

DENSIDAD POBLACIONAL DE NEMATODOS EN EL CULTIVO DEL CAFÉ (*Coffea arabica* L.), ALTO LIMA-CARANAVI

Population density of nematodes in coffee (*Coffea arabica* L.), Alto Lima-Caranavi

Fernando Pérez Quispe¹; David Cruz Choque²; Estanislao Poma Loza³; Freddy Cadena Miranda³

RESUMEN

La presencia y ataque imperceptible de los nematodos, junto a otros factores merman considerablemente los rendimientos del cultivo del café, afectando los ingresos económicos de las familias. En tal razón se planteó la investigación con el objeto de realizar la identificación y cuantificación de los principales géneros de nematodos fitoparasitos, que afectan a la producción de café en la Sub Central de Alto Lima, provincia Caranavi, La Paz. Se empleó un método de identificación utilizando claves taxonómicas, cuantificación de nematodos mediante el tamizado y centrifugado, flotación de soluciones de azúcar, propuesto por Araya et al. (1995), y modificado por el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UMSA. Se identificó la presencia de los géneros: *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Criconemella* sp., y nematodos de vida libre. El análisis de laboratorio fue en 100 g de suelo y en 25 g de raíces, los valores más significativos se encuentran cuando existe ataque al interior de las raíces, llegando a encontrar a: *Meloidogyne* sp., en 81.5% y 72.0% en las zonas baja y alta, la densidad poblacional del género *Pratylenchus* sp., fluctúa entre 9.2% y 14.6% en las zonas baja y alta respectivamente. El género *Helicotylenchus* sp., se encuentra en las raíces en 7.9% y 11.0% en las zonas baja y alta respectivamente. El género *Criconemella* sp., no reporta nivel de daño significativo al interior de las raíces. Finalmente se observó una importante presencia de nematodos de vida libre cuya densidad poblacional está cerca de un 50% de la nematofauna del suelo.

Palabras claves: Nematodos, *Coffea arabica* L., *Meloidogyne*, fitopatología, Caranavi.

ABSTRACT

The presence and imperceptible attack of the nematodes, along with other factors, considerably reduce the yields of the coffee crop, affecting the economic income of the families. In this reason, the research was carried out in order to identify and quantify the main genera of plant nematodes, affecting coffee production in the sub-central of Alto Lima, Caranavi province, La Paz. A method of identification using taxonomic codes was used, quantification of nematodes by sieving and centrifugation, flotation of sugar solutions, proposed by Araya et al. (1995), and modified by the phytopathology laboratory of the Faculty of Agronomy of the UMSA. The presence of the genera: *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Criconemella* sp., and free-living nematodes were identified. The laboratory analysis was in 100 g of soil and in 25 g of roots, the most significant values are found when there is an attack inside the roots, arriving to find: *Meloidogyne* sp., In 81.5% and 72.0% in the zones Low and high, the population density of the genus *Pratylenchus* sp., Fluctuates between 9.2% and 14.6% in the low and high areas, respectively. The genus *Helicotylenchus* sp., Is found in the roots in 7.9% and 11.0% in the low and high areas respectively. The genus *Criconemella* sp. does not report significant damage level inside in the roots. Finally, an important presence of free-living nematodes was observed, with a population density of about 50% of the soil nematode.

Keywords: Nematodes, *Coffea arabica* L., *Meloidogyne* sp., phytopathology, Caranavi.

¹ Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. perez.fernando13@gmail.com

² Docente, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

³ Docente Investigador, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del café es uno de los productos que a nivel nacional ha generado ingresos importantes, los cuales llegaron a alcanzar cifras de hasta 15 millones de dólares anuales, donde la Provincia Caranavi genera el 80% de toda esa producción (FECAFEB, 2001).

FECABEB (1998), menciona que en estos últimos años las plantaciones de café son afectados por diversos factores que inciden en la producción cafetalera, como plagas y enfermedades. Entre las diferentes plagas que atacan al cultivo se encuentran los nematodos fitoparásitos, que son considerados como gusanos microscópicos incoloros que se ubican en las raíces secundarias de la planta, se encuentran en forma filamentosa (alargada) o globosa cuando son adultos.

