de las 427 encuestas aplicadas en 24 sectores a los beneficiarios del Proyecto Café, por inclusión y exclusión ya que todos realizan producción de café. Que respecto al conocimiento de los caficultores a cerca de la presencia de nemátodos en su cultivo de café, el 100 % de los encuestados de los sectores de Huycusmayo y Rio Blanco, que fueron 30 respondieron saber de la existencia de nemátodos, siendo los mismos sectores que presentaron los picos más altos para la densidad poblacional de *Meloidogyne*, por otro lado el sector de Challohuma presentó la densidad más bajas donde el 73% de los encuestados refieren que no saben de la existencia de nemátodos, identificando por medio de las encuestas los sectores con mayor y menor presencia de nemátodos en un rango altitudinal de 1300 a 1500 msnm.

Resultados que serán científicamente cuestionados, cuando al tener los resultados del análisis de suelos se encuentra que en todos existen nemátodos de diferentes especies.

Sin embargo, los caficultores no saben dónde se observan los síntomas siendo solo el 1% de encuestados que respondieron que los síntomas se observan en las raíces, mientras el 99% no ubica adecuadamente el lugar de observación de los síntomas pues los observan en la parte aérea, cuando en realidad debe ser en las raíces (Figura 18-Anexo 3) relacionándolo más con la perdida de hojas de forma regular, siendo la defoliación un síntoma secundario que puede ser ocasionado por los nemátodos pero también podría ser causada por otras plagas pues asocian la perdida de hoja con daños por nemátodos 66%, sin embargo, solo el 22% reconoce que tienen bastantes perdidas económicas por esta causa; a pesar de que el 59% de productores han ido observando los síntomas entre 5 y 10 años atrás. Además, los productores realizan la poda en su mayoría cuando observan cafetales sin hojas, los productores desconocen que uno de los mayores daños que ocasionan estos fitoparásitos es que al ser endoparásitos sedentarios rompen la estructura del tejido de la raíz, dejando susceptible a la planta a ser atacada por hongos, bacterias; tanto en el la parte radical y la parte aérea; además, inyectan secreciones (toxinas) para alimentarse y cumplir su ciclo.

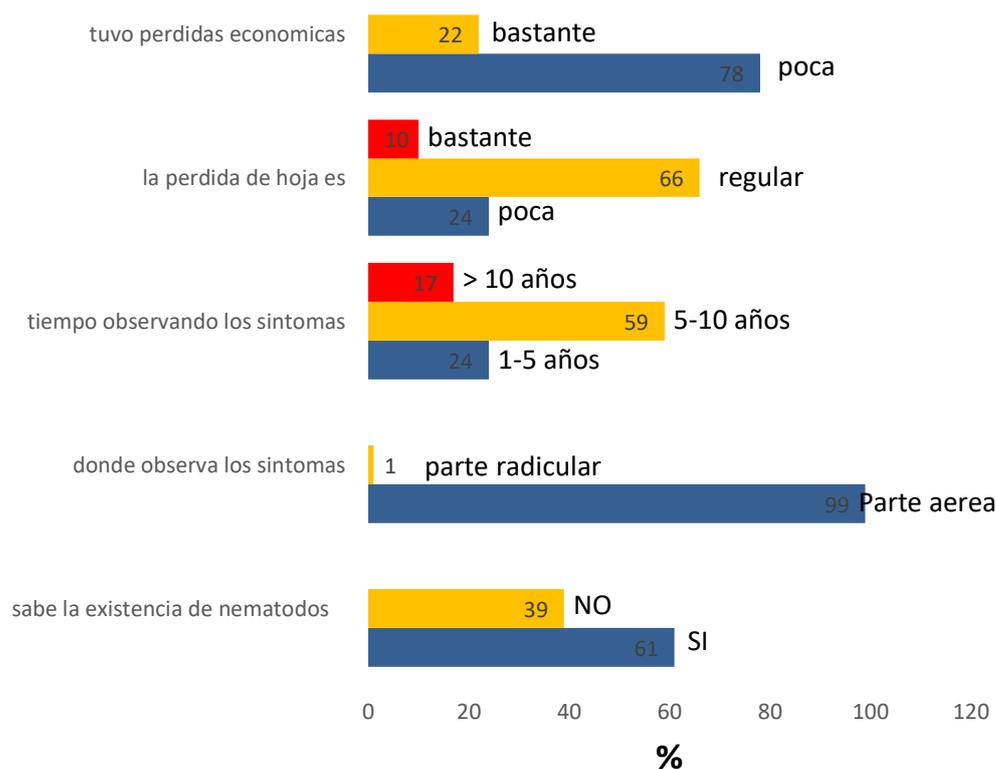


Figura 18. Resultados de la aplicación de encuestas-diagnóstico de la presencia de *Meloidogyne* spp en el distrito de San Juan del Oro.

Contrastando este resultado con Cruz, (2012) quien identificó a través de encuestas en tres municipios cafetaleros del estado de Veracruz que el 54% de los encuestados han observado afectaciones por nemátodos en plantas de café, porcentajes muy semejantes a los nuestros pero diferentes respecto a la antigüedad de observado los síntomas, pues encontró que el 64% de sus encuestados ha observado los síntomas entre 1 a 5 años y solo el 18% lo observo entre 5 a 10 años. En tanto, estando los nemátodos establecidos por mayor tiempo la diseminación de estos será mayor, aun en nuevas plantaciones ya que el 52% ha observado crecimiento pobre en plantas recién sembradas, pues no realizan el tratamiento adecuado a los suelos, por ende, continuara el problema de fitoparásitos en cafetales ya que los caficultores necesitan capacitación sobre la sintomatología y los daños que ocasionan los nemátodos; además de buenas prácticas de manejo.

Godoy *et al.*, (2002) refiere que la sintomatología que originan los nemátodos en las plantas fácilmente se puede confundir con los de otros patógenos siendo necesario realizar un análisis nematológico para determinar si las poblaciones se relacionan a problemas ocasionados por nemátodos; sin embargo, Crozzli (2002), indica que el género

Meloidogyne se caracteriza por formar nódulos en las raíces de los cafetales, de igual forma Talavera (2003), refiere que los efectos de los nemátodos fitoparásitos de plantas sobre los cultivos se subestiman frecuentemente por agricultores y técnicos agrícolas debido a los síntomas inespecíficos que producen, que suelen confundirse con desordenes nutricionales, estrés hídrico, problemas de fertilidad del suelo, así como con otras infecciones secundarias causadas por hongos y bacterias, cuya entrada suele estar facilitada por la acción del nemátodo.

Los productores desconocen que uno de los mayores daños que ocasionan estos fitoparásitos es que al ser endoparásitos sedentarios rompen la estructura del tejido de la raíz, dejando susceptible a la planta a ser atacada por hongos, bacterias; tanto en el la parte radical y la parte aérea; además, inyectan secreciones (toxinas) para alimentarse y cumplir su ciclo.

4.2. Identificación de los principales géneros de nemátodos fitoparásitos presentes en cultivo de café del distrito de San Juan del Oro.

En la presente investigación con la metodología de centrifugación con solución sacarosa se identificaron en muestras de suelo los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema* y *Dorilaymus*, como fitoparásitos de cafetales en 15 sectores del Distrito de San Juan del Oro. Se encontraron también nemátodos de vida libre como microfauna del suelo; cuyas características se describen a continuación.

4.2.1. Características morfológicas y morfométrica del género *Meloidogyne*

Individuos del estado juvenil extraídos de muestras de suelo se observaron con las siguientes características: parte anterior redondeada como en punta roma y la porción posterior aguzada, con cuerpo vermiforme de 383.50 μm de longitud total (Figura 19a) y diámetro de 13.5 μm , resultados que son comparados con la investigación de Flores *et al.*, (2017) quien encontró individuos del estado juvenil con la parte anterior conoide a redondeada con terminación estrecha y redondeada, con una longitud promedio del cuerpo de 364.48 μm , las diferencias respecto a la longitud del cuerpo del nemátodo podría estar en relación con el ámbito de muestreo pues este autor realizo su investigación en la sierra donde las temperaturas varían hasta 17 °c siendo climas más fríos que el ámbito de estudio de esta investigación ya que el distrito de San Juan del Oro presenta

temperaturas que varían de 13°C a 25 °C entendiéndose que los individuos se desarrollan más en climas cálidos.

Por otro lado, el resultado obtenido en esta investigación se acerca más a los resultados de Flores & López (1989), quienes indican que en cuatro poblaciones evaluadas en Costa Rica la longitud promedio del cuerpo varió desde 371 a 392 μm , para larvas del segundo estadio de *Meloidogyne exigua*; ubicando entre estos rangos los resultados de este trabajo, la aproximación de las longitudes podría ser porque este autor también realizó su evaluación en cultivo de café. Así mismo Escalona *et al.*, (2006) detalla en su investigación que la longitud de cuerpo para *Meloidogyne incógnita* presentó un rango de 342-420 μm , siendo longitudes un tanto mayores, estas diferencias podrían ser por variabilidad de las especies identificadas.

Además, en esta investigación se observó el estilete con un diámetro de 11.2 μm (Figura 19b), con nódulos prominentes y redondeados y un disco labial pequeño y redondeado. Longitud que están entre los rangos que encontró Escalona *et al.*, (2006) que es de 10-12 μm , así también Flores & López (1989), encontraron individuos con una longitud de estilete de 9.1 a 10.2 μm siendo muy próximo a nuestros resultados.



Figura 19. Biometría del género *Meloidogyne* J2, a) largo del cuerpo b) largo del estilete laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

Las hembras se observaron con una coloración blanca lechosa como una perla y también blanco translucido dentro de raíces de café (Figura 20b) que presentaron una longitud del cuerpo de 428.9 μm , con un cuello muy definido y alargado un cuerpo esferoidal con un diámetro de 320.7 μm (Figura 20a), se observó también el estilete con 11.5 μm , además los individuos presentaron una vulva de 16.9 μm en forma de labios. medidas que son contrastadas con Villain *et al.*, (2013) quien menciona que la hembra crece rápidamente hasta alcanzar un largo que varía de 280 a 450 μm y un ancho de 300 a 600 μm ubicando

nuestras longitudes dentro de estos rangos; además Guzmán (2007) ratifica que el género *Meloidogyne* tiene un marcado dimorfismo sexual en la cual las hembras adultas adoptan la forma piriforme a esférico, siendo esta la forma en que encontramos a los individuos en esta investigación (figura 20b), pero el género *Meloidogyne* spp no es el único género que presenta dimorfismo sexual si no también los géneros *Globodera* spp., *Rotylenchulus* spp. y *Tylenchulus* spp.; adquieren formas globosas, piriformes o reniformes Godoy *et al.*, (2002) siendo el cuello alargado una característica propia del género *Meloidogyne* spp. Características que confirman que los individuos observados en este trabajo pertenecen a este género.

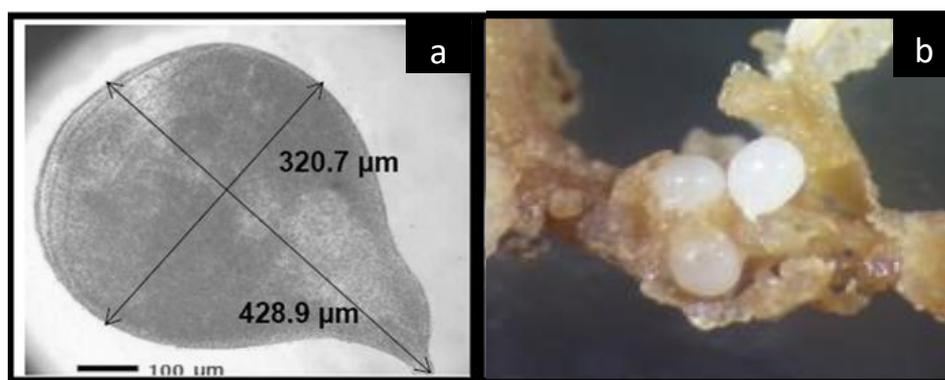


Figura 20. Biometría de la hembra adulta de *Meloidogyne exigua* a) Longitud y diámetro de la hembra b) hembra dentro de la raíz del cafeto. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, diciembre del 2016.

