

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE
INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE ENSEÑANZA
ÁREA DE POSTGRADO

**EVALUACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA PARA LA
RESISTENCIA AL NEMATODO *Meloidogyne incognita*
EN HÍBRIDOS DE *Coffea canephora***

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico de
Postgrado y Capacitación del Programa de Enseñanza en
Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico
Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de

Magister Scientiae

por

MARIA XENIA PEÑA GONZALEZ

CATIE

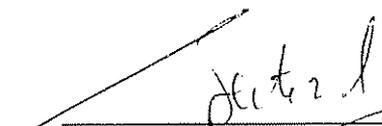
Turrialba, Costa Rica

1994

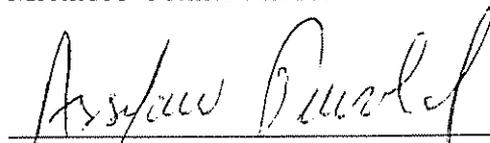
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

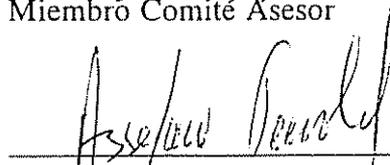
MAGISTER SCIENTIAE

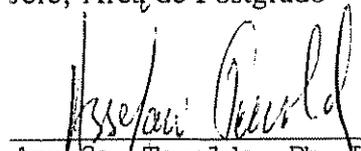
FIRMANTES:

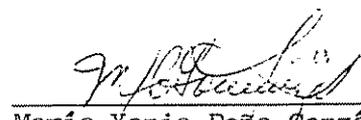

Benoit Bertrand, Ph. D.
Profesor Consejero


Nahum Marbán, Ph. D.
Miembro Comité Asesor


Assefaw Tewolde, Ph. D.
Miembro Comité Asesor


Assefaw Tewolde, Ph. D.
Jefe, Area de Postgrado


Assefaw Tewolde, Ph. D.
Director Programa de Enseñanza


María Xenia Peña González
Candidato

DEDICATORIA

A ti Señor por encontrarte cada vez que te busco.

A mi familia por ser ejemplo de amor y unión en los momentos más difíciles de nuestras vidas.

A los amigos y amigas de mi querido y pequeño país El Salvador donde encontré el amor, la amistad y comparto con ellos el trabajo profesional.

MUCHAS GRACIAS.....

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CATIE por brindarme la oportunidad de conocer nuevos horizontes y compartir con tanta gente linda la experiencia del estudio. Al gobierno de Alemania por financiar mis estudios del Postgrado.

A Fundación Salvadoreña para la Investigación del Café (PROCAFE), El Salvador, por el apoyo brindado para la realización del trabajo y por financiar tres meses de estadía en CATIE. Al Dr. Sergio Gil por aceptar la asesoría de mi trabajo, a Belisario, Lupita y Adán por el apoyo brindado.

Agradezco a Benoit Bertrand, asesor en mi trabajo de tesis, por su interés y apoyo, sobre todo en la etapa final del documento, muchas gracias. A los miembros del comité Dr. Nahún Marban, Dr. Assafaw Tewolde principalmente por sus observaciones al trabajo.

A la "chama" ... Evelyn Franco y a la familia Jara por su amistad sincera en todo momento. A mis compañeros de promoción; y a los compañeros de promoción 93-95 por su amistad.

CONTENIDO

RESUMEN	viii
SUMMARY	x
INDICE DE CUADROS	xii
INDICE DE FIGURAS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Características del Género <i>Coffea</i>	4
2.2 Fuentes de Resistencia en <i>Coffea</i> sp	6
2.3 Relaciones Fitoparasíticas	8
2.4 Importancia de los nematodos en la producción del café	9
2.4.1 Géneros y Especies más importantes	10
2.5 Investigación sobre la resistencia al género <i>Meloidogyne</i>	13
2.5.1 Mecanismos de resistencia en la respuesta de la planta	14
2.5.2 Metodología para Evaluar la Resistencia	16
2.6 Naturaleza de la Resistencia	18
2.7 Consideraciones Generales para la Utilización de una Variedad de Portainjerto	20
3. MATERIALES Y METODOS	24
3.1 Identificación de la especie del nemátodo	24
3.2 Materiales Evaluados	24
3.3 Obtención del Inóculo	26
3.4 Inoculación y Cantidad de Inóculo	26

	vi
3.5 Variables Medidas	26
3.6 Comparación entre métodos de inoculación: larvas y huevos	27
3.7 Análisis Cualitativo de la resistencia	28
3.8 Análisis Cuantitativo de la resistencia	29
3.8.1 Transformación de los datos para la variable número de nematodos	29
3.8.2 Relación entre las Variables	30
3.8.3 Análisis de varianza para Híbridos de "Robusta" y el "Testigo" Pacas.	30
3.8.4 Estimación de los parámetros genéticos	30
3.8.5 Parámetros genéticos	33
3.8.6 Correlaciones entre características	35
3.8.7 Estudio Histológicos en <i>Coffea arabica</i> y	36
<i>Coffea canephora</i>	
4. RESULTADOS	37
4.1 Comparación entre métodos de inoculación: larvas y huevos	37
4.2 Análisis Cualitativo de la resistencia	41
4.3 Análisis Cuantitativo de la resistencia	44
4.3.1 Relación entre las variables	44
4.3.2 Análisis de varianza para Híbridos de "Robusta" y el "Testigo" Pacas.	45
4.3.3 Estimación de parámetros genéticos:	47

	heredabilidades y correlaciones	
4.4	Estudios de histología	51
	A) Cultivar "Pacas" de <i>Coffea arabica</i>	51
	B) Híbridos de "Robusta" Moderadamente Resistentes	52
4.5	Liberación varietal	52
5.	DISCUSIÓN	54
5.1	Comparación entre métodos de inoculación: larvas y huevos	54
5.2	Análisis Cualitativo de la Resistencia	54
5.3	Análisis Cuantitativo de la Resistencia	55
5.3.1	Diseño experimental: Análisis factorial	55
5.3.2	Parámetros genéticos: heredabilidades y correlaciones	56
5.4	Estudios Histológicas en <i>Coffea arabica</i> y <i>Coffea canephora</i>	59
5.5	Consideraciones sobre la liberación de una variedad de portainjerto en <i>Coffea canephora</i>	60
5.5.1	Perspectivas de selección de <i>Coffea canephora</i> en contra de <i>Meloidogyne incognita</i>	62
5.5.2	Multiplicación de una variedad portainjerto	64
7.	CONCLUSIONES	65
8.	RECOMENDACIONES	66
9.	BIBLIOGRAFÍA	67
10.	ANEXOS	74

PEÑA, M.X. 1994. Evaluación fenotípica y genética para la resistencia al nematodo *Meloidogyne incognita* en híbridos de *Coffea canephora*. Tesis M. Sc. Turrialba. Costa Rica.

Palabras claves: resistencia, *Meloidogyne incognita*, heredabilidades, correlaciones genéticas, *Coffea canephora*.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo identificar materiales de *Coffea canephora* resistentes a *Meloidogyne incognita* para la obtención de una variedad de portainjerto y estimar parámetros genéticos para características relacionadas con la resistencia. La investigación se realizó en El Salvador con el apoyo de la Fundación Salvadoreña para la Investigación del Café (PROCAFE), con una población pura del nemátodo proveniente del depto. de Sonsonate, región occidental del país. Bajo condiciones de invernadero se midió la altura de la planta (ALT), peso fresco de la raíz (PFR), peso fresco de la parte aérea (PFA) y número de nematodos por planta (SQ2); el parámetro utilizado para el estudio de la resistencia fue el índice de reproducción (IR) Taylor (1967).

Los materiales de "Robusta" evaluados provienen de hibridaciones controladas, bajo un arreglo factorial entre tres genotipos madres: T-3761 (2-1), T-3757 (2-1) y T-3757 (2-2) y cuatro genotipos padres: T-3751 (1-2), T-3752 (1-3), T-3753 (1-1) y T-3755 (1-1) pertenecientes a la colección del CATIE. Tres meses después de sembrado el material, cada planta fue inoculada con una suspensión de 2000 huevos/planta por 3 ml de agua y cuatro meses después de inoculado se procedió a las evaluaciones. La extracción del inóculo se realizó licuando las raíces de tomate con hipoclorito de sodio al 0.05% por 40 seg y tamizado a través de 200 y 500 mallas, (Anzueto, 1993).

El análisis cualitativo de la resistencia mostró que las mejores

familias de "Robusta" de *Coffea canephora* fueron: [T-3751 (1-2) x T-3761 (2-1)] y [T-3755 (1-1) x T-3561 (2-1)] con 50.0% y 46.4% respectivamente de plantas que estan entre inmunes y altamente resistentes (escala 0 y 1 de Taylor, 1967), contra 0.0% para el testigo "Pacas" de *Coffea arabica* y de 28.55% para el conjunto de la población de *Coffea canephora*.