La provincia Caranavi, es una de las regiones fuertemente afectadas por la incidencia de los nematodos en las plantaciones de café. En particular la comunidad intercultural de Alto Lima, del Cantón San Lorenzo, es una de las zonas con mayor potencial para el desarrollo de la caficultura de altura, sin embargo el problema es latente en la zona, en tal sentido se planteó el presente estudio de investigación que tiene como objetivo realizar un diagnóstico de identificación y cuantificación de los principales géneros de nematodos fitoparásitos que afectan a la producción de café en la comunidad intercultural de Alto Lima, Provincia Caranavi del departamento de La Paz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la zona de estudio

La investigación fue realizada en la comunidad de Alto Lima, cantón San Lorenzo, de la provincia de Caranavi del departamento de La Paz, ubicada a 190 km de distancia de la ciudad de La Paz, a una altitud de 1356 m s.n.m. en la zona alta y 1197 m s.n.m. en la zona baja, con temperatura promedio de 24°C y precipitación anual de 2100 mm.

Gran parte de las plantaciones de café en la zona tienen una edad entre 30 a 40 años, en una superficie de cultivo promedio de 2 ha por familia, dispuestas a una distancia de 2 m entre hileras y 1 m entre plantas, alcanzando una densidad de 5000 plantas ha⁻¹.

Se seleccionaron al azar 50 plantaciones en la zona baja y 50 plantaciones de la zona alta, las muestras fueron recolectadas mensualmente entre los periodos de mayo a diciembre del 2015, en total se analizaron 16 muestras compuestas.

Recolección de muestras en campo

Para la extracción de los suelos en los cafetales, las muestras fueron recolectadas de manera sistemática, según la ubicación de las plantaciones, se emplearon cinco plantas seleccionadas en zig-zag dentro de cada lote para formar una muestra compuesta de cada uno de ellos, la extracción se realizó a una distancia de 15 cm de la base del tallo y entre 15 a 20 cm de profundidad. En cada punto se obtuvo una muestra de suelo y se cortó la parte radical, ambas se colocaron en bolsas plásticas etiquetadas para su traslado al laboratorio.



Figura 1. Recolección de muestras en los cafetales.

Tamizado, centrifugado y flotación en soluciones de azúcar para la obtención de nematodos en raíz y suelo

La extracción de nematodos de raíces y suelo se realizó en el Laboratorio de fitopatología de la carrera de Ingeniería Agronómica dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, basados en el principio de flotación de los nematodos en azúcar mencionado por Araya (1995).

Para la extracción de nematodos de las muestras de raíces, se siguió el siguiente procedimiento: a) lavado de las raíces con agua, b) secado a temperatura ambiente, c) pesaje de 25 g en una balanza digital, d) corte transversal de trozos de raíces de 1 cm e) licuado con 500 ml de agua a velocidad baja por 15 s con repetición a velocidad alta por 15 s, e) disposición de la solución licuada en un tamiz de 100 mesh (150 micras) colocando sobre otro tamiz de 400 mesh (38 micras), f) lavado de la muestra con abundante agua utilizando una piseta, g) el material que quedó en el tamiz de 400 mesh fue depositado en un vaso de precipitados, h) distribución en cuatro tubos de

centrifugación del material obtenido, los tubos fueron con capacidad de 12 ml la centrifugación fue a una velocidad de 3000 rpm durante tres minutos pasado este periodo se retiraron los tubos de la centrifugadora y se eliminó el sobrenadante de cada tubo, posteriormente se agregó a cada tubo 8 ml de sacarosa (solución de azúcar) al 50% y se centrifugó a 3500 rpm durante tres minutos. Ligeramente diferente a 3800 rpm como recomienda Araya (1995).

Como consecuencia de la centrifugación hubo una sedimentación de las partículas pesadas en el fondo de los tubos. Los nematodos se ubican en la capa intermedia de la gradiente de sacarosa. A partir de los cuatro tubos procedentes del centrifugado, la solución azucarada con nematodos se volvió a pasar por el tamiz de 400 mesh, lavando con la pisseta de manera rápida, toda la solución fue pasada a una placa Petri con volumen aproximado de 10 ml para su conteo. La extracción de nematodos en muestras de suelo siguió todo el anterior procedimiento con la omisión del licuado Araya (1995).

Cuantificación de nematodos

En el conteo de nematodos procedentes del suelo, previamente se demarcó la placa Petri con un marcador indeleble a cada centímetro, de todas estas cuadrículas, se seleccionó tres casillas al azar, para realizar el conteo visual en un microscopio de la cuadrícula seleccionada, obteniendo un promedio que fue multiplicado por el número total de cuadrículas.