4.2.2. Descripción morfológica y morfométrica del género *Pratylenchus*

Este género se observó en muestras de suelo recolectadas en plantaciones de café con la parte posterior redondeada y la parte anterior lisa y de forma redondeada se pudo observar también la región labial baja con dos anillos y nódulos basales bien definidos, cuerpo vermiforme de una longitud de 552 µm (Figura 21a), siendo menor a lo referido por Flores (2017), quien reporta para este género una longitud de 682.555 µm esto podría ser por tratarse de otra especie del género *Pratylenchus* siendo los cultivos en estudio diferentes.

En cambio se aproximan a lo referido por Montiel *et al.*, (1997) quien describe para el género *Pratylenchus coffeae* una longitud máxima del cuerpo de 480-572 µm en hembras siendo esta especie un parasito del cultivo de café lo que guarda relación con este estudio, el ancho de nuestros individuos fue de 26.7 µm y un estilete fuerte de unos 14.8 µm de longitud (Figura 21b); ubicándose entre los rangos citados por Gonzaga, (2006) quien

indica que la longitud del estilete varia de 14 a 17 μm , además refiere que en todos los estadios del género *Pratylenchus* spp. Las longitudes varían de 550 a 780 μm , ubicando nuestros resultados dentro de esos rangos tratándose de *Pratylenchus* el género identificado en muestras de suelo en el cultivo de café en el distrito de San Juan del Oro.

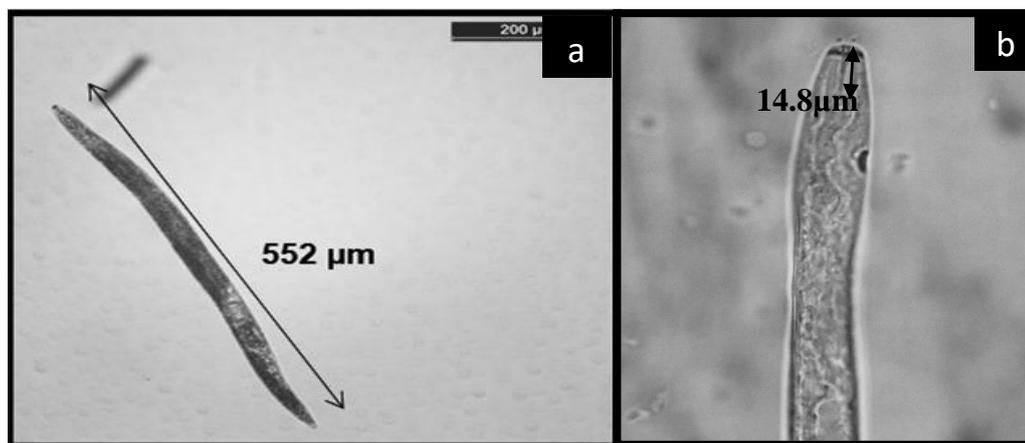


Figura 21. Biometría del género *Pratylenchus*, a) longitud del cuerpo b) longitud del estilete. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.2.3. Características morfológicas y morfométrica del género *Helicotylenchus*

Los individuos de este género fueron observados en forma de arco o espiral, con la cabeza sin estriaciones longitudinales de forma redondeada a cónica, un estilete con nódulos basales fuertes de unos 21 μm (Figura 22b). Cola corta generalmente curvada dorsalmente con una ligera proyección ventral (Figura 22c), con una longitud del cuerpo de 558 μm (Figura 22a).

Las características morfológicas antes mencionadas son contrastadas con los de Escalona *et al.*, (2006) quien menciona que este género presenta la forma espiral con una longitud promedio de 595 μm y un estilete de 23 μm , relativamente un poco más grande a la biometría de nuestros resultados. Por otro lado, Flores (2017) determina que este género presenta una longitud promedio del cuerpo de 549. 265 μm . no en tanto Schreck *et al.*, (2010) menciona que la longitud para el género *Helicotylenchus* varia de 510 a 970 μm en hembras y 530 a 700 μm en machos; y un estilete de 22 a 26 μm en hembras y 20 a 23 μm en machos, rangos en los que se encuentran nuestros resultados acercándose más a ser un espécimen macho. Además, Mai y Mullin, (1996) describen que la forma de la cabeza es redondeada a cónica lo que afirma las características en nuestras muestras; Los especímenes extraídos fueron observados en posición de relajamiento como se observa en la (Figura 22a).

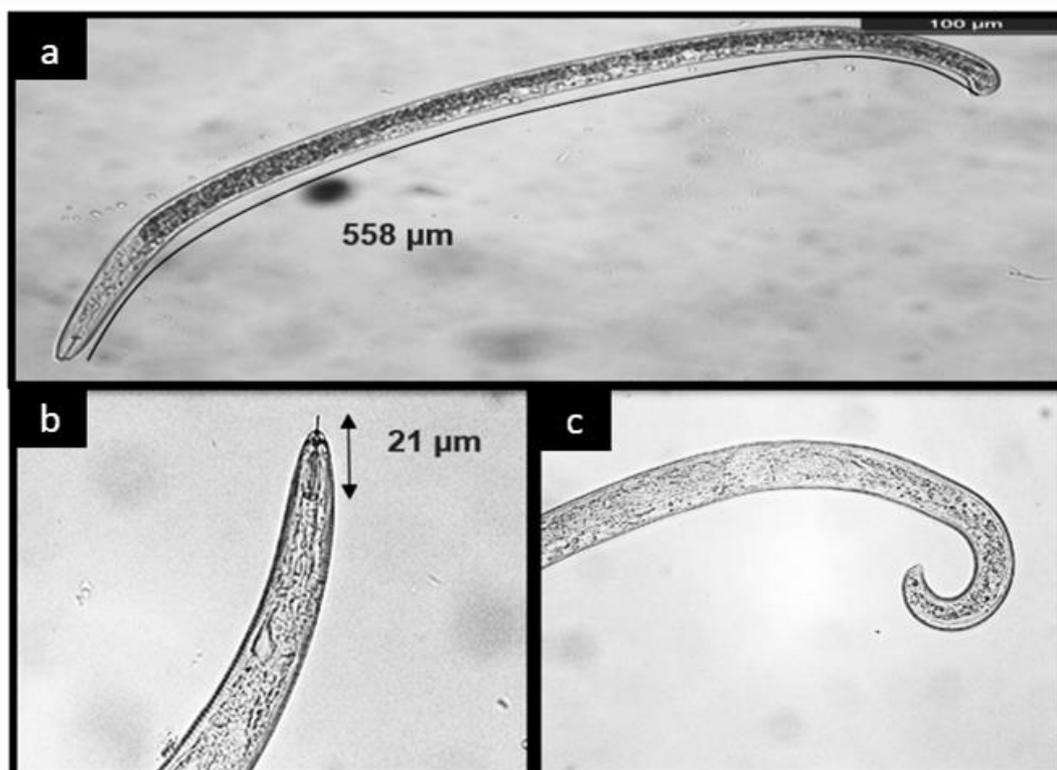


Figura 22. Biometría del género *Helicotylenchus* a) longitud de cuerpo b) forma de la cabeza y tamaño del estilete c) forma de la cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.2.4. Descripción morfológica y morfométrica del género *Mesocriconema*

En las muestras de suelo también se encontraron individuos del género *Mesocriconema* con las siguientes características: se observaron con anillos en todo el cuerpo una característica propia de este género con una longitud de 498 µm (Figura 23a), y ancho de 36 µm, además se observó el estilete bastante grande de unos 59 µm (Figura 23b). Con un disco labial y nódulos basales muy definidos y pequeños en relación al estilete; (Figura 23c) la distancia de la parte anterior hasta la vulva fue de 458 µm; la forma robusta y cuerpo corto son características de *Mesocriconema*.

resultados que son comparados con Montiel *et al.*, (1997) quien describe dentro de las características morfológicas para el género *Criconemoides* una longitud de cuerpo que varía de 490-505 µm y longitud de estilete de 54-58 µm. siendo un tanto menor a lo registrado por nuestras muestras, pero comparando nuestros resultados con Tihohod, (2000) que reporta que la longitud del estilete varía de 59 a 65 µm; rango en el cual estarían nuestros especímenes determinando que pertenecen al género *Mesocriconema*.

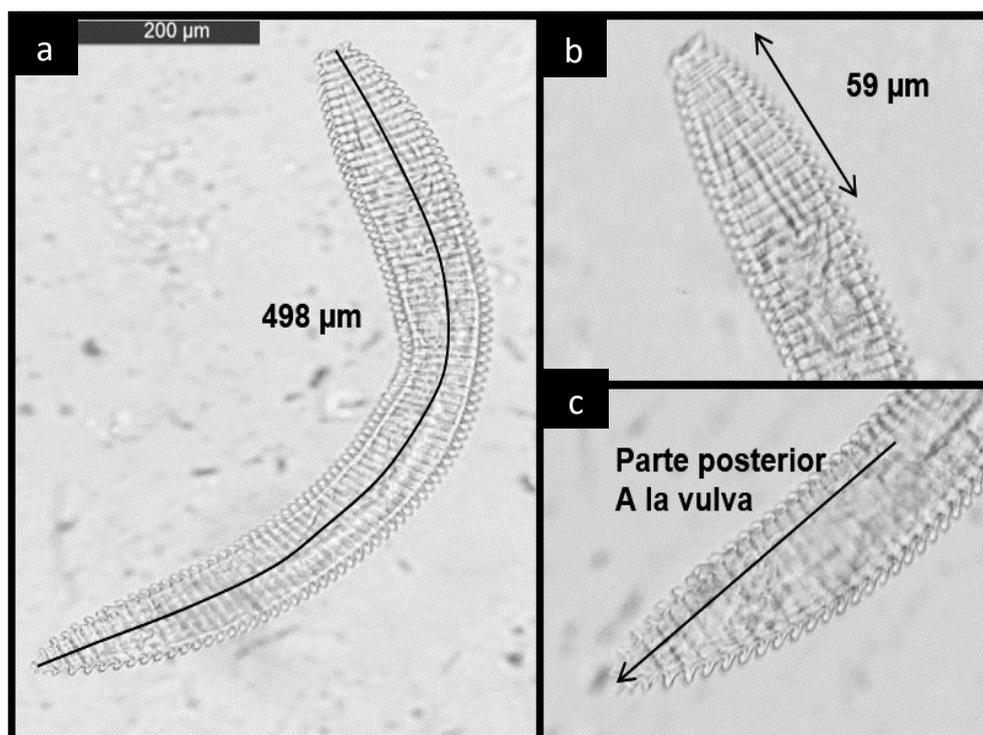


Figura 23. Biometría del género *Mesocriconema* a) longitud de cuerpo b) tamaño de estilete c) cola y vulva. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.2.5. Descripción morfológica y morfométrica del género *Xiphinema*

Se observó al género *Xiphinema* en forma de lanza, muy largos con cuerpo en estado vermiforme con una longitud de cuerpo de 2050 µm, (Figura 24a) cabeza en forma roma con pequeñas disminuciones en los laterales, un estilete bastante grande de 152.8 µm. (Figura 24b) presentaron cola puntiaguda en forma de pinzón hacia la parte ventral (Figura 24c). Las características morfológicas tienen relación con la descripción de García *et al.*, (2015) por la forma de la cabeza, cola puntiaguda, así mismo con lo citado por Ferris, (1999) quien indica que el tamaño longitudinal del cuerpo es bastante largo y el estilete de 150 µm; el cual es ligeramente menor que la medida de nuestra muestra, características que se aproximan al género *Xiphinema*. Además, SEA-IICA (1999) señalan que en la republica dominicana *Xiphinema americanum* Cobb ha sido reportado como patógeno en café (*Coffea arábica*).