El análisis genético mostró alta significancia para el efecto de los machos y el efecto de las hembras, pero no para la interacción macho x hembra. Existe un efecto mayor de las hembras sobre los machos, probablemente debido a la presencia de eventuales efectos maternos o a una selección fuerte sobre uno de los progenitores. Por lo anterior el valor más confiable para la estimación de las heredabilidades para cada una de las características fue el estimado a partir de los machos de : $h^2_{sq2} = 0.37$, $h^2_{alt} = 0.61$, $h^2_{pfr} = 0.19$ y $h^2_{pfa} = 0.15$. Las correlaciones genéticas entre las variables SQ2 y ALT, PFR y PFA son altas y negativas de -0.6, -0.82 y -0.97 las correlaciones ambientales para las mismas variables son altas y positivas de 0.65, 0.66 y 0.27, las correlaciones fenotípicas fueron inexistentes de -0.12, -0.01 y -0.15.

PEÑA, M.X. 1994. Phenotypic and genetic evaluation for resistance to *Meloidogyne incognita* on *Coffea canephora* hybrids. Thesis M.Sc. Turrialba, Costa Rica.

Key words: resistance, *Meloidogyne incognita*, heredability, genetic correlations, *Coffea canephora*.

SUMMARY

The purpose of this research was to identify *Coffea canephora* material resistant to *Meloidogyne incognita* in order to obtain a portgraf variety and to determine genetic parameter for resistance related characteristics. The research was conducted in El Salvador with the support of the "Fundación Salvadoreña para la Investigación del Café" (PROCAFE), utilizing a pure nematode population from the department of Sonsonate, western side of the country. The following parameters were measured under greenhouse condition: plant height (PH), root fresh weight (RFW), aerial part fresh weight (AFW), and number of nematodes in each plant (SQ2). The parameters utilized in order to study the resistance was the reproduction index (IR) Taylor (1967).

The "Robusta" evaluated materials derived from controlled hybridizations under a factorial arrangement between three mother genotypes: T-3561 (2-1), T-3757 (2-2) and T-3757 (2-1) and four father genotypes: T-3751 (1-2), T-3752 (1-3), T-3753 (1-1) and T-3755 (1-1) from CATIE collection. Three months after the material was planted, each plant was inoculated with a suspension of 2000 eggs/plant. The evaluation was conducted four months after the materials inoculation. The inoculum extraction was made liquefying

tomato roots with sodium hypochlorite at 0.05% for 40 seconds, passing them through 200 and 500 sieves (Anzueto, 1993).

The qualitative resistance analysis showed that the best "Robusta" families of *Coffea canephora* were: [T-3751 (1-2) x T-3561 (2-1)] and T-3755 (1-1) x T-3561 (2-1) with 50.0% and 46.4% respectively of immune or highly resistant plant (scale 0 and 1 of Taylor, 1967), against 0.0% of the "Pacas" *Coffea arabica* check and 28.55% of the whole *Coffea canephora* population.

The genetic analysis showed high significance for the effect of males and females, but not for the interaction male x female. There is a higher effect of females over males, due probably to the presence of eventual maternal effects or to a strong selection over one of the parents.

Because of the above, the most reliable value in order to estimate the heredabilities of each characteristic was the one obtained from the males, that is: $h^2_{sq2} = 0.37$, $h^2_{ph} = 0.61$, $h^2_{rfw} = 0.19$ y $h^2_{afw} = 0.15$. The genetic correlations between the variables SQ2 and PH, RFW and AFW were high and negative (-0.6, -0.82 and -0.97), the environmental correlations for the same variables were high and positive (0.65, 0.66 and 0.27), and the phenotypic correlations were nonexistent (-0.12, -0.01 and -0.15).

INDICE DE CUADROS

- Cuadro No.1. Pérdidas en porcentaje estimadas en Sao Pablo, Brasil debidas a nematodos (1976).
- Cuadro No.2. Familias de "Robusta" y testigo "Pacas" estudiados en este trabajo.
- Cuadro No.3. Diseño de Cruzamiento Factorial
- Cuadro No.4. Cuadrados Medios para los tratamientos: J2 y huevos en Híbridos de "Robusta" y Testigo "Pacas"
- Cuadro No.5. Evaluación de híbridos de *Coffea canephora* y testigo Pacas en contra de *Meloidogyne incognita* (población de El Salvador).
- Cuadro No.6. Evaluación de genotipos madres de *Coffea canephora* frente a *Meloidogyne incognita* cepa de El Salvador.
- Cuadro No.7. Evaluación de las genotipos padres de *Coffea canephora* frente a *Meloidogyne incognita* cepa de El Salvador.
- Cuadro No.8. Cuadrados Medios para Híbridos de "Robusta" y Testigo "Pacas con respecto a las variables SQ2, PFR, PFA y ALT.
- Cuadro No.9. Cuadrados medios del arreglo factorial para las variables SQ2, ALT, PFR y PFA.
- Cuadro No.10 Componentes de Varianza del arreglo factorial para las características SQ2, PFR, PFA y ALT.
- Cuadro No.11 Correlaciones genéticas, ambientales y fenotípicas totales para las variables SQ2, ALT, PFR y PFA.
- Cuadro No.12 Heredabilidades y porcentaje de varianza aditiva para las variables SQ2, ALT, PFR y PFA.

INDICE DE FIGURAS

- Figura No.1. Relación Log varianza/Log media para la variables número de nematodos transformados.
- Figura No.2. Comparación metodológica entre J2 y huevos para las variables ALT.
- Figura No.3. Comparación metodológica entre J2 y huevos para la variable PFR y PFA.
- Figura No.4. Comparación metodológica entre J2 y huevos para la variable PFR y PFA.
- Figura No.5. Respuesta de híbridos de Robusta y testigo Pacas a la inoculación de larvas y huevos con respecto a la variable SQ2.
- Figura No.6. Comparación de las variables con los dos primeros componentes.
- Figura No.7. Número de nematodos por sistema radical (SQ2) en híbridos de Robusta y testigo Pacas, inoculados con *Meloidogyne incognita*.
- Figura No.8. A:sección transversal de raíz sana en *Coffea arabica*, (pc=parenquima cortical, f=floema, x=xilema cv=cambium vascular, m=médula) (10x).
B: juveniles de *M. incognita* en *C. arabica* (j: juveniles) (16x).
- Figura No.9. A: masa de huevos (h=huevos, mg=matriz gelatinosa).
B: hembras de *M. incognita* y alteración celular en *Coffea arabica* (h: hembras, cg: células gigantes)(10x).
- Figura No.10 Sección Transversal de raíz en *Coffea arabica*, donde se observan hiperplasia e hipertrofia de las células y engrosamientos de sus paredes. (cg=células gigantes, x=xilema, n=nematodos, e: engrosamientos) (20x).
- Figura No.11 Corte transversal de raíz en *Coffea canephora* que muestra una hembra de *M. incognita* asociada a una masa de huevos, nótese también las células gigantes (mh: masa de huevos, cg=células gigantes)(10x).

- Figura No.12 A:células gigantes en el cilindro vascular en raíz *Coffea canephora* (n=nemátodo, cg=células)(10x).
B:detalle de células gigantes con presencia de muchos núcleos(n:núcleos, cg:células gigantes) (12.5x).
- Figura No.13 Selección familiar combinada individuo-familia.
- Figura No.14 Selección familiar de hermanos completos y medios hermanos.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la producción del café se sitúa entre el 90 y 100 millones de sacos y para muchos países, constituye el primer producto agrícola de exportación (Comis. Econ. A. L. y el C., 1990).

Para Centroamérica el café reviste de importancia económica, social y ecológica. Como generador de divisas en los años 80, el café representó el 25% del valor de la producción del Sector Agrícola, PROMECAFE (1992). Para El Salvador en la cosecha 1990-91, el total de ingresos percibidos por la venta en el exterior fueron de US \$90,256,071.8 (Economía Agropecuaria, 1990). Como generador de empleo, se calcula que el cultivo da ocupación permanente a cerca del 5% de la población económicamente activa (PEA) en Centroamérica. Por otra parte, el cultivo del café ocupa una extensión de tierra significativa (16.1%) por lo que representa una masa boscosa de consideración que protege a los suelos de la erosión, incluso aquellos con pendiente.

En los últimos años la producción se ha visto reducida por varios factores: disminución de los precios internacionales, problemas económico-sociales en países de Centroamérica, factores biológicos como roya y broca. Dentro de las plagas, los géneros de nematodos como *Meloidogyne spp* y *Pratylenchus spp* surgen como una de las principales amenazas para la producción del café en la región, en donde la lucha química ha sido el método más utilizado pero al mismo tiempo perjudicial por los daños ocasionados al medio ambiente (contaminación de aguas, peligros para la vida humana, flora y fauna), PROMECAFE (1992); además la solución química no permite una protección durable. Según Villain (1993), en el caso sobre *Pratylenchus* sobre café, el uso de los portainjertos es una solución más económica y más eficiente en Guatemala. El uso de plantas con resistencia genética tiene grandes posibilidades de éxito, por ser el método más económico, sencillo y compatible con el medio ambiente. La especie *Coffea canephora* variedad "Robusta"

se sitúa entre las más sobresalientes por su resistencia, pero desafortunadamente esta práctica ha sido orientada a utilizar semilla de "Robusta" obtenida sin ningún control de los padres; actualmente no hay un trabajo de selección en las plantas sobre las cuales se recoge la semilla. Hasta ahora pocos trabajos científicos han sido realizados en condiciones controladas para la evaluación de *Coffea canephora* como fuente de resistencia. Las evaluaciones conducidas se han llevado a cabo sobre pocos materiales genéticos de "Robusta" y por dos especies de nemátodos principalmente *Meloidogyne exigua* (Morera, 1990; Fazuoli, 1987) y *Meloidogyne spp.* (Anzueto, 1993). Estas investigaciones fueron realizadas sobre semillas de polinización libre (sin control del padre), mostrando que dentro de una misma descendencia existe una gran variabilidad genética que condiciona la resistencia a los nematodos, en dichos trabajos se reporta que la resistencia del "Robusta" a los nematodos del género *Meloidogyne* podría ser poligénica (controlada por un gran número de genes). Las evaluaciones en condiciones controladas son relativamente nuevas en el café; diferentes aspectos metodológicos de la inoculación ya sea con larvas o huevos podrían ser evaluadas para proponer una técnica de rutina en los trabajos de resistencia.