Para el caso de las raíces, se retiró una alícuota de 0.5 a 1.0 ml para el conteo en una placa Petri pequeña, seleccionando tres casillas al azar, promediando el dato para multiplicarlo por el número total de cuadrículas y posteriormente extrapolar al volumen total de la solución obtenida del tamiz de 10 ml.

En el caso de movimientos variados de los nematodos, que dificulta su visualización, estos fueron sumergidos en baño maría a más de 80°C durante 30 s para continuar con el procedimiento mencionado. Las variables evaluadas fueron la frecuencia de nematodos en raíz y suelo por género y cantidad de nematodos fitoparásitos y de vida libre.

Fijación de nematodos para la identificación por género

Se empleó como fijador el formaldehído en una relación de 89 ml de agua destilada, 10 ml de formalina y 1 ml de ácido acético, se preparó 100 ml de solución fijadora. Con este procedimiento se evitó que se plasmolizasen y se estabilizó a los nematodos manteniendo su morfología original.

De la solución de la placa Petri, previamente homogeneizada y con el uso de una micro pipeta, se recolectaron manualmente diez individuos que fueron montados sobre el portaobjetos con hendidura, previamente adicionada una gota de solución fijadora, se colocó el cubreobjetos y se procedió al sellado con esmalte negro, pasando al microscopio compuesto para su análisis, se verificó que la muestra contenga solo 10 individuos, en caso diferente se rechazó la muestra para volver a preparar otra. La muestra fue visualizada con el lente de primer aumento (4x) para ubicar su posición geográfica en el portaobjetos, pasando al segundo aumento (10x) para observar el tamaño del nematodo, empleando el lector de longitud (en micras) del microscopio compuesto, en el caso de los nematodos con estilete se utilizó el tercer aumento (100x), las variables evaluadas fueron las siguientes:

- Longitud en micras de cada individuo.
- Diámetro del cuerpo en la región ecuatorial.
- Longitud del estilete de los individuos que contaban con ello.

La identificación de los individuos se realizó con la clave taxonómica mayor para nematodos fitoparásitos debajo del orden Tylenchomorpha (Mekete et al., 2012); claves taxonómicas de Mai y Lyon (1960); manual de Fitopatología de Zuckerman et al. (1990) y Manual de identificación de géneros de nematodos importantes de Esquivel (2015).

Los datos relacionados con la cantidad de nematodos por género, fueron analizados por medio de la estadística descriptiva y análisis de varianza factorial utilizando la media, ajustes de curvas en el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente uno de los objetivos fue evaluar las principales enfermedades que afectan al cultivo del café en la comunidad de Alto Lima, suponiendo que el problema solo eran enfermedades del tipo foliar como la roya (*Hemileia vastatrix*), ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y mal de hilachas (*Pellicularia koleroga*). Sin embargo, de acuerdo a los datos preliminares de Rojas (2016), los principales problemas fitopatógenos en la zona según su orden de importancia son: roya con 80 a 90% de incidencia, ataque de nematodos en 40 a 50% de incidencia, ojo de gallo con incidencia del 10%. En tal sentido las acciones de la investigación abordaron los dos primeros problemas, en este caso se cuenta con un diagnóstico de nematodos fitopatógenos asociados al cultivo de café.

La Tabla 1 refleja las características cuantitativas de la morfología de los géneros reportados en laboratorio

respecto a la longitud, diámetro del cuerpo en la región ecuatorial y la longitud del estilete. Donde *Pratylenchus sp.*, y *Helicotylenchus sp.*, reportan las longitudes más grandes con 695 y 648 micrómetros, el género *Criconemella sp.* con 207 micrómetros de longitud en promedio. Los otros nematodos de vida libre mostraron tamaños variables entre 372 y 503 micrómetros de longitud.

En cuanto al diámetro de cuerpo el género *Criconemella sp.*, es el que mayor diámetro tiene con un promedio de 28.7 micrómetros y las más delgada es del género *Meloidogyne sp.* con 15.8 micrómetros. En relación a la longitud el estilete, el género *Helicotylenchus sp.*, cuenta con un estilete en promedio de 24.3 micrómetros, en relación a los 16.5, 16.2 y 15.9 micrómetros de los géneros de *Pratylenchus, sp., Criconemella sp., y Meloidogyne sp.*, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Medidas promedio en micrómetros de las principales características morfológicas en nematodos según los géneros identificados.