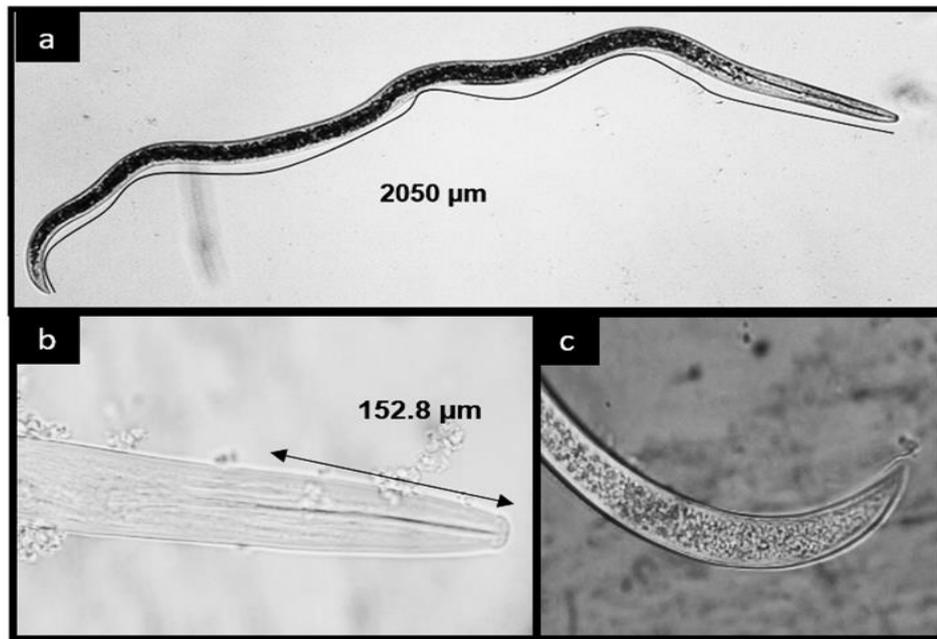


Figura 24. Biometría del género *Xiphinema* a) longitud de cuerpo b) forma de la cabeza y tamaño de estilete c) forma de la cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.2.6. Descripción morfológica y morfométrica del género *Dorilaymus*

Individuos del género *Dorilaymus* fueron observados con la región labial sentada en una constricción profunda con un estilete de 196.7 µm largo y ancho como la región labial, longitud de cuerpo de 2,007 µm, la cola ligeramente curvada y redondeada.

Características que se encuentran dentro del rango que citan Jiménez, (1988) ratificado por Sen *et al.*, (2011) quienes refieren que la longitud del cuerpo en machos y hembras es de 1, 145.5 a 2,016 µm y la longitud del estilete puede variar de 174 a 210 µm, características que nos confirman que nuestra muestra corresponde al género *Dorilaymus* (Figura 25).

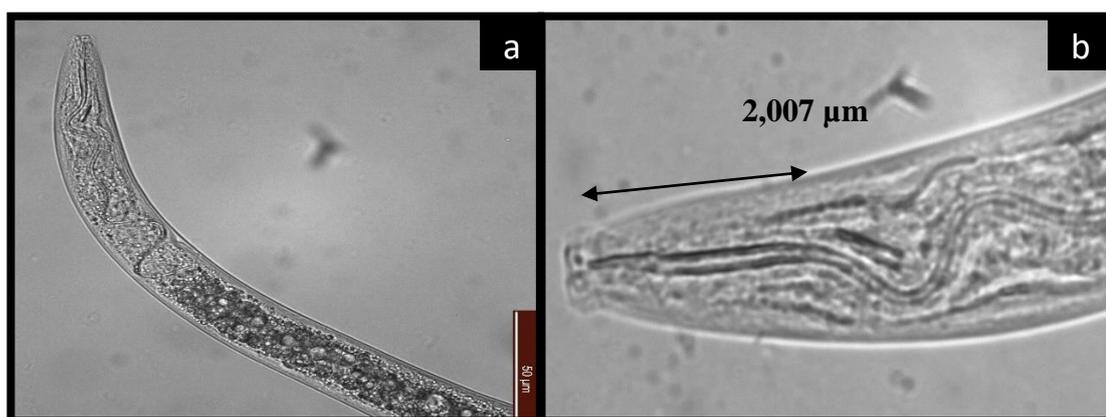


Figura 25. Biometría del género *Dorilaymus* a) parte anterior del nemátodo b) tamaño de estilete. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.2.7. Descripción de nemátodos de vida libre

Individuos con formas variadas como cilíndricos vermiformes de tamaño variables y bastante grandes, (Figura 26) no hay presencia del estilete en estos organismos tal como lo señala Ruppert y Barnes (1996) quien indica también que son grandes de unos 1,000 μm aproximadamente, son abundantes dentro de la micro fauna del suelos, también Tihohod (2000) refiere que presentan una cavidad bucal esclerotizada con un estoma cilíndrico y en algunos géneros presentan un odontóforo estas características coinciden con los individuos evaluados en el presente trabajo.



Figura 26. Formas de nemátodos de vida libre, forma de la cabeza y cola. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, octubre del 2016.

4.3 Identificación de la especie del género *Meloidogyne* por medio del patrón perineal

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

Observando características de arco dorsal ligeramente curvada con estriaciones lisas o ligeramente onduladas formando un cuadrado, no se observa estrías en la parte de la

vulva, así como tampoco es visible las líneas laterales, presenta líneas gruesas y espaciadas algunas bifurcadas, las líneas son quebradas en la parte por encima del ano, y se observa el ano muy visible en la parte superior a la vulva, pero la punta d la cola no se llega a observar, presentan forma esférica. Determinando que la especie de *Meloidogyne* a quien corresponde las características del patrón perineal es a *M. exigua* (Figura 27).

Resultados que son contrastados con Huarcacho, (2008), quien refiere que esta especie presenta forma redondeada con un arco poco elevado y cuadrado, con líneas o estrías gruesas y espaciadas las estrías cercanas al ano son gruesas y dobladas donde no se llega a observar claramente la formación del campo lateral. Además, Duran, (2012) menciona que el patrón perineal de *Meloidogyne exigua* se caracteriza por estriaciones transversales en la región latero anal; confirmando los resultados del presente estudio.

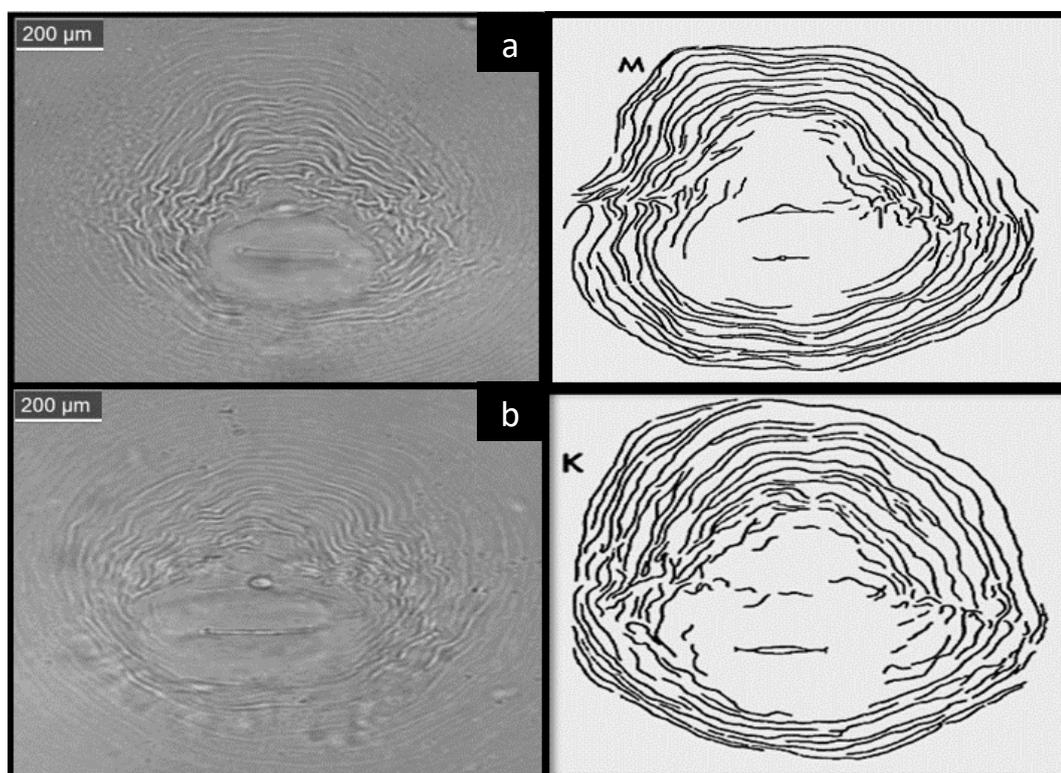


Figura 27. Patrón perineal de *Meloidogyne exigua*. a) esterase E1 b) esterase E2; M y K comparación de esquemas para la identificación del patrón perineal de *M. exigua*. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, enero del 2017.

Por otro lado, la figura 27 también es contrastado con lo referido por Chitwood (1949); Lordello y Zamith (1958); Caín (1974); Jepson (1987), es la forma redondeada a hexagonal que presentan estos patrones. El arco dorsal varía desde bajo a redondeado, un poco elevado y cuadrado. Las líneas o estrías son gruesas y ampliamente espaciadas. El campo lateral en esta especie no se llega a observar claramente; algunas de las estrías que

se encuentran cerca al ano son curvadas y dobladas que también llegan a cubrir la parte del ano. Los fasmidios se encuentran espaciados.

Además, Vergel *et al.*, (2000) en Colombia utilizó las técnicas de hospedantes diferenciales y patrones perineales permitiéndole describir las especies de *M. arenaria* y *M. javanica*. Sin embargo, las técnicas antes mencionadas e incluso la caracterización morfológica, resultan no ser tan confiables si bien es cierto la identificación del patrón perineal es una identificación clásica para el género *Meloidogyne* según lo referido por Hunt y Handoo (2009), este método comúnmente usado no siempre es exacto por la variabilidad de las características que se presentan de especie a especie. Por tal razón en este trabajo también se realizó la identificación isoenzimática de las poblaciones, para corroborar nuestros resultados de morfología y patrones perineales.

4.3.1. Identificación de la especie del género *Meloidogyne* por medio del análisis de isoenzimas de hembras de *Meloidogyne* del cultivo de café.

Se realizó en geles de poliacrilamida con enzima esterase, la posición de las bandas que se observaron en los geles fueron comparadas al padrón *Meloidogyne Javanica* esterase J3, teniendo como resultado dos fenotipos esterase, la población de *M. exigua* de una banda fenotipo esterase E1 (Rm 1,6) en 20% de las muestras (Figura 28) y de dos bandas fenotipo esterase E2 (Rm 1.6 a 1,9) en 80% de las muestras (Figura 29).

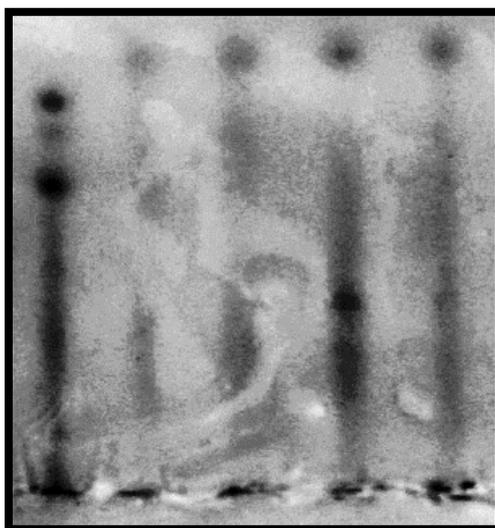


Figura 28. Bandas fenotipo de *M. exigua* E1, de isoenzimas en gel de poliacrilamida. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.

Tabla 5. Movimiento relativo del fenotipo esterase (E1), Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.

Rm (x 100)	<i>M. javanica</i>	<i>M. exigua</i>
banda esterase		
1.9		
1.8		
1.7		
1.6		—
1.5		
1.4	—	
1.3	—	
1.2	—	
1.1		
1	—	
0.9		
0.8		
0.7		
0.6		
0.5		
fenotipos		
estera	J3	E1

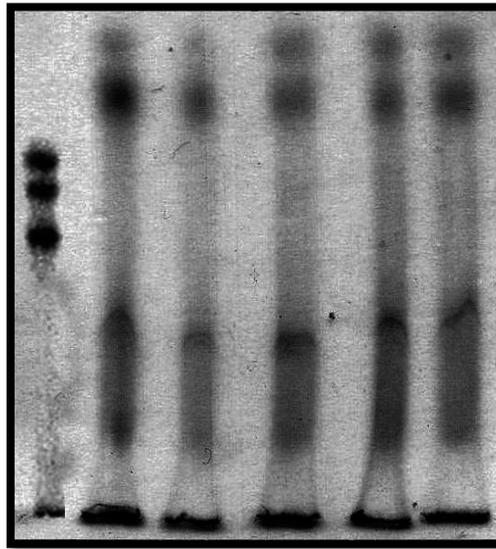


Figura 29. Bandas fenotipo de *M. exigua* E2, de isoenzimas en gel de poliacrilamida. Laboratorio de Entomología, Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.