Cabe mencionar que no se encuentra en la literatura de café diseños experimentales que permitan predecir el valor genotípico de los individuos, familias o descendientes por la resistencia a los nematodos.

A partir de 1992, PROMECAFE y el CATIE iniciaron una evaluación del material de "Robusta" presente en la colección del CATIE en contra de varios nematodos. El objetivo de este programa es de crear una variedad portainjerto que tendrá un mejor nivel de resistencia a varios nematodos del Istmo Centroamericano, que las semillas actualmente utilizadas a nivel del productor. El trabajo que se presenta más adelante se enmarca dentro de este proyecto.

El objetivo general de esta investigación es la evaluación de descendencias controladas de algunas introducciones de "Robusta" del CATIE por la resistencia a *Meloidogyne incognita* (cepa de El Salvador).

Los objetivos específicos son los siguientes:

1. Investigar la metodología orientada hacia la evaluación de la resistencia al nemátodo *Meloidogyne incognita*.
2. A través de un análisis cualitativo, clásicamente utilizado en pruebas de resistencia con nematodos, identificar las mejores combinaciones y los mejores padres.
3. A través de un plano de cruzamiento obtener estimadores de los componentes genéticos y tratar de buscar otras características sencillas que permitan aumentar la eficacia de la predicción del valor genético por la resistencia.
4. Explicar el fenómeno de resistencia parcial o de "tolerancia", estudiando la respuesta de la planta a nivel histológico.
5. A partir de lo anterior, proponer métodos de selección en el material estudiado para aprovechar la variabilidad genética existente en estas descendencias.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS DEL GENERO *Coffea*.

El género *Coffea* puede dividirse de acuerdo con el número cromosómico en dos grupos: A. especies diploides y B. especies tetraploides. El primer grupo constituido por ejemplo por las especies *Coffea canephora* Pierre, *Coffea liberica* Bull y Hiern, *Coffea stenophylla*, *Coffea eugenoides* Morre, *Coffea congensis* Froehner, *Coffea racemosa* Loureiro, *Coffea dewevrei* De Wild y Durand con $2n=22$ cromosomas; estas especies son originarias de Africa del Este, de Africa Central o de Madagascar, Orozco (1986).

Las especies diploides poseen una serie de ventajas en cuanto a características de resistencia a plagas y especialmente a enfermedades como la roya, CBD, y plagas como los nematodos, que causan graves daños a la caficultura, Orozco (1990); además tienen ventajas en cuanto a la rusticidad y factores que pueden aumentar la producción tales como: mayor número de nudos con frutos y frutos por nudos, Carvalho, et al. (1978). Dentro de estas especies, actualmente se cultiva solamente el *Coffea canephora* var. Robusta que produce un café con un alto contenido de cafeína (3-4%) (Carvalho, A. 1988, Monaco, L.C. 1963) con poco aroma y por lo general de una calidad inferior al arabica. El Robusta se produce principalmente en Africa y en Indonesia.

El segundo grupo formado por la única especie tetraploide *Coffea arabica*, originaria de Etiopía y del oriente africano, es la especie más importante ya que el 70% de la producción mundial proviene de ella; se caracteriza porque produce un tipo de bebida con un bajo contenido de cafeína (0.8-1.5%). aroma fuerte y por lo general cuando se prepara bien tiene una alta calidad, Orozco (1986). Se componen de numerosas variedades, algunas de las cuales corresponden a mutaciones naturales encontradas en plantaciones

comerciales (var. Pacas, en El Salvador) o en colecciones de centros experimentales (Caturra), Orozco (1986). La característica principal del *Coffea arabica* en América Latina es que presenta una base genética muy estrecha, pero se observa que en el centro de diversidad de Etiopía los arabica presentan una gran variabilidad fenotípica. No se sabe si ésta variabilidad aparente, viene más del medio o de una verdadera variabilidad genética (Monaco et al. 1963).

El centro de origen exacto de *Coffea arabica* no se conoció pero parece claramente que su centro de diversificación se sitúa en zonas de altitud (1500 msnm a 2500 msnm) dentro de las montañas de los bosques del sur-oriente de Etiopía. Fue introducido y cultivado en Yemen a partir del siglo XIV. Fue introducido en el siglo XVII en la India y en Ceylán luego a Indonesia, dentro de la isla de Java, (Carvahlo,1988). Es este origen quien a partir del Jardín Botánico de Amsterdam (una sola planta), fue luego transferido a Surinam luego en la Guyana Francesa, también al Jardín Botánico de París. En la misma época un segundo origen Yeménito fue introducido a la Isla Reunión (*Coffea arabica* var. Borbón, luego a Brasil hacia la mitad del siglo XIX (Carvahlo, 1988; Eskes, 1989). Es a partir de éstos dos orígenes bien identificados de *Coffea arabica* que el cultivo del café se extiende en América, y en consecuencia las variedades comerciales cultivadas presentan una marcada uniformidad genética como el Typica y el Bourbon no tienen resistencia a la mayoría de las plagas, las variedades comerciales actuales son muy susceptibles, (Carvahlo, 1988; Eskes, 1989).

Estos dos tipos de especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora* difieren, además del número cromosómico, en algunos aspectos básicos como la forma de polinización -alógama para la mayoría de las especies diploides- debido a su sistema de autoincompatibilidad, o autógama para el *Coffea arabica*. La alogamia origina una heterogeneidad entre las plantas de las

especies diploides, mientras que las variedades de *Coffea arabica* son más homogéneas, debido a que su tasa de polinización cruzada varía de 5% a 20% (Monaco, et al. 1963).

Con respecto a las especies alógamas, *Coffea canephora* y *Coffea liberica* presentan un gran polimorfismo, formadas por poblaciones que han evolucionado en nichos ecológicos muy diferentes. *Coffea canephora*, posee una diversidad genética que puede apreciarse mejor si se considera que el área de distribución incluye la selva altamente húmeda de Guinea y Congo, y llega hasta la región del lago Victoria, desde el nivel del mar hasta 800 msnm, Anzueto (1993).

2.2 FUENTES DE RESISTENCIA EN *Coffea spp*

Hace unos 30 años Reyna (1968), se determinó que la variedad Robusta (*Coffea canephora*) posee genes de resistencia al ataque de nematodos y otras enfermedades de la raíz. Sin embargo debido a sus características de polinización cruzada, las progenies presentan gran variabilidad genética en su resistencia, si se trabaja con semilla obtenida por polinización no controlada (Castillo, 1986; Morera, 1986; Anzueto, 1993).

Fazuoli et al. (1987), demostraron que en *Coffea canephora* existe una marcada variabilidad en cuanto a la resistencia a *Meloidogyne incognita*, observando líneas que presentan plantas completamente resistentes (100%) a moderadamente resistentes (48.1%). Por lo que en estas líneas se hace necesario una selección más rigurosa de aquellas que presentan porcentajes altos de resistencia antes de ser utilizadas como porta-injerto para variedades comerciales.

Rebel et al. (1978) encontraron fuentes de resistencia en

poblaciones y progenies de las especies *Coffea canephora*, *Coffea arabica*, *Coffea racemosa*, *Coffea dewevrei*, *Coffea congensis* y algunos híbridos interespecíficos al nemátodo *Meloidogyne incognita*. En la especie *Coffea canephora* se evaluaron los cultivares: Laurentii, Konillou, Robusta, Gariní y Bukobensis, presentando un 13.6% de plantas resistentes dentro de esta especie.

En *Coffea arabica* se encontró 9.3% de plantas resistentes, algunas introducciones de Etiopía se revelaron como portadoras de resistencia, dentro de las más sobresalientes se destacan Ennara, Sudan Rume y Amphillo, Rebel et al.(1978). En las poblaciones de híbridos interespecíficos el germoplasma de ICATU (*Coffea canephora* x *Coffea arabica*) presentó 5.3% de plantas resistentes. En las poblaciones del Híbrido de Timor se obtuvieron resultados semejantes. La progenie 832/1 presentó apenas 3% de plantas resistentes y en la progenie 832/2 se encontró 7.9% indicando que ésta posee mayores genes de resistencia que 832/1, Rebel et al. (1978); Fazuoli, et al. (1978).

En el análisis de plantas de otras especies, *Coffea racemosa* fue el que presentó el mayor porcentaje de plantas resistentes (60.8%) y en las poblaciones de *Coffea congensis* el porcentaje de plantas resistentes fue menor.