Género	Longitud (µm)	Diámetro del cuerpo en la región ecuatorial (µm)	Longitud del estilete (µm)
<i>Meloidogyne sp.</i>	392	15.8	15.9
<i>Pratylenchus sp.</i>	695	24.9	16.5
<i>Helicotylenchus sp.</i>	648	25.3	24.3
<i>Criconemella sp.</i>	207	28.7	16.2
Vida libre	372 - 503	14.0-36.0	-

Cuantificación de nematodos

Las frecuencias mayores de nematodos fitoparásitos correspondieron a *Meloidogyne sp.*, con una población promedio de 22636 nematodos en 25 g de raíz, en la zona baja y 18132 individuos en la zona alta. En las muestras de suelo, *Meloidogyne sp.*, obtuvo el mayor número de nematodos cuyos valores promedio

son de 291 nematodos en 100 g de suelo en la zona baja y de 204 nematodos en la zona alta (Tabla 2). Esto se atribuye a que éste nematodo es un parásito obligado, que necesita parasitar raíces para poder sobrevivir (Perry y Moens, 2006).

Tabla 2. Población de nematodos por género identificados en 100 g de suelo y 25 g de raíces.

Género	Zona baja				Zona alta			
	25 g de raíces		100 g de suelo		25 g de raíces		100 g de suelo	
	Cantidad	Porcentaje	Cantidad	Porcentaje	Cantidad	Porcentaje	Cantidad	Porcentaje
<i>Meloidogyne sp.</i>	22636	81.5	291	24.0	18132	72.16	204	17.72
<i>Pratylenchus sp.</i>	2542	9.2	146	12.0	3683	14.66	127	11.03
<i>Helicotylenchus sp.</i>	2185	7.9	118	9.7	2771	11.03	91	7.91
<i>Criconemella sp.</i>	38	0.1	108	8.9	212	0.84	145	12.60
Otros	374	1.3	550	45.3	330	1.31	584	50.74
Total	27775	100.0	1213	100.0	25128	100.0	1151	100.0

Frecuencia de nematodos en el suelo, asociados al cultivo de café

El número de nematodos encontrados en el suelo fueron significativamente menores en los hallados en la raíz del café, la Figura 2 muestra mayor presencia de nematodos del género *Meloidogyne* sp., con 24.00% (291 nematodos en 100 g de suelo) en la zona baja respecto a 17.72% (204 nematodos en 100 g de suelo) en la zona alta. La presencia del género *Pratylenchus* sp. Fue en 12.00% (146 nematodos en 100 g de suelo) en la zona baja, respecto a 11.03% (127 nematodos en 100 g de suelo) en la zona alta. Se reporta la presencia del género *Helicotylenchus* sp., con 9.70% (118 nematodos en 100 g de suelo) en la zona baja, respecto a 7.9% (91 nematodos en 100 g de suelo) en la zona alta. *Criconemella* sp., es otro de los géneros identificados cuya presencia fue de 8.90% (108 nematodos en 100 g de suelo) en la zona baja, respecto a 12.60% (145 nematodos en 100 g de suelo), todos ellos nematodos fitoparásitos.

Se tiene presencia significativa de otros nematodos 45.30% (550 nematodos en 100 g de suelo) en la zona baja respecto a 50.74% (584 nematodos en 100 g de suelo) en la zona alta (Figura 2). En el suelo prácticamente se encuentra casi la mitad de nematodos que no son fitoparásitos, estos podrían ser de vida libre.

Rosales (1995) menciona que los géneros de nemátodos ectoparásitos en el suelo del cultivo de café son los géneros siguientes: *Aphelenchus*, *Helicotylenchus*, *Criconemella*, *Longidorus*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichoduros*, *Trophurus*, *Tylenchus* y *Xiphinema*. Entre los nemátodos endoparásitos migratorios se encuentra el género: *Pratylenchus* sp., los nematodos endoparásitos sedentarios son del género *Meloidogyne* sp., dentro del cual se reconocen 17 especies parásitas de café (Montes, 2000).