Tabla 6. Movimiento relativo del fenotipo esterase (E2), Escuela de Ingeniería Agronómica, noviembre del 2016.

Rm (x 100)	<i>M. javanica</i>	<i>M. exigua</i>
banda esterase		
1.9		
1.8		
1.7		
1.6		—
1.5		—
1.4		
1.3	—	
1.2	—	
1.1		
1	—	
0.9		
0.8		
0.7		
0.6		
0.5		
fenotipos		
estera	J3	E2

Esbenshade y Triantaphyllou, (1985); Carneiro *et al.*, (2000). Refieren que el fenotipo esterase típico para *M. exigua*, es VF1 (Rm 1,60), el cual fue encontrado en el 20% de las muestras evaluadas. Así mismo Oliveira (2002), identifico a *M. exigua* (VF1), en 22.8% y encontró que la mayoría de la población exhibió un fenotipo de dos bandas (VF2), en 77,2% resultados muy parecidos a los obtenidos en este trabajo.

Por otro lado, Monzón (2010), determino que la especie que ataca al cultivo de café en el distrito de San Juan del Oro es *M. incognita*, especie que no fue identificada en este estudio; el resultado de este autor podría ser pues solo realizo evaluaciones morfológicas, más con el presente estudio se descarta que *M. incognita* sea la especie que se encuentra parasitando el cultivo de café en San Juan del Oro, pues es corroborado por el análisis electroforético.

Alves (2014), concluye que *Meloidogyne exigua* es la segunda especie más distribuida seguida de *M. paranaensis* siendo una de las principales especies de nemátodos de agallas en café, encontrando en cinco de las 18 muestras analizadas a *M. exigua* con fenotipo esterase E1.

Así mismo; Villain *et al.*, (2013), identificaron poblaciones de los “nematodos noduladores” del café en Centro América, mediante la enzima esterasa, once fueron los fenotipos observados de las cuales *M. exigua* fue la más distribuida.

4.4. Densidad poblacional de nemátodos en suelos del cultivo de café

El género con mayor densidad poblacional fue *Meloidogyne* con densidades que variaron entre 20.7 y 69.4 individuos/100cm³ de suelo, además la incidencia fue del 100% en todos los sectores muestreados. Ramírez, (2001) encontró 14 géneros de nemátodos en el departamento de Huánuco, de los cuales el género *Meloidogyne* presento una infestación del 100% en las fincas muestreadas al igual que nuestros resultados, sin embargo, las densidades encontradas son bajas en relación con Chávez *et al.*, (2014) quien encontró densidades de 245 a 325 nemátodos/100 g de suelo en Costa Rica. Los nemátodos de vida libre también presentaron densidades semejantes de 22.8 a 48.2 individuos/100 cm³ de suelo. Siendo sus promedios más estables en todos los sectores a diferencia de los promedios que presento el género *Meloidogyne* (Tabla 7).

La densidad poblacional promedio de *Meloidogyne* es inversamente proporcional a la población promedio de los nemátodos de vida libre es decir que en los sectores donde se encontró mayor densidad poblacional de nemátodos de vida libre la población de *Meloidogyne* es menor, y viceversa. Esto nos indica que los nemátodos de vida libre ayudan a controlar poblaciones de nemátodos fitoparásitos ya que estos organismos en conjunto con otros microorganismos del suelo ayudan a descomponer la materia orgánica y nutrientes del suelo, además son supresores de las plagas (NEMAPLEX, 2010).

Tabla 7. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de siete géneros de nemátodos encontrados en los 15 sectores muestreados del distrito de San Juan del Oro (n = 45).

SECTORES	X \pm EE							Total
	<i>Meloidogyne</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Dorlaymus</i>	<i>Vida libre</i>	
Santa Ana A	21.3 \pm 1.88	9.2 \pm 0.54	6.4 \pm 3.86	4.4 \pm 1.18	5.3 \pm 2.46	0.0	40.4 \pm 9.11	12.43 \pm 2.72
Belén	38.0 \pm 2.32	14 \pm 5.76	7.2 \pm 1.08	1.7 \pm 0.32	1.2 \pm 0.32	0.6 \pm 0.49	42.6 \pm 7.29	15.04 \pm 2.51
Nogalani	49.3 \pm 3.31	15 \pm 1.87	12.2 \pm 2.23	0.0	2.9 \pm 0.41	0.1 \pm 0.09	35.1 \pm 4.54	16.37 \pm 1.78
Yurajmayo	35.6 \pm 5.68	8.7 \pm 1.80	6.5 \pm 2.33	9.9 \pm 9.33	0.3 \pm 0.15	2.8 \pm 0.18	33.7 \pm 4.31	13.93 \pm 3.40
N. Esperanza	47.1 \pm 5.79	12 \pm 0.85	11.4 \pm 2.94	0.7 \pm 0.36	1.8 \pm 0.69	0.0	22.8 \pm 12.12	11.98 \pm 3.25
Challohuma	20.7 \pm 1.56	10.8 \pm 2.62	12.8 \pm 1.97	1.4 \pm 0.39	1.7 \pm 0.64	5.2 \pm 0.44	31.4 \pm 4.83	12.00 \pm 1.78
Lagumillas	29.5 \pm 2.86	14.8 \pm 1.80	7.7 \pm 1.60	5.6 \pm 4.82	4.6 \pm 3.83	0.4 \pm 0.36	39.7 \pm 1.74	14.61 \pm 2.43
Huycusmayo	69.4 \pm 1.08	14.1 \pm 1.01	6.8 \pm 0.69	3.1 \pm 0.39	0.0	0.0	42.1 \pm 1.23	19.36 \pm 0.63
Huayrapata	59.0 \pm 1.50	16.4 \pm 4.40	8.9 \pm 0.98	2.1 \pm 0.63	1.1 \pm 0.62	0.0	39.9 \pm 2.32	18.20 \pm 1.49
Torre Alegre	44.6 \pm 6.75	9.8 \pm 1.54	12.8 \pm 1.16	2.8 \pm 1.16	0.0	0.0	40.7 \pm 1.78	15.81 \pm 1.77
Santa Ana B	31.2 \pm 2.83	9.8 \pm 1.75	7.3 \pm 1.56	1.0 \pm 0.73	3.7 \pm 1.11	0.4 \pm 0.36	35.6 \pm 3.20	12.71 \pm 1.65
Quispicanchis	29.3 \pm 7.41	13.6 \pm 4.0	8.2 \pm 0.98	2.3 \pm 0.32	0.4 \pm 0.24	0.0	48.2 \pm 3.17	14.57 \pm 2.30
Rio Blanco	68.4 \pm 3.00	19.5 \pm 3.55	10.0 \pm 0.32	1.1 \pm 0.62	3.8 \pm 2.42	0.0	43.0 \pm 3.57	20.83 \pm 1.93
Botijani	58.1 \pm 2.70	9.3 \pm 1.52	9.2 \pm 1.58	1.7 \pm 1.43	0.4 \pm 0.18	0.0	31.9 \pm 3.25	15.80 \pm 1.52
A. Santa Rosa	43.2 \pm 4.15	16.4 \pm 1.88	6.9 \pm 1.08	3.5 \pm 0.81	3.4 \pm 1.43	3.5 \pm 0.15	23.6 \pm 1.65	14.36 \pm 1.59
Total 15	43.00 \pm 3.52	12.89 \pm 2.33	8.95 \pm 1.62	2.75 \pm 1.50	2.04 \pm 0.97	0.87 \pm 0.14	36.71 \pm 4.27	15.30 \pm 2.05

X= PROMEDIO; EE=error estándar

El sector de Huycusmayo presentó mayor densidad poblacional del género *Meloidogyne* alcanzando 69.4 individuos/100 cm³ de suelo, mientras que la densidad más baja se presentó en el sector de Challohuma con 20.7 individuos/100 cm³ (Tabla 7) sectores que se encuentra en un rango de altitud de 1300 a 1500 msnm; con suelo franco arenoso en el sector de Huycusmayo y franco arcilloso en el sector de Challohuma. Evidenciando que en un mismo rango altitudinal podemos encontrar densidades bajas como altas por tal razón la altitud no influye en la densidad poblacional de nemátodos, a diferencia de la textura de suelo evidenciando que la clase textural franco arenoso es donde existe mayor densidad poblacional.

Resultados que estarían alcanzando el umbral de daño según lo referido por Arévalo (2014), quien menciona que este género debe presentar rangos de 10 a 50 individuos/100 cm³ de suelo, por otro lado, nuestros resultados no alcanzan la densidad dañina mínima baja según Canto (1996), pues nuestros resultados no sobrepasan los 500 individuos/100 cm³ de suelo.

Así mismo, el género *Helicotylenchus* alcanzo una densidad de 19.5 individuos/100 cm³ de suelo en el sector de Rio Blanco que se encuentra en un rango de altitud entre 1700 a 1900 msnm, con suelos arenosos; mientras la densidad más baja se presentó en el sector de Yurajmayo 8.7 individuos/100 cm³ de suelo se ubica entre los rangos de 1100 a 1300 msnm, con suelos franco arcillo arenoso. Densidades que se ubican en una densidad dañina baja según los rangos establecidos por Canto (1996), quien menciona que la densidad dañina mínima para el género *Helicotylenchus* es de 0 – 50 individuos/100 cm³.

Las densidades poblacionales de los géneros de *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Dorilaymus* y *Xiphinema*, no sobrepasan el umbral de daño ya que las densidades poblacionales no sobrepasan de 15 individuos/100 cm³ de suelo (Tabla 7).

4.5. Distribución espacial de las poblaciones del género *Meloidogyne* en el cultivo de café en San Juan del Oro, por la altitud y tipo de suelo.

No existe diferencias significativas entre rangos de altitud ($P > 0.707$), pero sí existe diferencia significativa en cuanto a la textura de suelo ($P > 0.0001$), siendo la presencia de *Meloidogyne* sp. mayor en suelos Franco arenosos (Tabla 9) lo que significa que este tipo de suelos son más propensos a mantener mayores niveles de infestación por el nemátodo. En cambio, suelos con textura arcillosa tienen menores frecuencias del nemátodo. Los

sectores que mostraron densidades promedio más altas (Tabla 8) presentaron suelos de textura franco arenoso, este género generalmente presenta una distribución agregada negativa; más que otros géneros (Herve *et al.*, 2005).

Tabla 8. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de *Meloidogyne* sp en 15 sectores del distrito de San Juan del Oro.

SECTORES	N	Media \pm EE	CV (%)
Nogalani	3	49,33 \pm 3,32	11.65
Nueva Esperanza	3	47,10 \pm 5,80	21.33
Santa Ana A	3	21,33 \pm 1,88	15.33
Yurajmayo	3	35,63 \pm 5,70	27.70
Belén	3	38,06 \pm 2,32	10.56
Challohuma	3	20,70 \pm 1,55	12.94
Lagunillas	3	29,53 \pm 2,86	16.79
Huycusmayo	3	69,43 \pm 1,07	2.66
Huayrapata	3	59,03 \pm 1,50	4.40
Torre Alegre	3	44,60 \pm 6,73	26.14
Santa Ana B	3	31,20 \pm 2,82	15.70
Quispicanchis	3	29,36 \pm 7,40	43.69
Rio Blanco	3	68,33 \pm 3,00	7.61
Botijani	3	58,13 \pm 2,71	8.08
Alto Santa Rosa	3	43,20 \pm 4,16	16.68
Total	45	43,00 \pm 2,43	38.02

EE=error estándar CV=coeficiente de variabilidad

Tabla 9. Análisis de varianza para la distribución de *Meloidogyne* con la altitud y la textura de suelo.