Por otra parte Anzueto, (1993) estudió la variabilidad al interior de unas introducciones de Etiopía de la colección ORSTOM/IRCC en contra de *Meloidogyne spp.* El aspecto más importante a señalar es el alto nivel de resistencia encontrado dentro de alrededor del 70% de las descendencias estudiadas. Este hecho es sorprendente dentro de las evaluaciones del material silvestre de *Coffea arabica* y constituye una novedad. Por lo que los orígenes Etiopes podrían constituirse en un material de gran valor para el mejoramiento genético en un programa de hibridación hasta el momento poco explotado en países de Centroamérica. El mismo autor estudió la variabilidad genética de varias descendencias de *Coffea*

canephora (obtenidas por polinización libre) procedentes de la colección del CATIE (Turrialba, Costa Rica) y de Brasil. Estas fueron evaluadas en contra de dos cepas diferentes, una de Guatemala y otra procedente de Brasil, en donde se constata en general la presencia de resistencia parcial al interior de las descendencias.

2.3 RELACIONES FITOPARASITICAS

Generalmente los nemátodos fitoparásitos se clasifican en tres grandes grupos de acuerdo con el tipo de relación parasítica que exista con la planta. Los nematodos que atacan la superficie o parte exterior de los tejidos de la planta se denominan ectoparásitos, éstos no penetran dentro de las raíces. Entre los que se pueden clasificar como ectoparásitos están *Xiphinema* y *Tylenchorhynchus*.

Por otro lado, los semiendoparásitos son aquellos que solamente la parte anterior del cuerpo de los nematodos penetra dentro de las raíces, la parte posterior queda dentro del suelo (*Trophotylenchulus*, *Tylenchulus*).

Los endoparásitos son los que penetran enteramente y atacan los tejidos internos de las raíces. Estos pueden presentar otras categorías adicionales: endoparásitos migratorios, los cuales se mueven dentro de las raíces, destruyendo progresivamente el tejido cortical. Todo el ciclo vital ocurre en las raíces, pero los nematodos pueden salir al suelo cuando las condiciones son desfavorables, por ejemplo cuando ya no exista raíces por destruir. En este grupo las especies más importantes pertenecen a la familia Pratylenchidae, cuyos géneros representativos son *Pratylenchus* y *Radopholus* estos dos géneros pueden destruir todo el parenquima

cortical hasta el cilindro central. Los endoparásitos sedentarios son aquellos en los que la hembra se fija en un sitio para nutrirse dentro de la raíz, luego se hincha en forma de bolsa, sin lograr movimiento. Estas especies generalmente ocasionan agallas típicas, las larvas en el segundo estadio infectivo penetran sobre la raíz, se mueven sobre las células no diferenciadas de la raíz y, finalmente, se colocan con sus cabezas en el cilindro central. Con sus estiletes perforan las paredes de la células e inyectan secreciones de sus glándulas esofágicas, que causan agrandamientos de las células en el cilindro vascular y aumentan la proporción en de la división celular, que da lugar a la formación de células gigantes. Dentro de los endoparásitos sedentarios el género más importante es *Meloidogyne* por las pérdidas ocasionadas a la agricultura, Taylor y Sasser (1983).

2.4 IMPORTANCIA DE LOS NEMATODOS EN LA PRODUCCIÓN DEL CAFÉ

Actualmente se considera que las pérdidas debidas a los nematodos son cercanas al 20% y que en algunos casos, donde el nematodo tiene adecuadas condiciones de desarrollo, (temperatura, humedad, tipo de suelo) puede llegar a eliminar las plantas. En el estado de Sao Pablo, Brasil, los nematólogos estimaron pérdidas ejercidas en algunos cultivos por nematodos del género *Meloidogyne* más otros como se expresa en el cuadro No. 1, Tronconi (1986). Además en 1976 en Carolina del Norte, los cultivadores de tabaco encontraron campos en donde la producción fue solo 75.5% del rendimiento comercial. Pero en los pequeños agricultores de países en desarrollo las pérdidas pueden ser de 25% a 50%, Taylor y Sasser (1983) .

Cuadro No. 1. Pérdidas en porcentaje estimadas en Sao Pablo, Brasil, debido a nematodos (1976).

CULTIVO	PERDIDAS EN PORCENTAJE	
	<i>Meloidogyne spp</i>	<i>Meloidogyne spp</i> + otros
Frijol	5	10
Cítricos	—	10
Café	15	20
Algodón	5	8
Papaya	10	10
Soya	10	15
Caña de azúcar	15	30
Tomate	10	15
Maíz	—	5
Oleaginosas	10	15
Papa	10	12
Piña	5	15

Fuente: Tronconi, 1986.

Se calcula que de 40-45% de la caficultura paulista está afectada por nematodos. Otras estimaciones hacen notar que en 1977 se destruyeron aproximadamente 3,300,000 plantas en viveros que se encontraban infestados por estos organismos. Se tiene la seguridad que habían mucho más plantas que no fueron destruidas y trasladadas a diferentes partes del país, constituyéndose en el principal medio de diseminación de los nematodos a otros lugares de Brasil, (Fazuoli, 1988).

2.4.1 GÉNEROS Y ESPECIES MAS IMPORTANTES

Entre los géneros de nematodos comúnmente asociados a café se encuentran: *Meloidogyne spp* y *Pratylenchus spp*.

Los daños causados por *Pratylenchus coffeae* son conocidos desde hace casi 100 años en Java donde el 95% de las plantas fueron

destruidas. En Brasil ésta especie asociada con otras, ocasionan el 5% de pérdidas y en Guatemala es bien conocido que es el responsable de los daños sobre más de la mitad de la superficie en producción, Anzueto (1993).

Los nematodos del género *Meloidogyne* endoparásitos sedentarios, son parásitos obligados de las partes subterráneas de las plantas, es uno de los más importantes en agricultura y ampliamente distribuidos en el mundo. *Meloidogyne exigua* es la especie comúnmente encontrada en Centroamérica y un problema en el resto de los países de Latinoamérica. Medina et al citado por Bolivar (1984) determinaron que este nematodo afectó severamente la caficultura de Río de Janeiro, y Goncalves et al (1978), menciona que el café fue sustituido por la caña de azúcar en este estado. Entre los síntomas visibles están la formación de agallas redondeadas y las masas de huevos se desarrollan en el interior de la epidermis de las raíces (Morera, 1986). A pesar que esta especie se encuentra ampliamente distribuida en las zonas cafetaleras de muchos países productores, se ha observado que induce la formación de agallas pero no destruye la raíz y por lo general no hay mortalidad de plantas, pues las raíces tienen la oportunidad de seguir absorbiendo nutrimentos. Si estas plantas se siembran en suelos fértiles, en condiciones agronómicas adecuadas y se utilizan nematicidas pueden continuar produciendo por muchos años, Fazuoli (1988).

Meloidogyne incognita ha sido señalado por primera vez como parásito en café en Guatemala por Chitwood & Berger (1960). Diez años más tarde, Lordello y Millo Filho (1970) citados por Anzueto (1993) revelaron su presencia en Brasil. Fazuoli (1988) considera que es el nematodo más importante ya que afecta y destruye la raíz del cafeto. Jaehn (1990) menciona que *Meloidogyne incognita* esta presente en cafetales de Guatemala y El Salvador. Dentro de sus características esta el de poseer una gran capacidad para destruir el sistema radical de la planta dejándola prácticamente

imposibilitada para la formación de nuevas raíces. Finalmente quedan solo las raíces más gruesas, las cuales tienen una capacidad muy limitada de absorción de nutrimentos.

Algunas características que favorecen su patogenicidad son las siguientes:

1. Las aplicaciones de nematicidas no tienen efecto benéfico pues se ha observado comúnmente que a pesar de que se aplican cantidades grandes de estos productos, no se logra controlar el problema, Jaehn et al. (1976 a), Jaehn et al. (1976 b) y Jaehn (1976), Baeza Aragón (1978).

2. Posee una amplia gama de hospedantes; por ejemplo casi todas las malezas asociadas al cultivo del café, son sus hospedantes, Baeza-Aragon (1978), así como otros cultivos (caña de azúcar, algodón, soya, etc). En Colombia se determinó que las *Ingas spp* árboles empleados comúnmente como sombra de café, también son hospedantes de este nematodo.

3. Tiene una alta capacidad de reproducción, lo cual lo hace mucho más agresivo que otros nematodos, Rebel, K. et al. (1978).

4. Alta persistencia en el suelo. Según algunas observaciones preliminares, se ha observado que no se destruye fácilmente, aún dejando el suelo en barbecho, Rebel, K. et al. (1978).

5. Con la prueba de hospedantes diferenciales de la Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos, cuatro razas han sido identificadas al interior de *Meloidogyne incognita* con una patogenicidad específica de especies vegetales diferentes (tabaco, algodón, chile, melón, maní y tomate), de las cuales se han reconocido tres que atacan al café en el Brasil. Además en 1987 se informó de la presencia de la raza 5 en cafetales de Colombia, Villalba (1983). Este factor complica la situación, puesto que no

solamente hay que conseguir resistencia para un género de nematodo sino también para sus razas fisiológicas, (Fazuoli, 1988).

Abrego y Holdeman (1961) en El Salvador, realizaron un reconocimiento de campo en el que indican que el nematodo de agallas de la raíz *Meloidogyne javanica* y las dos especies de nematodos causantes de lesiones *Pratylenchus coffeae* y una segunda no descrita son probablemente el mayor problema en la producción de plantas jóvenes de café. Posteriormente Abrego (1972) señala que *Meloidogyne spp* fue detectado causando graves daños radicales en una gran variedad de cultivos, principalmente hortalizas y *Meloidogyne incognita* se encontró parasitando papa y kenaf.