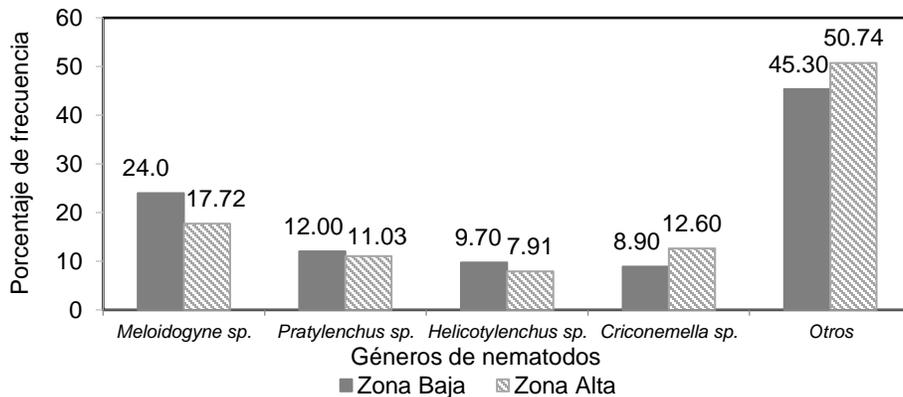


Figura 2. Frecuencia de nematodos asociados al suelo en el cultivo

Frecuencia de nematodos en las raíces

A diferencia de la mínima presencia de nematodos fitoparásitos en el suelo, estos se encuentran activamente al interior de las raíces, la mayor población de nematodos corresponden al género *Meloidogyne* sp., con 81.50% (22636 nematodos en 25 g de raíces) en la zona baja, respecto a 72.16% (18132 nematodos en 25 g de raíces) en la zona alta. Seguido de los géneros *Pratylenchus* sp., y *Helicotylenchus* sp., con

9.20% (2542 nematodos en 25 g de raíces) en la zona baja y 14.66% (3683 nematodos en 25 g de raíces) presentes en la zona alta y 7.90% (2185 nematodos en 25 g de raíces) en la zona baja, respecto a 11.03% (2771 nematodos en 25 g de suelo) en la zona alta. *Criconemella* sp. pasa muy desapercibida al interior de las raíces, así como de los otros géneros de vida libre que están por 1.30% (374 nematodos en 25 g de raíces para ambas zonas).

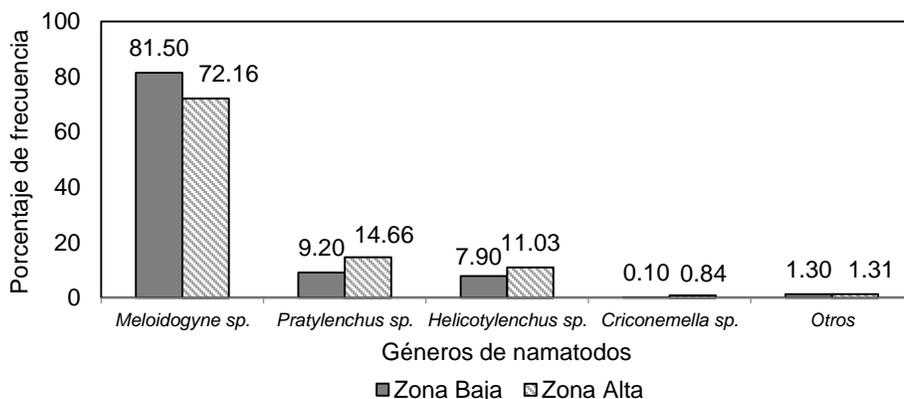


Figura 3. Frecuencia de nematodos asociados en las raíces.

Al respecto Crozzoli (2002), indica que los nematodos que pertenecen al género *Meloidogyne sp.* son formadores de nódulos en las raíces de los cafetales, puede llegar a causar problemas graves en los cultivos a nivel mundial. Considerando la estructura biogeográfica de la nematofauna de los endoparasitos estudiada por Bello y Lara (1986), estos son sedentarios, por lo tanto su frecuencia en el suelo es menor respecto a las raíces y se alimentan de células altamente modificadas, una vez establecidos no se mueven fácilmente. Según López et al. (1987) el género *Meloidogyne sp.* es endoparásito sedentario de mayor distribución geográfica y que aparece asociado al cultivo con mayor frecuencia, siendo esta una de las plagas más conocidas en los cafetales.

CONCLUSIONES

Los principales géneros de nematodos encontrados en las plantaciones de café en la comunidad de Alto Lima de la provincia Caranavi son: *Meloidogyne sp.*, *Pratylenchus sp.*, *Helicotylenchus sp.*, *Criconemella sp.* y nematodos de vida libre.