Fuente de variación	GL	SC tipo III	CM	F Cal	significación	
Modelo	8	87815,203(a)	10976,900	56,746	,0001	*
Altitud	3	271,322	90,441	,468	,707	NS
Textura	1	3164,156	3164,156	16,357	,0001	*
Altitud *	3	264,693	88,231	,456	,715	NS
Error	37	7157,257	193,439			
Total	45	94972,460				

R cuadrado = ,925 (R cuadrado corregida = ,908)

GL= Grados de libertad S.C.=Sumatoria de cuadrados; CM= Cuadrado medio;

F Cal=F Calculada; * = Significativo; NS= No significativo

4.5.1. Distribución según altitud

No se encontró significancia de la densidad poblacional con respecto a los rangos altitudinales (Tabla 9); la densidad entre el rango altitudinal de 1700 a 1900 msnm fue de 51.36 individuos/100cm³ de suelo, siendo la media más alta (Tabla 10). Estos resultados

son contrarios a lo mencionado por Condori (2000), quien en su estudio de tesis en tres pisos altitudinales evaluados encontró con más frecuencia y abundancia a *Meloidogyne*, en el piso altitudinal III comprendido entre los 800 a 1100 m.s.n.m. donde encontró 88 individuos/100 cm³ de suelo; que en el piso altitudinal I comprendido entre los 1500 a 1900 m.s.n.m. donde observo 42 individuos/100 cm³ de suelo. Estas diferencias podrían deberse a los rangos establecidos por este autor, siendo desde los 800 msnm. Piso altitudinal que no se evaluó en esta investigación.

Tabla 10. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de *Meloidogyne* sp Por diferentes rangos altitudinales (n=45)

Rangos	N	Media \pm EE	CV (%)
1100-1300	11	36,72 \pm 4,17	37.7
1300-1500	13	43,63 \pm 4,94	40.9
1500-1700	11	40,92 \pm 4,93	39.9
1700-1900	10	51,36 \pm 4,90	30.2
Total	45	43,00 \pm 2,43	38.0

EE=error estándar CV=coeficiente de variabilidad

a) Análisis de regresión lineal entre altitud y densidad de *Meloidogyne*

La correlación Pearson muestra un $r = 0.27$, que indica no existir dependencia entre la altitud y la presencia del nemátodo, No existe regresión significativa. Es decir, la altitud no influencia de manera importante y significativa la presencia de *Meloidogyne* sp (Tabla 11).

Tabla 11. Modelo del análisis de regresión lineal entre altitud y densidad de *Meloidogyne* ($p < 0.05$)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,274(a)	,075	,053	15,91149

(a) Variables predictoras: (Constante), altitud

4.5.2. Distribución según textura de suelo

La diferencia significativa que presentó la densidad poblacional de *Meloidogyne* sp. con respecto a la textura de suelo (Tabla 9), la clase textual franco arenoso presento una media de 51.03 individuos/100cm³ de suelo (Tabla 12); se debe a que las larvas se mueven a través de los poros del suelo este movimiento se imposibilita cuando los espacios porosos

son muy pequeños a tal extremo de impedirles a los nemátodos desplazarse en ellos, tal como ocurre en los suelos arcillosos.

Lo mencionado es comparado con Wallace (1987), quien indica que el “nemátodo del nódulo de la raíz” es más severo en suelos arenosos que en suelos arcillosos. En un experimento realizado en Arizona (Estados Unidos) se observó que el nemátodo del nódulo de la raíz provocó daño severo a los cultivos de algodón sembrados en suelos con 50% o más de arena y en suelos limo arcillosos hubo pocos nódulos. Además, muchos autores coinciden que en suelos con gran porcentaje de arcilla el daño es mínimo y es máximo en suelos arenosos

Tabla 12. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de *Meloidogyne* sp Por texturas de suelo (n=45)

Texturas	N	Media \pm EE	CV (%)
Franco arcilloso	19	32,01 \pm 2,53	34.55
Franco arenoso	26	51,03 \pm 2,93	29.31
Total	45	43,00 \pm 2,43	38.02

EE=error estándar CV=coeficiente de variabilidad

Así mismo, Magunacelaya y Dagnino (1999), refieren que la textura del suelo es otro factor de importancia pues la distribución y la severidad del ataque del nemátodo dependen de ella. El daño y pérdidas de producción por nemátodos noduladores de la raíz son generalmente más severos sobre suelos de textura arenosa ya que en suelos arcillosos, la eclosión disminuye y el desplazamiento del nemátodo se hace más lento.

4.5.3. Comparación entre las densidades de *Meloidogyne* sp según sectores

Existen sectores que tienen una mayor incidencia de infestación de *Meloidogyne* sp y otras que son inferiores, ($P > 0.0001$) (Tabla 13), Estos resultados podrían estar relacionados con el nivel de manejo y protección que hace cada agricultor o por la clase textural de cada sector ya que en los sectores donde hubo mayor incidencia de *Meloidogyne* los suelos fueron de clase textural arenosa siendo lo contrario en los sectores donde hubo menor incidencia que presentaron suelos franco arcilloso.

Tabla 13. Análisis de varianza de la densidad poblacional de *Meloidogyne* por sectores

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	Significancia
sectores	10313,713	14	736,694	15,203	,0001
Error	1453,747	30	48,458		
Total	11767,460	44			

GL= Grados de libertad S.C.=Sumatoria de cuadrados; CM= Cuadrado medio; F Cal=F Calculada; * = Significativo; NS= No significativo

La prueba de Tuckey (Tabla 14). Evidencia que los sectores con mayores infestaciones del nemátodo son Huycusmayo (69,43 individuos/100cm³) y Rio Blanco (68,43 individuos/100cm³), y los sectores con menores incidencias de *Meloidogyne* sp son Challohuma (con 20.7 individuos/100cm³) y Santa Ana A (con 21,33 individuos/100cm³), lo que indica que estas últimas presentan condiciones menos adecuadas para el nemátodo. En general, los demás sectores presentan infestaciones regulares y similares.

Tabla 14. Promedios generales de la densidad (\pm error estándar) de *Meloidogyne* sp en 15 sectores del distrito de San Juan del Oro. Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas a la Prueba de Tuckey.

SECTORES	N	Media \pm EE	CV (%)	Significancia (Tuckey $\alpha = 0.05$)
Huycusmayo	3	69,43 \pm 1,07	2.66	A
Rio Blanco	3	68,33 \pm 3,00	7.61	A
Huayrapata	3	59,03 \pm 1,50	4.40	AB
Botijani	3	58,13 \pm 2,71	8.08	ABC
Nogalani	3	49,33 \pm 3,32	11.65	ABC
Nueva Esperanza	3	47,10 \pm 5,80	21.33	BCD
Torre Alegre	3	44,60 \pm 6,73	26.14	BCD
Alto Santa Rosa	3	43,20 \pm 4,16	16.68	BD
Belén	3	38,06 \pm 2,32	10.56	CDE
Yurajmayo	3	35,63 \pm 5,70	27.70	DE
Santa Ana B	3	31,20 \pm 2,82	15.70	DE
Lagunillas	3	29,53 \pm 2,86	16.79	DE
Quispicanchis	3	29,36 \pm 7,40	43.69	DE
Santa Ana A	3	21,33 \pm 1,88	15.33	E
Challohuma	3	20,70 \pm 1,55	12.94	E
Total	45	43,00 \pm 2,43	38.02	

EE=error estándar CV=coeficiente de variabilidad

4.5.4. Mapa geográfico de distribución del género *Meloidogyne*

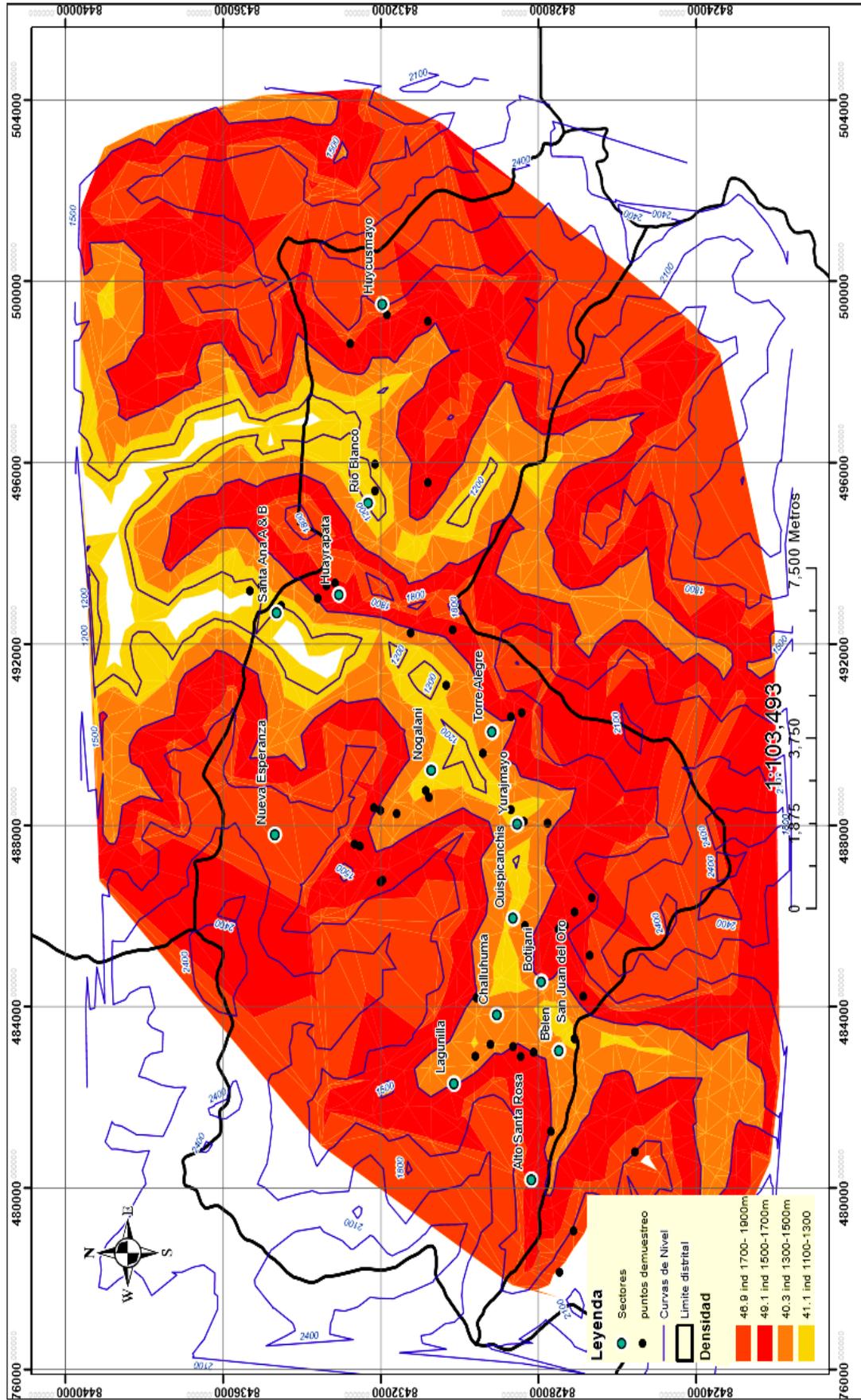


Figura 30. Distribución geográfica del género *Meloidogyne* en el distrito de San Juan del Oro.

4.5.5. Mapa geográfico de distribución de los géneros identificados en el cultivo de café de San Juan del Oro



Figura 31. Mapa de distribución de los géneros de nemátodos identificados en el distrito de San Juan del oro

CONCLUSIONES

- 1) En base a las encuestas se identificó los sectores de Huycusmayo y Rio Blanco con mayor densidad poblacional, apreciándose que los caficultores del distrito de San Juan del Oro no reconocen la sintomatología ocasionada por nemátodos.
- 2) Se identificaron seis géneros de nemátodos fitoparásitos en el cultivo de café como *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Dorilaymus*, en 15 sectores del distrito de San Juan del Oro. Además de nemátodos de vida libre, siendo el de mayor incidencia el género *Meloidogyne* sp.
- 3) Se identificó morfológicamente e isoenzimáticamente la especie *M. exigua* (esterase E1) en 20% y *M. exigua* (esterase E2) en 80%; como parásito del cultivo de café en el Distrito de San Juan del Oro.
- 4) la densidad poblacional del género *Meloidogyne* sp. Se ve influenciada por la textura de suelo franco arenoso, siendo estos suelos propicios para los fitonemátodos; más la altitud no influye en la densidad poblacional del género *Meloidogyne* sp.