Vega (1991) señala, que en El Salvador en un reconocimiento a nivel nacional, el muestreo realizado en la zona occidental indica que de 84 fincas muestreadas, 26 presentan *Meloidogyne spp* y *Pratylenchus spp*, 25 *Meloidogyne spp* y 14 *Pratylenchus spp*.

Marban (1992) menciona que se realizaron pruebas para la identificación morfométrica de *Meloidogyne spp* y se encontró que la especie presente se trata de *Meloidogyne incognita*, (ver anexo).

2.5 INVESTIGACIÓN SOBRE LA RESISTENCIA AL GENERO *Meloidogyne*

La resistencia a las especies de *Meloidogyne spp* pueden definirse como una característica o un conjunto de características de las plantas que inhiben la reproducción de una o más especies de *Meloidogyne spp*. Para tener valor en el control práctico del nematodo del nódulo de la raíz, un cultivar resistente debe prevenir una gran proporción de la reproducción, generalmente 90% o más en comparación con los cultivares susceptibles de la misma especie. Las plantas tolerantes tienen características que reducen

el daño al desarrollo o rendimiento de una planta infectada por una especie de *Meloidogyne*. La tolerancia generalmente implica un considerable incremento en el rendimiento o desarrollo, comparado con cultivares de plantas que carecen de tolerancia o resistencia.

Por estricta definición, las plantas tolerantes pueden ser altamente susceptibles.

2.5.1 MECANISMOS DE RESISTENCIA EN LA RESPUESTA DE LAS PLANTAS.

Muchos son los mecanismos involucrados en la respuesta de las plantas a los nematodos. De acuerdo a Huang (1985) se sabe que las reacciones comúnmente asociadas en el ataque de parásitos son las fitoalexinas y la hipersensibilidad, Huang (1985). La hipersensibilidad es una reacción caracterizada por una rápida muerte de la célula por infección del tejido de la planta en respuesta al ataque del patógeno. Este tipo de respuesta aparece cerca de las 24 horas después de inoculado. El resultado es una necrosis específicamente en áreas adyacentes al nematodo para detener la invasión del parásito y prevenir su desarrollo. Sin embargo, el grado de necrosis y el tiempo de aparecimiento puede diferir en plantas del mismo cultivar. Algunas plantas muestran respuesta de no agallamiento o las agallas pueden ser pequeñas, inconspicuas o poco en número. La formación de agallas no es indicativo del éxito del desarrollo del nematodo. Algunas agallas contienen únicamente fragmentos de nematodos, mientras que en otras no se detectan juveniles ni áreas necróticas, el nematodo se desintegra y desaparece, Canto-Sáenz (1985). La reacción de hipersensibilidad ocurre cuando el patógeno ataca una planta resistente y es considerada por los patólogos como mecanismos de defensa, Huang (1985). Las plantas incompatibles no son siempre hipersensibles, sin embargo en algunos casos los juveniles tienden

a unirse cercanamente y paralelamente al cilindro central. Si se forman células gigantes pueden ser anormales y no desarrollarse completamente. En tales células el nematodo podrá desarrollarse, pobre o lentamente con cero o pocos huevos. El grado de desarrollo de las células gigantes está relacionado con el grado de desarrollo del nematodo. La senescencia de las células gigantes en plantas incompatibles puede colapsar dejando amplias cavidades en las raíces, y cuando existe poco desarrollo, las células gigantes son indistinguibles de aquellas producidas en plantas compatibles. Tanto en las plantas resistentes como en las susceptibles las larvas penetran en número casi iguales. En las raíces de plantas susceptibles, la formación de células gigantes (sincito) es estimulada por la alimentación de la larva, ésta se desarrolla normalmente hasta la maduración produciendo huevos de los cuales emergen las larvas viables. En las plantas resistentes, ésta secuencia es interrumpida o puede fallar en cualquier punto.

Las larvas pueden morir rápidamente a causa de una reacción inmune después que ha comenzado a alimentarse. Sus células gigantes pueden no formarse o ser defectuosas. Si la formación de células gigantes no es normal, las larvas pueden fallar en su desarrollo como adulto macho o hembra o producir pocos huevos viables o ninguno, Taylor y Sasser (1983).

Los compuestos fenólicos están asociados en forma evidente a la presencia de nematodos y para muchos cultivos la comparación entre cultivares resistentes y susceptibles han demostrado que el nivel de ese compuesto es mayor en los primeros (Mazzafera y Goncalves 1989). La polifenoloxidaza y peroxidaza enzimas involucradas en la vía metabólica de los fenoles, están asociados a la resistencia de las plantas a las plagas.

En café, estos autores llevaron a cabo un estudio en donde compararon el contenido de fenoles libres, peroxidasa y polifenoloxidasa en plántulas del cultivar Mundo Novo de *Coffea*

arabica susceptible y el Apoata de *Coffea canephora* resistente cuando fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* raza 2, en la evaluación el cultivar Apoata presentó una cantidad mayor de polifenoloxidaza que el Mundo Novo, tanto en plántulas inoculadas como no inoculadas; esto indica la posibilidad de esa enzima de estar involucrada en los mecanismos de resistencia a *Meloidogyne incognita*.

2.5.2 METODOLOGICA PARA EVALUAR LA RESISTENCIA

Para establecer un programa de selección de material resistente a nematodos, se debe partir de un método confiable y rápido. En café los estudios de resistencia se han llevado a cabo sin definir con exactitud una metodología para la conducción de los trabajos, interpretación y presentación de los resultados. PROMECAFE dio prioridad a este aspecto, orientando la investigación en la evaluación y observación de una metodología para la resistencia del café a *Meloidogyne exigua*. La metodología consiste en inocular plantas en estado de primer par de hojas verdaderas bien desarrolladas. Como fuente de inóculo se aplican suspensiones de huevos y juveniles del nematodo *Meloidogyne exigua* ya que esto permite uniformizar y cuantificar la cantidad inoculada por planta. El nivel de inóculo aplicado de 4000 a 6000 ui/planta haciendo la evaluación de las variables 90 días después, Morera (1990).

En países como Brasil donde *Meloidogyne incognita* es el nematodo que afecta seriamente la caficultura se han realizado numerosas investigaciones para evaluar la resistencia a esta especie. Goncalvez y Ferraz (1987), llevaron a cabo un ensayo para estudiar la reacción de cultivares de *Coffea spp* y de poblaciones derivadas de híbridos interespecíficos al nematodo *Meloidogyne incognita* raza

3. Las inoculaciones se realizaron 60 días después del trasplante con aproximadamente 6000 huevos (con posibles larvas recién eclosionadas). La evaluación se realizó 90 días después. Para estudiar el comportamiento de los genotipos probados se escogieron dos métodos: el método 1, utiliza el criterio del número de ootecas (utilizando notas de 0 a 5) encontrados en el sistema radical por el examen visual o al estereoscopio, (Taylor y Sasser, 1983), usando la escala:

- 0= 0 masas de huevos
- 1= 1 a 2 masas de huevos
- 2= 3 a 10 masas de huevos
- 3= 11 a 30 masas de huevos
- 4= 31 a 40 masas de huevos
- 5= mas de 100 masas de huevos

Para cuantificar la resistencia en este método, los genotipos se clasifican en cuanto a la susceptibilidad a través de criterio de Taylor y Sasser (1983). según el cual, las plantas que presentan notas referentes al número de ootecas menor o igual a dos son resistentes (R) y aquellas con valores superiores son consideradas como susceptibles (S).

El método 2 consiste en determinar el número de huevos y larvas por 0.5 gramos de raíz secundaria y terciaria por medio de licuado y tamizado con hipoclorito de sodio al 1% por 30 seg. Seguidamente se calcula el índice de susceptibilidad de hospederos (ISH) que es el número de huevos y larvas de cada tratamiento expresado en porcentaje. Con ese parámetro se separaron las plantas por categorías basándose en un criterio adoptado por Fassuolitis (1985). En este método la escala utilizada fue:

CATEGORÍA	CARACTERÍSTICA
0	0.1-10% de huevos y larvas de los padres susceptibles
1	10.1-25% " " " " "
2	25.1-50% " " " " "
3	50.1-100% " " " " "

Estos investigadores encontraron que el coeficiente de correlación entre el método 1 y el 2 fue de 0.81 (altamente significativo). El método de evaluación a través del grado de infestación (notas relativas al número de ootecas en el método 1), es un proceso eficiente, rápido y de fácil ejecución, utilizado generalmente en selecciones individuales de materiales promisorios, donde cantidades de plantas a estudiar es grande.

En cambio cuando se requiere de una apreciación más detallada sobre el comportamiento de los materiales estudiados, se debe dar preferencia a la evaluación a través del número de huevos y larvas (método 2). A pesar de la alta correlación entre éstos dos métodos Sasser et al. (1984) considera que el índice de reproducción de los nematodos no constituye el mejor indicador de la resistencia de las plantas pero es un gran elemento de comparación entre plantas por su aptitud a la reproducción de los nematodos. Estos investigadores sugieren criterios, por una parte el índice de agallas (o de masas de huevos) y por otra parte el poder de reproducción de los nematodos R (factor $R = \text{población inicial} / \text{población final}$). Sin embargo, la mayor parte de los trabajos de evaluación de la resistencia del café a *Meloidogyne spp* se han basado en la notación del índice de agallas que representa el número de agallas por sistema radical o por gramo de raíz.