Meloidogyne sp. tiene alta densidad poblacional de 22636 y 18132 nematodos hallado en 25 g de raíces, con presencia en el suelo es de 291 y 204 nematodos en 100 g de suelo en las zonas baja y alta respectivamente.

La densidad poblacional del género *Pratylenchus sp.* en las raíces fue de 2542 y 3683 hallados en 25 g de raíces, y 146 a 127 nematodos en 100 g de suelo en las zonas baja y alta.

El género *Helicotylenchus sp.*, tiene una densidad de 2185 y 2771 nematodos en 25 g de raíces, con 118 y 91 nematodos en 100 g de suelo, en las zonas baja y alta.

Criconemella sp., tuvo baja presencia en las raíces con 38 y 212 nematodos en 25 g de raíces, en el suelo reportó 108 y 145 nematodos en 100 g de suelo, en la zonas baja y alta.

Se halló nematodos de vida libre que podrían ser de carácter saprofito, en una densidad poblacional que varía entre 550 y 584 nematodos en 100 g de suelo, en la zona baja y alta respectivamente, valores aproximados al 50.0% de la población nematofauna del suelo.

AGRADECIMIENTOS

La Investigación fue desarrollada en el marco del proyecto “Efectos de las podas, para la reducción de la incidencia de las principales enfermedades del cultivo del café en la Sub – Central Agraria Alto Lima – Caranavi”, financiada por el Instituto de innovación agropecuaria y forestal (INIAP) y la facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA).

BIBLIOGRAFÍA

Araya, A. 1995. Densidad poblacional y frecuencia de los nematodos parásitos de banano (*Musa paradisiaca*) en nueve cantones de Costa Rica. Corbana Costa Rica. 20(43):6-11.

Bello, A., Lara, M. 1986. Nematodos ectoparásitos de la superfamilia Criconematoidea, encontrados en España continental. Bol. San. Veg. Plagas 12:51-93.

Crozzoli, R. 2002. Especies de nematodos fitoparasíticos en Venezuela. . jul. 2002, vol.27, no.7 p.354-364. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sciarttext&>

id=S037818442002000700004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0378-1844 Consultado el 20 de abril 2016.

Esquivel, F. 2015. Morfología de los nematodos: curso de identificación. Traducido Universidad Nacional de Costa Rica. 42p.

FECAFEB. 2001. Zonificación agroecológica de cultivo del café en la provincia Caranavi Parte I. Tipificación de la Calidad del Café de las OECAS en la provincia Caranavi parte II, Bolivia.

FECAFEB, 1998. Manual de control ecológico de plagas y enfermedades, el café. La Paz, Bolivia. 27p. López, R.; Salazar, L.; Azofeifa, J. 1987. Nematodos asociados al arroz (*Oriza sativa* L.) en Costa Rica. V. Frecuencia y densidades poblacionales en las principales zonas productoras. Agronomía Costarricense. 11(2):215-220.

Mai, F., Lyon, H. 1960. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. Ed: Comstock Publishing Associates.

Mekete, T., Dababat, A., Sekora, N., Akyazi, F., Abebe, E. (comps). 2012. Identification key for agriculturally important plant-parasitic nematodes Prepared for the International Nematode Diagnosis and Identification Course 2012 - A manual for nematology. México, D.F.: CIMMYT.

Montes, B. 2000. Nematología Vegetal en México. Sociedad Mexicana de Fitopatología. México, 98 p.

Perry, R; Moens, G. 2006. The influence of root diffusate and host age on hatching of the root-knot nematodes, *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. USA.

Rojas, A. 2016. Evaluación del efecto de la poda, para la reducción de la incidencia y severidad de la enfermedad roya amarilla (*Hemileia vastatrix*), del cultivo del café (*Coffea arabica* L.) En la sub – central agraria Alto Lima – Caranavi – La Paz”. Borrador de Tesis de grado para la obtención del título de Licenciatura en Ingeniería Agronómica Datos preliminares).

Rosales, J. 1995. Importancia de los nematodos, su muestreo: en el café de Nicaragua No. 4. Boletín trimestral. Vicegerencia de Investigación y Extensión Cafetalera, UNICAFE. p 17-28.

Zuckerman, M., Mai, F., Krusberg, R. 1990. Plant Nematology Laboratory Manual. Traducido y editado al español por Nahum Marban Mendoza. Universidad autónoma de Chapingo. México.

Artículo recibido en: 17 de marzo 2017

Aceptado en: 31 de mayo 2017