RECOMENDACIONES

- 1) A futuros tesisistas, Realizar la prospección y la identificación de nemátodos fitoparásitos en los sectores que no fueron muestreados en la presente investigación del distrito de San Juan del Oro, aplicar las encuestas a los técnicos y especialistas del Proyecto Café.
- 2) A futuras investigaciones, se recomienda identificar las especies de los géneros de nemátodos fitoparásitos identificados en esta investigación; así mismo, evaluar la resistencia de las diferentes variedades de *Coffea arábica* café con diferentes poblaciones de *M. exigua*, en el distrito de San Juan del Oro.
- 3) A los productores de café del distrito de San Juan del Oro tener precaución con las herramientas de trabajo que son utilizadas en campo y provienen de otras áreas, ya que son un medio de diseminación de estos fitoparásitos.
- 4) A los especialistas del Proyecto Café; capacitar a los caficultores del distrito de San Juan del Oro en relación a la sintomatología y daños que ocasionan los fitonemátodos fitoparásitos; así mismo planificar medidas de prevención para evitar la diseminación de *M. exigua*.

REFERENCIAS

- Abad, P. Favery, B. Noelle, R. M. and Philippe Castagnone-S. (2003). Root-Kenot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology* 4(4), 217-224.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology (Fifth Edition ed.)*. USA: Elsevier Academic Press, New York. Publications.
- Alves, C. F. (2014). Especies de *Meloidogyne* GOELDI en Cafeeiro no Municipio de Araguari-MG. Facultad de Ciencias Agrarias e Veterinarias-Universidad de Estadual Paulista – UNESP Campus Jaboticabal, 51
- ANACAFE, Asociación Nacional del Café. (2013). El cafetal la revista del caficultor. Edición N^a 35, abril-junio. 24p
- Andrés, M. F. (2003). Nemátodos parásitos de plantas en suelos agrícolas. Localización: Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal, ISSN 1131-8988, N^o 149, 2003, 33-42.
- Arévalo, M. (2014). Umbrales de acción para nemátodos fitoparasíticos. Laboratorio Agroexpertos. Ciudad de Guatemala, Guatemala.
- Arias. Y, Gonzales. I, Rodríguez. M, Rosales. C, Suarez. Z, Peteira. B. (2009). Aspectos generales de la interacción tomate (*Solanum lycopersicum* L.) *Meloidogyne incognita*. *Protección Vegetal*. Vol. 24 N^o 1, 1-13.
- Barbosa, D. H. Vieira, H. D. Souza, R. M. Viana, A. P. & Silva, C. P. (2004). Field estimates of coffee yield Losses and Damage Thershold by *Meloidogyne exigua*.
- Cain, S. C. (1974). *Meloidogyne exigua*. C.I.H. descriptions of plant–parasitic nematodes. Set 4, # 49, Commonwealth Institute of Helminthology, Herts
- Campos, V.P. Savapalan, P. y Gnanapragasam, N.C. (1990). Nematode Parasites of Coffee, Cocoa and Tea. Chapter 12 Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agricultura M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge (eds) cab International 387-400.
- Canto, M. (1996). Curso de nemátodos parásitos de plantas. Escuela de Posgrado. Especialidad de Fitopatología. UNALM. Lima – Peru. 98p.
- Cardona, O. L. H. (2003). Sistemas de Producción de Café Sostenible Tomo 2. Fundación Manuel Mejía. 40p.
- Carneiro, R. M. D. G; Almeida, M. R. A. (2000) Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecifica dos nematóides de galhas do Cafeeiro no Brasil. *Proceedings I Simp Pesqu Cafés Brasil*: 280–282

- Carneiro, R. M. D. G., & Almeida, M. R. A. (2001). Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, 25(1), 35-44.
- Carneiro R.M.D.G. y Cofcewicz E.T. (2008). Taxonomy of coffea-parasitic root-knot Nematodes, *Meloidogyne* spp. en: Souza R.M. (ed.), *Plant-Parasitic Nematodes of Coffee*. Springer Netherlands, 87-122.
- Castillo, P. L. (2003). Diagnóstico del cultivo de café en las cuencas de los ríos Tambopata e Inambari proyecto PTI-Puno. Línea de base cultivo de café CECOVASA. Puno-Perú. 153.
- CENICAFE, Centro Nacional de Investigaciones de Café. (2005). Avances técnicos 337, Castillo: Nueva variedad de café con resistencia a la roya.
- CEPICAFE. (2008). MANEJO FITOSANITARIO EN EL CULTIVO DE CAFÉ. “Mejoramiento de la productividad del cultivo de café de las organizaciones socias de CEPICAFE, en la sierra de Piura. EQUAL EXCHANGE.
- Chávez, G. M. E; Esquivel, H. F. A; Soto, C. S. G. (2014). Densidad y Diversidad de Nemátodos de suelo en el cultivo de Café. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 43-62.
- Christie, J. (1952). Nemátodos de los Vegetales, su Ecología y Control. Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional (A.I.D), México/Buenos Aires.
- Chitwood, B. G. (1949). Root-knot nematodes. I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi 1887. *Proc. ilelminthol. Soc. Wash.* 16:90-104.
- CICAFE, Centro de Investigaciones en Café. (2011). Guía Técnica para el Cultivo del Café. Instituto del Café de Costa Rica. 72
- Ciriaco, M. (2012). Manual Técnico Producción de Cafés Especiales. Selva Central Lima Perú. 46p.
- Coob, N. A., G. Steiner & J. R. C. (1924). Agamermis decaudata Cobb, Steiner and Christie, a nema parasite of grasshoppers and other insect. *Journal of Agricultural Research* 23: 921-926.
- COMUNICAFE. (2011). Principales enfermedades y plagas del café de Honduras. Departamento de Investigacion y Desarrollo.
- Condori, N. (2000). Diagnostico de nemátodos en dos variedades de café (*Coffea arabica*) en canton Taipi Playa de la Provincia Caranavi. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andres (UMSA). La Paz, Bolivia.

- Coolen. W. A & D`Herde. C. J. (1972). A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent State Agriculture Research Centre.
- Coyne, D., Nicol, J. y Claudius-Cole, B. (2007). Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio. Instituto Internacional de Agricultura y el Centro Internacional de Mejora del Maíz y trigo. Cotonou, Benin, 82.
- Crozzoli, R. 2002. Especies de nemátodos fitoparasíticos en Venezuela. Vol 27. n 7. P 354-364.
- Cruz Hernández L. (2012). Identificación del nemátodo agallador de la raíz del cafeto en la Región Centro de Veracruz. Tesis de Licenciatura, Universidad Veracruzana. 39 p.
- Damalso, A; Berge, J.B. (1978). Molecular polymorphism and phylogenetic relationships in some *Meloidogyne* spp. Journal of nematology vol.10 (4): 323-331.
- Decraemer W, Hunt D. J. (2006). Structure and classification. In: Perry RN, Moens M (eds) Plant nematology. CABI Publishing, Wallingford, pp 3–32.
- De Ley, P. y Blaxter, M. L. (2004). Systematic position and Phylogeny in The Biology of Nematodes (ed. Lee D.) 1-30 Taylor y Francis, London, UK.
- De Waele, D. G. R y Davide, G. (1998). Nemátodos noduladores de las raíces del Banano *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 *Meloidogyne javanica* (Tieub, 1885) Chitwood, 1949. Plagas de Musa. Hoja divulgativa N° 3. INIBAP, Montpellier, Francia.
- Dickson, D W; Sasser, J N; Huisingh, D. (1970). Comparative dis – electrophoretic protein analyses of selected *Meloidogyne*, *Dytilenchus*, Heterodera and *Aphelenchus* spp. Journal of Nematology vol. 2 (4):286-292.
- Di Vito, M., R. Crozzoli y N. Vovlas. (2000). Patogenicidad de *Meloidogyne exigua* en café (*Coffea arábica* L.) en maceteros. Nematropica 30:55-61.
- Duran, M. J. (2012). Diagnóstico y dinamica poblacional, caracterización bioquímica y molecular de nemátodos noduladores (*Meloidogyne* spp.) en cultivos tropicales de Costa Rica. Informe Final de Investigación. (CIDASTH). p 38.
- Esbenshade, P. y Triantaphyllou, A. (1985). Use of enzyme Phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 17. 6-20.
- Escalona, Yoleidy, Rodríguez, Dorian, Contreras, Nancy, Jiménez, Nixon. (2006). Patógenos del suelo en el cultivo de pimentón en la zona baja del Municipio Jiménez, Estado Lara, Venezuela Bioagro., 18 Disponible en: ISSN 1316-3361

- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Memorias del seminario científico internacional: Manejo Agroecológico de la Roya del Café. Panamá. 96p
- Ferris, H. (1999). Nematode Plant Expert Information System (NEMAPLEX). University of California. Recuperado de: <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/index.htm>
- Flor, P. M. E. (2013). Uso de agentes de control y protección biológica frente a nemátodos del género *Meloidogyne* en cultivos protegidos bajo plástico. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Granada. 345.
- Flores, L. y López, R. (1989). Caracterización Morfológica del Nemátodo Nodulador del Cafeto *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). Turrialba Vol. 39, N° 3, 352-376.
- Flores, C. Y. F. (2017). Caracterización del nemátodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la región Puno. 142.
- Flores, C. Y. Y., Bravo, P.R. & Medina, I. L. (2017). Prospección de Nemátodos Fitoparasitos en cultivo de Papa (*Solanum Tuberosum* L.) de la Región Puno. Revista de Investigaciones Altoandinas-Journal of High Andean Research, 19(1), 11-20.
- García, S. J. M. (2012). Densidad y diversidad de nemátodos en sistemas agroforestales de café en asocio con bananos y sombra de leguminosas en Jinotega, Nicaragua. Tesis de Maestría. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza Turrialba, Costa Rica, 94.
- García, S. Maya, J.D. Martinez, M. Reinoso, T. (2015). *Xiphinema Americanun* Cobb. (nemátodo daga) asociado al Aji (*Capsicum annum* L.) en la Republica Dominicana Revista APF. 4(1): 33-36.
- Godoy, R. C. B., Scotti, C. A. y bueno, L. A. P. (2003). A Batata no estado do Paraná. P. 23-25. In Pereira, A. da S., Daniels, J. O cultivo da batata na Regiao Sul do ais. 1 ed. Brasilia: EMBRAPA.
- Goeldi, E. A. X. (1887). Relatoría sobre a nolestia do cafeeiro na provincia do Rio de Janeiro. Apparently an advance separate of: Arch. Mus. Nac. Rio de Janeiro 8:7-121.
- Gomez, M. y Montes, M. (2000). Manejo de Nemátodos Endoparasitos: Proyecciones Futuras.
- Gonzaga, V. (2006). Caracterización morfológica y multiplicación in vitro de seis especies más comunes de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocurren en Brasil. Univesidade Estadual Paulista Campus De Jaboticabal Faculta de Ciencias Agrarias E Veterinarias-Brasil, 94.
- Guzmán, G. B. (2007). Identificación de las especies de *Meloidogyne* spp que infectan al melón, Chile y tomate en la Comarca Lagunera mediante observación de características

morfológicas. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. 41.

Guzmán, P. A. Castaño, Z. J, Villegas, E. B. (2012). Principales nemátodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. *Agronomía*. 20(1): 38-50.

Guzmán, H. T; Durán, M, J; Montero, C. W; Vargas, C. H; Castro, J. Z; Carvajal, V. D; León, A. D. (2014). Diagnóstico y dinámica poblacional de nemátodos fitoparásitos en dos sistemas de cultivos de piña en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 27, N° 2. P 58-81.

Hartman, K. M.; Sasser, J N. (1985). Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology An advanced treatise on *Meloidogyne* vol. II North Carolina State University Graphic. 69-77.

Heredia, B. (2011). Aspectos generales sobre el cultivo de café. ICAFE (Instituto del café de Costa Rica). Costa Rica. 72p.

Herve, G. Bertrand, B. Villain, L. Licardie, D. Cilas, C. (2005). Distribution analyses of *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus coffeae* sensu lato in coffee plots in Costa Rica and Guatemala. *Plant Pathology*. 54, 471-475.