2.6 NATURALEZA DE LA RESISTENCIA

La resistencia a las especies de *Meloidogyne spp* puede deberse a un solo gen mayor (resistencia vertical o resistencia específica a una raza). Las plantas con esta clase de resistencia caen en la categorías desde inmunes a hipersensitivas, (Agrios, 1973).

La resistencia puede deberse a varios genes menores, cada uno de los cuales tiene un efecto pequeño (resistencia parcial o no específica). Tal resistencia es cuantitativa, variando de alta a baja según Taylor y Sasser (1983). Su expresión es a menudo incompleta, es decir que ella no se traduce en inmunidad: generalmente el parásito se instala (penetra) pero su desarrollo posterior es frenado, Gil et al. (1990). La resistencia vertical presenta por naturaleza el riesgo de ser anulada por la aparición de nuevas razas del patógeno. La resistencia parcial (no específica) limita los efectos de la enfermedad y evita de ejercer una fuerte presión de selección sobre el parásito. Así ésta resistencia es en principio más estable que la resistencia específica.

Por lo que se refiere al cafeto se ha evidenciado la existencia de estos dos tipos de resistencia para *Hemileia vastatrix*, Gil et al. (1990). El trabajo de López et al. (1976), citado por Gil et al. (1990) han permitido poner en evidencia un sistema de relación hospedero-parásito del tipo "gen por gen" Flor (1942) mono u oligogénico, que caracteriza la resistencia específica del cafeto a *Hemileia vastatrix*. Resistencia incompleta a la roya ha sido descubierta en *Coffea arabica* principalmente en los genotipos provenientes de Etiopía, comprobando así que el centro de diversificación de una especie puede ser también una fuente de resistencia incompleta fuerte, Gil et al. (1990). La especie *Coffea canephora* es conocida también por su resistencia a la roya anaranjada a través de la variedad Conilón, demostrando tanto en el campo como en el laboratorio una gran variabilidad en el nivel de resistencia parcial entre individuos.

Los estudios conducidos en Brasil con el genotipo etiopense Amphylllo utilizado como porta-injerto con variedades comerciales de Mundo Novo y Catuaí han mostrado resistencia a *Meloidogyne exigua* y a *Meloidogyne incognita*, sin embargo en otras regiones se ha

puesto en evidencia una sensibilidad del portainjerto *Amphyllo* a *Meloidogyne incognita*. Esto puede sugerir la existencia de virulencia específica de diferentes razas de *Meloidogyne incognita* o la presencia de otras especies del género *Meloidogyne* asociada a café, Fazuoli et al. (1987). En otros estudios Anzueto (1993), encontró en las introducciones etiopenses de *Coffea arabica* una gran riqueza en cuanto a la resistencia a *Meloidogyne spp*, esto es importante porque todas las variedades comerciales cultivadas pertenecientes a esta especie son muy sensibles y el único recurso de resistencia es *Coffea canephora*. Por otra parte el mismo autor confirmó la gran variabilidad genética para la resistencia, que existe en *Coffea canephora* donde se muestra la necesidad de selección al interior de esta especie para aumentar la resistencia. Para *Pratylenchus spp* (cepa procedente de Guatemala) Anzueto menciona que la tolerancia y/o resistencia parece poligénica para *Coffea canephora*. En cuanto a *Meloidogyne spp*, el mismo autor identificó, efecto de genes mayores en las introducciones etiopenses de *Coffea arabica* y una probable resistencia de tipo poligénica en las descendencias de Catimor (originada por uno de sus progenitores: *Coffea canephora*). En *Coffea canephora* sugiere la presencia de genes menores asociada probablemente a uno o numerosos genes mayores.

2.7 CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL USO DE UNA VARIEDAD DE PORTAINJERTO

Actualmente se observa interés muy grande por parte de los países de Centroamérica, en el sentido de identificar plantas de *Coffea sp* resistentes a nematodos. Sin embargo, a pesar de su interés e

importancia como plaga en los países de Centroamérica ha sido poco el tiempo que se ha dedicado a la investigación sobre el particular. Se ha observado que en las variedades comerciales cultivadas provenientes de *Coffea arabica* (Catuaí, Caturra, Typica, Mundo Novo, etc.) no presentan ninguna resistencia a plagas debido a su estrecha variabilidad genética, Moreno y Castillo (1990), (ver 2.1). Sin embargo existen evidencias de resistencia a los nematodos principalmente a *Meloidogyne spp* en introducciones salvajes de Etiopía, Anzueto (1993). Los cafetos que presentan esta resistencia tienen muchos defectos: baja producción, variabilidad en la calidad de bebida, en la resistencia a las enfermedades del sistema aéreo (roya, CBD) plagas del sistema radical principalmente nematodos, y variabilidad en la granulometría. La utilización de los etíopes debe realizarse a través de cruzamientos con las variedades comerciales para introgresar a dichas variedades la resistencia a *Meloidogyne spp*. Hay que tomar en cuenta que este proceso de mejoramiento para obtener una variedad por la vía del *Coffea arabica* es lento y podría ser difícil encontrar materiales silvestres con resistencia a todas las especies de *Meloidogyne spp* (*exigua*, *incognita* y sus razas, *arabica*), además es poco probable encontrar resistencia a *Pratylenchus* en arabica, Anzueto (1993);

Se ha encontrado diferentes fuentes de resistencia en las especies diploides, por ejemplo: *C. liberica*, *C. dewevrei*, *C. racemosa*, *C. stenophylla*, Rebel, K. et al. 1978; Fazuoli, L.C 1987. en contra de *Meloidogyne y Pratylenchus*. Las fuentes de resistencia más conocida para estos nematodos es la especie *Coffea canephora* var. Robusta, por lo que hay que considerar dos formas clásicas para utilizar ésta fuente de resistencia en un programa de mejoramiento:

1. Introgresión de los genes de resistencia de las especies diploides en la especie *Coffea arabica* aquí se encuentra la creación del Icatu y el Arabusta, así como la utilización del

Híbrido de Timor (cruzamiento natural entre *Coffea arabica* x *Coffea canephora*) con variedades comerciales dando origen al Catimor y Sarchimor. Es un proceso lento, que tiene la desventaja de no poder incrementar la calidad organoléptica del *Coffea arabica*.

2. Variedad Porta-injerto: las ventajas de esta alternativa son las siguientes:

- A. El método de injertación es bien conocido y dominado en países de Centroamérica y específicamente en El Salvador, Reyna (1963).
- B. En el sistema descrito anteriormente, se utilizan semillas, la producción de estas es barata y a gran escala.
- C. Existen evidencias de resistencia en contra de cochinillas y fusarium, por lo que les confiere una ventaja más en cuanto a la protección contra las plagas del suelo.
- D. Existe una buena compatibilidad entre el patrón (*Coffea canephora*) y el injerto (variedades comerciales).
- E. La resistencia sería de tipo parcial lo que permitiría una mayor durabilidad.

La importancia económica es obvia, pues la utilización de esta práctica permite evitar los costos de control químico por nematicidas, en Guatemala Villain (1993) demostró que la variedad portainjerto de "Robusta" es la única solución económica viable para la lucha contra el nemátodo del género *Pratylenchus*. Una aplicación de nematicida en un año corresponde al costo adicional de la injertación, debe considerarse también que los nematicida hay que aplicarlos cada año, comparado con la práctica de portainjerto que solo se realiza una sola vez. Además este mismo autor mostró que los cuatro nematicidas utilizados, no permitieron un control eficaz del nematodo. Las pérdidas en cosecha son aún mayores que

cuando se usa la variedad portainjerto.

El uso de los portainjertos no esta limitado a café, ya que es ampliamente conocido y utilizado para la producción de frutales y aguacate. Los tipos de injertos son variados desde árboles para porte enano, de gran precocidad, resistentes a plagas (en cítricos como micoplasma, pulgones, hongos), para diferentes tipos de suelo ya sea húmedos o secos, a terrenos calizos y salinos, resistentes a las heladas (peras y manzanas), a la sequía o para la inducción de vigor (ciruelas), precocidad y buena longevidad (melocotón).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en El Salvador, con el apoyo de la Fundación Salvadoreña para la Investigación del Café PROCAFE, en el laboratorio e invernadero de la Fundación, ubicado a 960 msnm en el Departamento de La Libertad. Las condiciones de temperatura en el invernadero fueron de 24°C en promedio y una humedad relativa de 74%.

3.1 IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE DEL NEMATODO *Meloidogyne*

La población de nematodo agallador utilizada en el experimento fue recolectada en la región de Izalco, Depto de Sonsonate a 60 km del Occidente de San Salvador. La determinación taxonómica de la cepa, se llevo a cabo con un estudio morfométrico efectuado con dicha población exitosamente multiplicada, a partir de una sola masa de huevos por técnicos del depto. de Protección Vegetal. Dicho trabajo fue realizado bajo la asesoría del Dr. Nahún Marban de CATIE, Costa Rica, para su posterior identificación. A través de dicho estudio se pudo determinar que la especie recolectada es una cepa de *Meloidogyne incognita* (Ver anexo).

3.2 MATERIALES EVALUADOS.

Los materiales evaluados pertenecen a la especie *Coffea canephora* variedad "Robusta", provenientes de la colección del CATIE, en donde en 1991, se realizaron hibridaciones controladas bajo un arreglo factorial entre tres genotipos madres y cuatro genotipos como padre, Bertrand (1992), el testigo utilizado fue el cultivar "Pacas" de la especie *Coffea arabica*, cuadro 2.

A continuación se detallan los híbridos, la descripción de los genotipos y procedencia de las introducciones de *Coffea canephora* utilizadas en el trabajo:

Introducción de Turrialba	Descripción de los genotipos (clones)	Procedencia
T-3561 (2-1)	Robusta L-48	Congo Belga
T-3757 (2-2)	Robusta SA-13	Indonesia
T-3755 (1-1)	Robusta BP-46	Indonesia
T-3753 (1-1)	Robusta BP-29	Indonesia
T-3752 (1-3)	Robusta BP-25	Indonesia
T-3751 (1-2)	Robusta BP-4A	Indonesia

CUADRO No 2. FAMILIAS DE "ROBUSTA" Y TESTIGO "PACAS" ESTUDIADOS EN ESTE TRABAJO.

No. DE FAMILIA	DESCRIPCIÓN
1	T-3751 (1-2) x T-3561 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
2	T-3752 (1-3) x T-3561 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
3	T-3753 (1-1) x T-3561 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
4	T-3755 (1-1) x T-3561 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
5	T-3751 (1-2) x T-3757 (2-2) <i>Coffea canephora</i>
6	T-3752 (1-3) x T-3757 (2-2) <i>Coffea canephora</i>
7	T-3753 (1-1) x T-3757 (2-2) <i>Coffea canephora</i>
8	T-3755 (1-1) x T-3757 (2-2) <i>Coffea canephora</i>
9	T-3751 (1-2) x T-3757 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
10	T-3752 (1-3) x T-3757 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
11	T-3753 (1-1) x T-3757 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
12	T-3755 (1-1) x T-3757 (2-1) <i>Coffea canephora</i>
13	TESTIGO "PACAS" <i>Coffea arabica</i>

3.3 OBTENCIÓN DEL INOCULO

Para la obtención de la suspensión de huevecillos se utilizaron raíces de tomate infectadas, licuando durante 40 segundos las raíces de tomate en una solución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 0.05% lo cual permitió recuperar una gran cantidad de huevos y presentó la ventaja de limpiar el inóculo con la desinfección de la superficie del huevo y suavizar el tejido vegetal para extraer los huevecillos, Anzueto (1993). Después se pasó la solución sobre dos tamices de 200 y 500 mesh para recuperar la mayor cantidad de huevecillos en el último tamiz, se procedió a lavar bien con agua para eliminar el exceso de cloro; el tiempo de procesado del material no sobrepasó de los cuatro minutos (licuado y tamizado), esto se hizo con el propósito de que el hipoclorito no dañara la superficie del huevo y obtener un inóculo viable.

3.4 INOCULACIÓN Y CANTIDAD DE INOCULO

Cuando las plantas llegaron al estado de "palito de fósforo" (tres meses después de sembradas) fueron trasplantadas a macetas y transcurridos 15 días del trasplante se procedió a la inoculación. Cada planta fue inoculada con 2000 huevos+J2 por planta cerca de las raíces de las plantitas para que la suspensión penetrara, Anzueto (1993). El substrato utilizado fue una mezcla de arena y tierra en proporción de 1:1 para la cual se esterilizó con calor y bromuro de metilo.

3.5 VARIABLES MEDIDAS

La evaluación se realizó 4 meses después de inoculado el material, a excepción de la variable altura de la planta (ALT), en la que se hizo una lectura a los 3 y 4 meses después de inoculadas

las plántulas. Las variables medidas fueron:

- peso fresco de la parte aérea (PFA) en gr.
- peso fresco de la parte radical (PFR) en gr.
- número de nematodos por planta (NN)
- altura de la planta (a 3 y 4 meses después de inoculado) en cm.

3.6 COMPARACIÓN ENTRE MÉTODOS DE INOCULACIÓN: J2 Y HUEVOS.

Muchos han sido los trabajos sobre la utilización de suspensión de huevecillos (Morera, 1990; Anzueto 1993; Goncalvez y Fazuoli, 1987) en los trabajos de resistencia. Esto obedece a que la técnica de extracción es sencilla y a la facilidad de manipulación del inóculo. Mientras que la opción de trabajar con J2 (estadios infectivos) asegura una mayor penetración del nematodo en la planta, presenta el inconveniente de manipular el inóculo con cuidado y rápidamente, Anzueto (1993).

El propósito de este experimento fue comparar dos fuentes de inóculo, el primer tratamiento se realizó conforme a la experiencia reportada por Anzueto (1993) en la sección 3.4 y en el segundo tratamiento se utilizó 400 larvas J₂/planta.

El material utilizado para estas pruebas fue:

- Híbrido 10 [T-3752 (1-3) x T-3757 (2-1)] *Coffea canephora*
- Híbrido 12 [T-3755 (1-1) x T-3757 (2-1)] *Coffea canephora*
- Testigo: cultivar "Pacas" *Coffea arabica*

Cuando las plantas llegaron al estado de "palito de fósforo" (tres meses después de sembradas) fueron trasplantadas a macetas y transcurridos 15 días del trasplante se procedió a la inoculación, con las cantidades arriba indicadas.

La extracción de J2 se realizó por la técnica de incubación de las raíces de tomate para obtener estadíos infectivos.

El diseño experimental fue bloques al azar con 2 tratamientos principales (J2 y huevos), 3 materiales genéticos estudiados, 6 bloques y 4 plantas por material genético evaluado.

3.7 ANÁLISIS CUALITATIVO DE LA RESISTENCIA.

Clásicamente en los estudios de resistencia a nematodos se hace un análisis cualitativo según escalas propuestas por Taylor (1967) y Taylor y Sasser (1973). En este caso, este tipo de escala permite detectar sencillamente las mejores combinaciones, en este caso los híbridos fueron creados siguiendo un plano de cruzamiento donde se puede hacer este análisis cualitativo en función de las hembras y de los machos.

Los híbridos de "Robusta" (*Coffea canephora*) fueron clasificados por su resistencia de acuerdo a la escala de Taylor (1967), el criterio utilizado para esta clasificación cualitativa fue el índice de reproducción del nematodo (IR) = numero de nematodos por planta evaluados (de *Coffea canephora*) en cada bloque/promedio de la planta testigo por bloque.

0 = no se reprodujo:	inmune = I
1 = menor de 1%	: altamente resistente = HR
2 = 1-10%	: muy resistente = MR
3 = 10-25%	: moderadamente resistente = MMR
4 = 25-50%	: ligeramente resistente = LR
5 = mayor de 50%	: susceptible = S (tasa de reproducción normal del nematodo)

3.8 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA RESISTENCIA

3.8.1 TRANSFORMACIÓN DE LOS DATOS PARA LA VARIABLE NUMERO DE NEMATODOS.

La transformación de los datos se realiza particularmente cuando la varianza entre tratamientos no es homogénea, o cuando la varianza o la desviación estándar es una función de la media. En el caso del presente trabajo la transformación tiene por objetivo normalizar la distribución y asegurar cierta homogeneidad de las varianzas para detectar diferencias en las fuentes de variación (bloques, genotipo, bloque x genotipo).

Después de un examen de la distribución de las variables estudiadas, se observó que únicamente la variable "número de nematodos" no sigue una distribución normal, por lo que se procedió hacer una transformación de los datos. Este tipo de transformación es común en trabajos de nematología (Noe, 1985), se utilizó la transformación $10\sqrt{\text{nem}+0.5}$ (ver anexos), posterior a la transformación la distribución de la relación log varianza/log promedio ($R^2=0.298$ y $p=0.064$) de esta nueva variable es casi aleatoria ver figura No 1, lo que significa que podemos realizar un análisis de varianza.

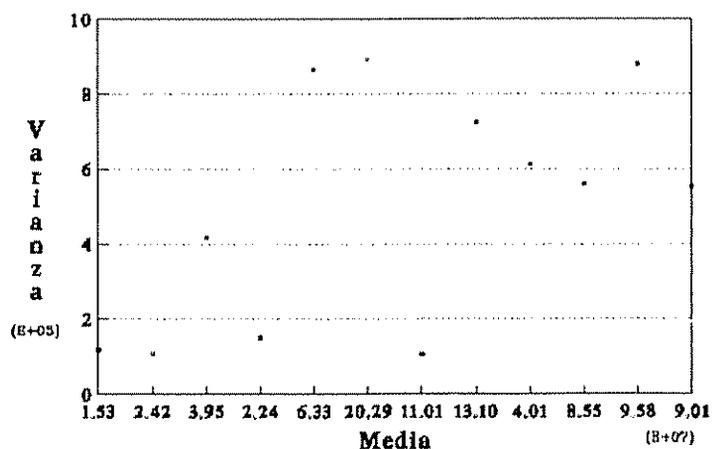


Figura 1. Relación de log var/log med para la variable número de nematodos transformados.

3.8.2 RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES

Para observar como se relacionan las diferentes variables estudiadas se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP).

Este análisis permite conocer el grado de correlación entre las variables cuantitativas para facilitar el análisis de la dispersión de las observaciones (poniendo en evidencia posibles agrupamientos), Pla (1986). La determinación de dos ejes principales permite reemplazar las variables (reducidas) por un sistema de variables ortogonales. Este método permite en algunos casos precisar la forma de la dispersión de los puntos observados y condensar eventualmente las informaciones contenidas en los datos iniciales.