Hiroshi Sera, Tumoru Sera, João Siqueira da Mata, Clayton Ribeiro Alegre, Inês Cristina de Batista Fonseca, Dhalton Shiguer Ito, Fabio Seidi Kanayama and Paulo Cristiano Barreto. (2009). Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode *Meloidogyne paranaensis*, ARTICLE in CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY.

Huarcacho, N. J. C. (2008). Evaluacion de la Resistencia de Variedades mejoradas de café, al ataque de tres poblaciones de Fitonemátodos agalladores *Meloidogyne* spp., en la Provincia Caranavi Departamento de la Paz. Tesis de Grado. Universidad Mayor de San Andres. La Paz, Bolivia. P 125.

Hunt, D., y Handoo, Z. (2009). Taxonomy, identification and principal species. In Perry, R; Moens, M; Star, J. eds. Root-Knot nematodes. London, UK. CAB International, 55-88.

Hussey, R. S. and K. I. Barker. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis. Rept.* 57:1025-1028.

Ibrahim S. K, Perry R. N. (1992). Desiccation survival of the rice stem nematode *Ditylenchus angustus*. *Fund Appl Nematol* 16:31-38

INEI, Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2017). Nota de prensa. Día del café peruano: conoce más de este grano aromático en cifras. Recuperado de <http://rpp.pe/economia/economia/dia-del-cafe-peruano-conoce-mas-de-este-grano-aromatico-en-cifras-noticia-990170>.

- INFOCAFE, Infocafe.es. (2015). Principales productores de café del Mundo. Recuperado de <http://www.infocafe.es/cafe/principales-productores-cafe.php>.
- Jepson, SB. (1987). Identification of root-knot nematode (*Meloidogyne species*). Wallingford, UK, CAB international. 265.
- Jenkins, W. 1964. A rapid centrifugal – flotation technique for separating Nematodes from soil. Plant disease reporter, v. 48. 692 p.
- Jiménez-Guirado, D. (1988). Especies de *Dorylaimus* Dujardin, 1845 (Nematoda) del sur de España. Misc. 2001. 12: 33 – 39.
- Jobert C. (1878). Sur une maladie du cafeier observee au Bresil. Comptes-Rendus de la Societe de Biologie, Paris 87: 941–943.
- Julca. O. A, Carhuallanqui. R, Julca. V. N, Bello. A. S, Crespo. C. R, Echevarría. C, Borjas. R. (2010). Efecto de la sombra y la fertilización sobre las principales plagas del café var. Catimor en Villa Rica (Pasco, Perú). Universidad Nacional Agraria la Molina. 26.
- Julca, O. A. Bello, A. S. Cruz, V. R. Borjas. V. R. Gamboa, R. (2015). Efecto de seis fungicidas sobre el crecimiento IN VITRO de *Mycena citricolor* (Berk & Curt). Revista de la Facultad de Ingeniería de la USIL. Universidad Nacional Agraria la Molina. 26
- JUNTA NACIONAL DEL CAFÉ. (2016). Principales regiones productoras de Café en el Peru para el 2016. Recuperado de <http://juntadelcafe.org.pe/recursos/servicios/estadisticas/compendio-de-estad% C3% ADsticac>
- Kaur. S, Kang. S .S, Dhillon. N. K, and A. Sharma. (2016). Detection and characterization of *Meloidogyne* species associated with pepper in Indian Punjab. Nematropica 46:209-220.
- Lima, M. I. y Casa, C. V. H. (2016). Nematología agrícola. Especialización en Nematología agrícola y Prácticas de rutina para el diagnóstico.
- Little. T. M, Hills. F. J. (1991). Métodos estadísticos aplicados en agricultura, trillas México D. F. 270.
- Lizárraga. V. L. (2012). Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo de Café. Guía Técnica Agrobanco. Echarate, Cusco-Perú. 28.
- Lordello, L. G.E. and A. P). L. Zamith. (1958). On the morphology of the coffee root knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington (EE.UU). 25(2):133-137.
- Magunacelaya, J; Dagnino, E. (1999). Nematología agrícola en Chile. Chile. Serie Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 253 p.

- Mateille, T. (1993). Efectos of Banana-Parasitic Nematodes on *Musa acuminata* cvs. Poyo and Gros Michel in vitro plants. *Tropical Agricultura* 325-331.
- Mai, W. y Mullin, P. (1996). *Plant parasitic nematodes A pictorial key to genera*. Fifth edition. Comstock Publishing Associates a Division of Cornell University Press, 277.
- MINAGRI, Ministerio de Agricultura y Riego. (2016). Boletín estadístico de Producción Agrícola, Pecuaria y Avícola. Dirección General de Seguimiento y Evaluación de Políticas- DGESEP. 94p.
- Montiel, C., Sosa, L., Medrano, C. & Romero, D. (1997). Nemátodos fitoparásitos en plantaciones de plátano (*Musa AAB*) de la margen izquierda del río Chana. Estado Zulia, Venezuela. Departamento Fitosanitario, Facultad de Agronomía, Universidad de Zulia, Venezuela.
- Mulvey, R. H. y Anderson, R. V. (1979). Benthic species of *Dorilaymus* Dujardin, 1845 (nematode: Dorylaimidae) and *Arctidorylaimus* n. gen. from the Mackenzietories, Canada. *Can. Zool.*, 57, 743-755.
- Oliveira, Dagoberto Saunders, M.S. (2002). Caracterização de populações de *Meloidogyne exigua* asociadas a cafeeiros na Zona da Mata de Minas Gerais. Orientadora: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Conselheiros: Acelino Couto Alfenas e Leandro Grassi de Freitas. Universidade Federal de Viçosa.
- País, C. S; Abrantes, I. M. O. (1989). Esterase and malate deshidrogenase phenotypes in portuguese populations of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*. 21 (3). 342-346
- Piedra, N. R. (2008). Manejo biológico de nemátodos fitoparásitos con Hongos y Bacterias. *Tecnología en marcha*, Vol. 21-1,123-132.
- Perry, R. Moens, M. y Starr, J. (2009). *Root-Knot Nematodes*. UK by the MPG Books Group. 530, 31.
- Proyecto café. (2015). Manual Técnico del café. "Mejoramiento de la competitividad productiva, organizacional y comercial de los productores de café del distrito de San Juan del Oro, Sandia-Puno". Industria gráfica Perú vista alegre. 111p.
- Ramírez, J. (2001). comportamiento agronómico, productivo e industrial de arroz (*Oriza sativa*) variedad SETESA 9 en La Vega, San Carlos, costa rica. informe- Bach. ing. Agr. San Carlos, costa Rica. ITCR. 69.
- Ravichandra, N. G. (2014). *Horticultural Nematology*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. Bangalore. 434p.

- Rodríguez, M. (2000). Identificación y caracterización de *Meloidogyne mayaguensis* (Nemata: Meloidogynidae) en el cafeto en Cuba. Tesis Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Cuba. Universidad Agraria de la Habana Fructuoso Rodríguez Pérez, 145.
- Rojas, M. & Salazar, L. (2013). Densidad crítica de *Meloidogyne exigua* en plantas de almacigo de café variedad caturra. *Agronomía Costarricense* 37(2). 115-123.
- Ruppert, E. E. y Barnes, R. D. (1996). *Zoología de los Invertebrados*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 6ta Edición. México, D.F., 208 – 304.
- Sandoval, A. S. C & Escobar, A. I. M. (2002). Caracterización bioquímica de poblaciones de nemátodos del género *Meloidogyne* parásitos del cultivo de cafetos en la zona de Izalco. *Protección vegetal*, Facultad de Ciencias Agronómicas, UES.
- Schreck, R. C., Vieira, D. S. M. C., Marais, M., Santos, M. S., Duyts, H., Freitas, H., Van Der Putten, W. M. y Abrantes, I. (2010). First record of *Helicotylenchus varicaudatus* Yuen, 1964 (nematoda: Haplolaimidae) parasitizing *Ammophila arenaria* (L.). Link in Portuguese coastal sand dunes. *Phytopathology Mediterranean* 49, 212-226.
- Sen, D., Chatterjee, A. y Manna, B. (2011). A new species of *Dorilaymus* dujardin, 1845 (nematoda: dorylaimidae) from west bengal, India *Nematol. medit*, 39: 3-8
- SENAMHI, Servicio nacional de meteorología e hidrología. (2016). SENAMHI órgano oficial y rector del sistema hidrometeorológico nacional al servicio del desarrollo socio económico del país.
- Shurtleff. M. y Averre. C. (2000). *Diagnostic plant diseases causes by nematodes*. St Paul (USA): American Phytopathological Society APS PRESS. 187 p.
- Siddiqi, MR. (2000). Morphological characters and taxonomic methods. In: *Tylenchide parasites of plant and insects*. Second edition. CAB Internacional. UK.
- Talavera, R. M. (2003). *Manual de Nematología Agrícola*. Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal. IRFAP. 23
- Taylor, A. L. y Sasser, J. N. (1983). Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz (especies de *Meloidogyne*). Proyecto internacional de *Meloidogyne*, 111.
- Temis, P. A. L. López, M. A. V. Sosa, M. M. E. (2011). Producción de Café (*Coffea arábica* L.): cultivo, beneficios, plagas y enfermedades. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 5(2):54-74.
- Tihohod, D. (2000). *Nematología Agrícola Aplicada*. Jaboticabal-Brasil. FAPESP, 472.

- Vázquez, I. (1980). Exploración nematológica en el C.E.F., Barranca de Cupatitzio Uruapan, Mich. Ciencia Forestal (Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales), vol. 5, n.º 24: 3-20, México.
- Vera, N. (2014). Técnica Molecular de PCR para identificar las principales especies de *Meloidogyne* en Poblaciones provenientes de Perú. Tesis para el Grado de magister Scientiae en Fitopatología, 109.
- Vergara, C. S. A. (2012). Café Peruano: Aroma y Sabor para nosotros y el mundo. Reporte de Inteligencia de Mercado. 92.
- Vergel, D.; Leguizamón, J.; Cortina, H. y Torres, E. (2000). Reconocimiento y frecuencia de *Meloidogyne* spp. En una localidad de la zona cafetera central de Colombia. En: Boletín Técnico Cenicafe. Chinchiná. Vol. 51, No. 4. 285 – 295
- Villain, Sarah JL, Hernández A, Bertrand B, Anthony F, LashermesP, Charmetant P, Anzueto F, Dechechi Gomes Carneiro RM. (2013). Diversity of root-knot nematodes parasitizing coffee in Central América. *Nematropica* 43: 194–206.
- Vavlas N. & DI Vito M. (1991). Effect of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on the groth of coffee (*Coffea arabica*) in pots. *Nematologia Mediterranea*, v.2, p.253-258.
- Wallace, H. (1987). Effects of nematode parasites on photosynthesis. In Veech, JA; Dickson, DW. eds. *Vistas in Nematology*. Soc. Nematol., Hyattsville, MD, 253- 259.
- WORLD COFFEE RESEARCH, (2016). Las Variedades de Café de Mesoamerica y el Caribe.

ANEXOS

ENCUESTA APLICADA A LOS PRODUCTORES DE CAFÉ DEL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

Fecha: _____ Nombre del entrevistado: _____

SECTOR _____ Altitud _____ N _____ E _____

1.- ¿Sabe Ud. ¿De la existencia de nemátodos en las raíces de sus plantas de cafeto?

a) SI b) NO

2.- ¿reconoce los síntomas causados por nemátodos?

a) SI b) NO

3.- ¿En qué parte del cafeto se observa los síntomas?

a) hojas b) fruto c) ramas d) Raíces

4.- ¿Ha observado ramas sin hojas?

a) SI b) NO

5.- ¿Sabe usted que la defoliación podría ser causada por la presencia de nemátodos (*Meloidogyne*) en la raíz?

a) Si b) No

6.- ¿Desde cuándo ha observado los síntomas en sus cafetos?

a) 1-5 años b) 5-10 años c) más de 10 años

7.- ¿La pérdida de hojas es?

a) Poca b) regular c) mucha

a) Solo la parte baja b) Solo en la parte terminal c) Todo el cafeto defoliado o paloteo

8.- ¿tuvo pérdidas económicas?

a) bastante (¿Cuántos kilos?) b) poca (¿Cuántos kilos?)

9.- Si de un cafeto solo queda el tronco con sus ramas sin hojas ¿Qué hace con este cafeto?

10. Cuando sustituye una planta de cafeto, ¿por qué la sustituye?

a) Cafeto viejo b) cafeto improductivo c) otros:

11.- En las plantas recién sembradas ¿Ha notado crecimiento pobre y deformación en la parte del cuello en los cafetos?

a) Si b) No

Anexo 2**Cuadro A2.** Sectores donde se realizaron las encuestas

Distrito	Sector	Productores encuestados
San Juan del Oro	<i>Santa Ana</i>	24
San Juan del Oro	Belén	23
San Juan del Oro	Nogalani	30
San Juan del Oro	Yurajmayo	16
San Juan del Oro	Nueva Esperanza	14
San Juan del Oro	Challohuma	30
San Juan del Oro	<i>Lagunillas</i>	10
San Juan del Oro	Huycusmayo	18
San Juan del Oro	Huayrapata	20
San Juan del Oro	Torre Alegre	16
San Juan del Oro	Quispicanchis	20
San Juan del Oro	Rio Blanco	12
San Juan del Oro	Botijani	26
San Juan del Oro	Alto Santa Rosa	35
San Juan del Oro	Pajchani	25
San Juan del Oro	San Pedro de Kasani	14
San Juan del Oro	Huayruruni	7
San Juan del Oro	Carmen Pablobamba	20
San Juan del Oro	Collpani	10
San Juan del Oro	Lucini	17
San Juan del Oro	Charubamba	5
San Juan del Oro	Yanamayo	10
San Juan del Oro	San Martín de Tambopata	19
San Juan del Oro	Muyuvasi	6
total	24 sectores	427

Anexo 3

Cuadro A3. Porcentajes de las encuestas realizadas a los productores de café en el distrito de San Juan del Oro

preguntas	opciones	productores	%
Sabe de la existencia	Si	262	61
	no	165	39
Reconoce los síntomas	Si	233	55
	No	194	45
En qué parte observa los síntomas	Hojas	280	65
	Frutos	110	26
	Ramas	33	8
	raíces	4	1
Observa ramas sin hojas	Si	338	79
	No	89	21
Conocimiento de síntomas por nemátodos	Si	244	57
	no	183	43
Tiempo observando los síntomas	1-5	103	24
	5-10	251	59
	>10	73	17
La pérdida de hoja es	Poca	103	24
	Regular	281	66
	bastante	43	10
Tuvo pérdidas económicas	Poca	333	78
	bastante	94	22
Que hace con cafetos sin hojas	Elimina	52	12
	Poda	191	45
	otros	184	43
Sustitución de cafeto	Viejo	155	36
	Improductivo	188	44
	otros	84	20
Crecimiento pobre en plantas recién sembradas	Si	222	52
	no	205	48

Anexo 4

CUADRO A4. Datos generales de los lugares muestreados del distrito de San Juan del Oro

Nº	CODIGO	FECHA DE COLECTA DE MUESTRA	Nº DE MUESTRAS	DISTRITO	SECTORES	ALTITUD	TEXTURA DE SUELO	UBICACIÓN GEOGRAFICA N E
1	N-1	03/09/2016	5	San Juan del Oro	NOGALANI (I)	1300	F. ARCILLOSO	8432003 488327
2	N-2	03/09/2016	5	San Juan del Oro	NOGALANI (II)	1392	F. ARENOSO	8431953 486782
3	N-3	03/09/2016	5	San Juan del Oro	NOGALANI (III)	1440	F. ARCILLOSO	8432520 487539
4	NE-1	04/09/2016	5	San Juan del Oro	NUEVA ESPERANZA (I)	1280	F. ARCILLOSO	8431607 488257
5	NE-2	04/09/2016	5	San Juan del Oro	NUEVA ESPERANZA (II)	1315	F. ARENOSO	8430773 488613
6	NE-3	05/09/2016	5	San Juan del Oro	NUEVA ESPERANZA (III)	1138	F. ARCILLOSO	8430853 488768
7	SA-1	05/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA A	1280	F. ARCILLOSO	8435023 493285
8	SA-2	06/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA A	1192	F. ARCILLOSO	8434523 492846
9	SA-3	06/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA A	1278	F. ARCILLOSO	8435334 493175
10	Y-1	07/09/2016	5	San Juan del Oro	YURAJMAYO	1200	F. ARCILLOSO	8428377 488085
11	Y-2	07/09/2016	5	San Juan del Oro	YURAJMAYO	1240	F. ARENOSO	8427755 488046
12	Y-3	07/09/2016	5	San Juan del Oro	YURAJMAYO	1188	F. ARENOSO	8428702 488348
13	B-1	08/09/2016	5	San Juan del Oro	BELEN	1280	F. ARENOSO	8428335 485788
14	B-2	08/09/2016	5	San Juan del Oro	BELEN	1390	F. ARCILLOSO	8427674 481247
15	B-3	08/09/2016	5	San Juan del Oro	BELEN	1389	F. ARENOSO	8427089 483292
16	CH-1	09/09/2016	5	San Juan del Oro	CHALLOHUMA	1490	F. ARCILLOSO	8429577 484189
17	CH-2	09/09/2016	5	San Juan del Oro	CHALLOHUMA	1400	F. ARCILLOSO	8429208 483167
18	CH-3	09/09/2016	5	San Juan del Oro	CHALLOHUMA	1324	F. ARENOSO	8429592 482901

19	L-1	10/09/2016	5	San Juan del Oro	LAGUNILLAS	1506	F. ARENOSO	8428112	482992
20	L-2	10/09/2016	5	San Juan del Oro	LAGUNILLAS	1560	F. ARCILLOSO	8428648	483115
21	L-3	11/09/2016	5	San Juan del Oro	LAGUNILLAS	1551	F. ARENOSO	8428437	482894
22	U-1	11/09/2016	5	San Juan del Oro	UYCUSMAYO	1441	F. ARENOSO	8427302	495909
23	U-2	12/09/2016	5	San Juan del Oro	UYCUSMAYO	1548	F. ARENOSO	8427438	495138
24	U-3	12/09/2016	5	San Juan del Oro	UYCUSMAYO	1486	F. ARENOSO	8427438	496592
25	H-1	13/09/2016	5	San Juan del Oro	HUAYRAPATA	1600	F. ARENOSO	8430173	492311
26	H-2	13/09/2016	5	San Juan del Oro	HUAYRAPATA	1422	F. ARENOSO	8431244	492240
27	H-3	13/09/2016	5	San Juan del Oro	HUAYRAPATA	1203	F. ARENOSO	8430350	491084
28	TA-1	14/09/2016	5	San Juan del Oro	TORRE ALEGRE	1534	F. ARCILLOSO	8428696	490395
29	TA-2	14/09/2016	5	San Juan del Oro	TORRE ALEGRE	1570	F. ARENOSO	8428429	490482
30	TA-3	14/09/2016	5	San Juan del Oro	TORRE ALEGRE	1403	F. ARCILLOSO	8429415	489588
31	SA-4	15/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA B	1660	F. ARCILLOSO	8433371	493284
32	SA-5	15/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA B	1750	F. ARENOSO	8433163	493347
33	SA-6	15/09/2016	5	San Juan del Oro	SANTA ANA B	1500	F. ARCILLOSO	8433602	493007
34	Q-1	16/09/2016	5	San Juan del Oro	QUISPICANCHIS	1720	F. ARCILLOSO	8427492	485712
35	Q-2	16/09/2016	5	San Juan del Oro	QUISPICANCHIS	1650	F. ARENOSO	8427090	486084
36	Q-3	16/09/2016	5	San Juan del Oro	QUISPICANCHIS	1610	F. ARCILLOSO	8426639	486399
37	RB-1	17/09/2016	5	San Juan del Oro	RIO BLANCO	1790	F. ARENOSO	8424714	493498
38	RB-2	17/09/2016	5	San Juan del Oro	RIO BLANCO	1770	F. ARENOSO	8424655	494259
39	RB-3	18/09/2016	5	San Juan del Oro	RIO BLANCO	1800	F. ARENOSO	8425944	494687
40	BO-1	19/09/2016	5	San Juan del Oro	BOTIJANI	1731	F. ARENOSO	8427335	485788
41	BO-2	19/09/2016	5	San Juan del Oro	BOTIJANI	1620	F. ARENOSO	8426865	484230

42	BO-3	20/09/2016	5	San Juan del Oro	BOTIJANI	1810	F. ARENOSO	8426701	485130
43	AS-1	21/09/2016	5	San Juan del Oro	ALTO SANTA ROSA	1897	F. ARCILLOSO	8427474	478139
44	AS-2	21/09/2016	5	San Juan del Oro	ALTO SANTA ROSA	1854	F. ARENOSO	8425557	480798
45	AS-3	22/09/2016	5	San Juan del Oro	ALTO SANTA ROSA	1787	F. ARENOSO	8427098	479055

Anexo 5



"SENAMHI ORGANO OFICIAL Y RECTOR DEL SISTEMA HIDROMETEOROLOGICO NACIONAL AL SERVICIO DEL DESARROLLO SOCIO ECONOMICO DEL PAIS"

ESTACION: 110820 CO. 110043 LATITUD 15°13'00" DEPARTAMENTO PUNO
 LONGITUD 69°09'24,7" PROVINCIA SANDIA
 TAMBOPATA ALTITUD 1385 DISTRITO SAN JUAN DEL ORO

PARAMETRO : PROMEDIO MENSUAL DE TEMPERATURA MAXIMA EN °C

AÑO	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.	AGOT.	SET.	OCT.	NOV.	DIC.
2016			28.1	27.8	26.1	25.2	26.8	29.4	30.0	28.8	29.0	28.9

PARAMETRO : PROMEDIO MENSUAL DE TEMPERATURA MINIMA EN °C

AÑO	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.	AGOT.	SET.	OCT.	NOV.	DIC.
2016			17.4	16.9	16.0	14.7	14.0	13.8	14.6	15.6	16.5	16.6

PARAMETRO : PROMEDIO MENSUAL DE TEMPERATURA MEDIA EN °C

AÑO	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.	AGOT.	SET.	OCT.	NOV.	DIC.
2016			22.8	22.4	21.0	20.0	20.4	21.6	22.3	22.2	22.8	22.8

PARAMETRO: PRECIPITACION TOTAL MENSUAL EN mm.

AÑO	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.	AGOT.	SET.	OCT.	NOV.	DIC.
2016			114.4	59.3	36.1	30.1	13.1	31.6	71.0	87.0	59.6	73.7

PARAMETRO : PROMEDIO MENSUAL DE HUMEDAD RELATIVA EN %

AÑO	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.	AGOT.	SET.	OCT.	NOV.	DIC.
2015			97	96	98	97	97	97	96	95	97	96

“Año del buen servicio al ciudadano”

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, INVESTIGADOR DEL PROYECTO *MELOIDOGYNE*.

Ph. D. Israel Lima Medina

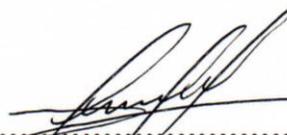
CONSTA:

Que, la Srta. **MARITZA MARIBEL MAYTA MAMANI**, identificada con DNI N° 46928047, con dirección en Psj. Robles Mz. E8 Lt. 33 de la ciudad de Juliaca, ha desarrollado la ejecución de investigaciones básicas para la identificación de nematodos Fitoparásitos en el cultivo de: papa, quinua, maíz, tomate, café, paprika, zanahoria, cucurbitáceas, arroz, olivo, vid, betarraga; en el área de Sanidad Vegetal en el laboratorio de la escuela profesional de Ingeniería Agronómica (UNA – Puno) del proyecto: Diversidad biológica de poblaciones peruanas de *Meloidogyne* spp.: descripción y caracterización de especies a través del uso de isoenzimas y marcadores moleculares; durante un año periodo comprendido del 20 de julio del 2016 al 30 de febrero del 2017.

Demostrando durante su permanencia capacidad, responsabilidad, honestidad, honradez y dedicación en las labores que le fueron encomendadas.

Se expide el presente a solicitud del interesado, para los fines que crea necesario.

PUNO, 30 de febrero del 2017.



.....
Ph. D. Israel Lima Medina
Investigador del proyecto *Meloidogyne*