3.8.3 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HÍBRIDOS DE "ROBUSTA" Y TESTIGO "PACAS".

Se realizó un análisis de varianza para observar el comportamiento de los híbridos y el testigo con respecto a las variables evaluadas (SQ2, ALT, PFR y PFA), empleando un diseño de bloques al azar, con 6 bloques, 13 tratamientos (12 híbridos de "Robusta" (*Coffea canephora*) y 1 testigo del cultivar "Pacas" (*Coffea arabica*) y 4 plantas por tratamiento y por bloque. Además se realizó una prueba de Duncan para comparar los tratamientos.

3.8.4 ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS GENÉTICOS

Los datos para la estimación de los parámetros genéticos fueron generados a partir de las pruebas nematológicas, el análisis estadístico se realizó con un programa llamado OPEP, desarrollado

por el INRA (Instituto Nacional de la Recherche Agronomique, Francia), especialmente para los problemas de selección en plantas. OPEP permite el análisis de arreglos incompletos y desequilibrados desequilibrados, analiza los ensayos multivariados, en este caso se realizó un ajuste de los bloques (para no considerar este efecto).

Las estimaciones se hacen por el método de mínimos cuadrados. Diferentes subprogramas permiten un ajuste por un efecto fijo (en este caso bloque), permite el análisis de diferentes modelos (jerárquicos, factorial, dialelo, etc.) y el cálculo de índices de selección en varios casos (selección de los progenitores por los descendientes).

Las familias ya presentados (cuadro No.2) se distribuyen según un arreglo factorial como se indica en el cuadro No.3, llamado diseño de Carolina del Norte II, con 6 bloques, 12 tratamientos (híbridos de "Robusta" de *Coffea canephora*) y 4 plantas por tratamiento.

CUADRO No 3. DISEÑO DE CRUZAMIENTO

	T-3561 (2-1)	T-3757 (2-1)	T-3757 (2-2)
T-3751 (1-2)	X	X	X
T-3752 (1-3)	X	X	X
T-3753 (1-1)	X	X	X
T-3755 (1-1)	X	X	X

El modelo biométrico para caracterizar la expresión fenotípica individual es el siguiente (después de un ajuste del factor bloque):

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + M_j + HM_{ij} + B_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

donde:

Y_{ijkl} = observación sobre SQ2, PFR, PFA y ALT de la k-ésima progenie de la combinación ij.

μ = media general de la familia

H_i = efecto aleatorio de la i-ésimo genotipo de la hembra, $i=1,2,3$

M_j = efecto aleatorio del j-ésimo genotipo del macho, $j=1,2,3,4$

HM_{ij} = efecto aleatorio de la interacción o combinación particular de los individuos i con j

B_{ijk} = efecto del bloque, común a todos los individuos

ϵ_{ijkl} = efecto aleatorio del error con media cero y varianza σ_e asociado con cada registro

El análisis de varianza correspondiente a este modelo es el siguiente:

F. V.	CM	ESPERANZAS
MACHOS	CM_m	$\sigma_e^2 + K_4 \sigma_{mxh}^2 + K_5 \sigma_m^2$
HEMBRAS	CM_h	$\sigma_e^2 + K_2 \sigma_{mxh}^2 + K_7 \sigma_h^2$
MACHOS*HEMBRAS	CM_{mxh}	$\sigma_e^2 + K_1 \sigma_{mxh}^2$
DENTRO DE FAMILIA	CM_e	σ_e^2

La significancia de los cuadrados medios (CM) es probada en relación con el cuadrado medio de la interacción (CM_{mxh}) para los factores aleatorios machos y hembras, y en relación con el cuadrado medio de la residual (CM_e) para la interacción.

3.8.5 PARÁMETROS GENÉTICOS

Los efectos así definidos son estadísticos y corresponden a los efectos principales y a la interacción de dos factores. A cada efecto esta asociada una varianza, éstas varianzas aparecen en la expresión de las covarianzas entre parientes dentro de poblaciones panmícticas.

Los componentes de varianza procedentes del experimento factorial en donde cada combinación produce un grupo de plantas con una relación familiar de hermanos completos, se interpretan así: (Eso vale en ausencia de consanguinidad de los padres). Si no hay efectos recíprocos, σ_m^2 y σ_h^2 dan dos estimaciones de la covarianza entre medios hermanos,

$$\text{Cov HS} = \sigma^2_{\text{m}} = \sigma^2_{\text{h}} = \frac{1}{4} \sigma^2_{\text{a}} + M$$

** M = efectos maternos, pero no se conoce en la literatura de café para la resistencia a los nematodos.

La covarianza entre hermanos completos se puede escribir así (Gallais, 1990):

$$\begin{aligned} \text{Cov } P_{ijkl} P_{ijk'l'} &= \text{Cov FS} &&= \sigma^2_{\text{m}} + \sigma^2_{\text{h}} + \sigma^2_{\text{mxh}} \\ &&&= 2 \text{Cov HS} + \sigma^2_{\text{mxh}} \end{aligned}$$

$$\text{resulta: } \sigma^2_{\text{mxh}} = \text{Cov FS} - 2 \text{Cov HS} = \frac{1}{4} \sigma^2_{\text{d}} + \delta$$

δ = efectos de interacción (aditivos x epistasis, epistasis, aditivo x dominancia)

$$\text{y } \sigma^2_{\text{d}} = 4 \sigma^2_{\text{mxh}}$$

La varianza aditiva se puede estimar a partir de los efectos machos o hembras. Se puede estimar entonces dos heredabilidades *sensu stricto*, (para las características de SQ2, PFR, PFA y ALT) una en relación con las hembras, y la otra en relación con los machos, según la fórmula:

$$h^2_{\text{m}} = \frac{4\sigma^2_{\text{m}}}{\sigma^2_{\text{p}}} \quad ; \quad h^2_{\text{h}} = \frac{4\sigma^2_{\text{h}}}{\sigma^2_{\text{p}}}$$

y la

$$\sigma^2_{\text{p}} = \sigma^2_{\text{e}} + \sigma^2_{\text{mxh}} + \sigma^2_{\text{m}} + \sigma^2_{\text{h}}$$

3.8.6 CORRELACIONES ENTRE CARACTERÍSTICAS

Se calcularon las correlaciones fenotípicas entre características. El estudio de las correlaciones genéticas completa el estudio de las correlaciones fenotípicas para conocer las relaciones de orden genético entre características.

Gallais (1990), define tres causas posibles a las correlaciones genéticas:

- la pleiotropía (efecto de un gen sobre varias características.
- el ligamiento genético ("linkage"), asociación de genes debido a su presencia sobre el mismo cromosoma.
- el desequilibrio aleatorio de ligamento, que se define como la diferencia observada entre frecuencia observada de diferentes tipos de gametos y la frecuencia esperada en la hipótesis de independencia de los genes.

La estimación de las correlaciones genéticas, τ_g y ambiental τ_e , se hizo a partir de la estimación de las varianzas y covarianzas genéticas y ambientales, provenientes del análisis de varianza multivariado. La estimación de las covarianzas genéticas y ambientales resultan del análisis de la suma de productos (SP) descompuesto de manera igual que los cuadrados medios (CM). Así para dos características (1) y (2):

$$\tau_g = \frac{\tau_{G1G2}}{\tau_{G1}\tau_{G2}} \qquad \tau_e = \frac{\tau_{e1e2}}{\tau_{e1}\tau_{e2}}$$

En el caso del arreglo factorial tenemos una estimación a través de hermanos completos:

$$\tau_g = \frac{\text{Cov}_{\text{bx}1\text{x}2} + \text{Cov}_{\text{hx}1\text{x}2}}{\sqrt{(\sigma^2_{\text{bx}1} + \sigma^2_{\text{hx}1}) (\sigma^2_{\text{bx}2} + \sigma^2_{\text{hx}2})}}$$

3.8.7 ESTUDIO DE HISTOLOGÍA EN *Coffea canephora* y *Coffea arabica*

En este trabajo se quiso aclarar a nivel histológico la reacción de las plantas moderadamente resistentes al nematodo, para ver si este fenómeno ilustra una "tolerancia" o una resistencia parcial. Ayudados por las técnicas de microscopía electrónica, se realizaron pruebas histológicas para estudiar las reacciones anatómicas en cafetos susceptibles y moderadamente resistentes. Después de cuatro meses de inoculadas las plantas, se tomaron muestras de raíces de aproximadamente 0.5 cm, se fijaron en FAA durante 48 horas y se procedió a deshidratar en una serie ascendente de alcohol: 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% y 100% una hora en cada alcohol. Seguidamente se colocaron en historesina durante 48 horas y se colocaron en moldes plásticos utilizando una mezcla de historesina-endurecedor (10:1). Posteriormente se hicieron cortes de 3 μ de grosor utilizando un micrótomo Sorvall y se tiñeron con azul de toluidín para ser observados al microscopio de luz.

4. RESULTADOS

4.1 COMPARACIÓN ENTRE MÉTODO DE INOCULACIÓN: LARVAS Y HUEVOS.

Se realizó un análisis de varianza para comparar la respuesta de los materiales de "Robusta" y testigo "Pacas" cuando se inocularon con huevos y cuando fueron inoculados con larvas, con respecto a las variables evaluadas (SQ2, PFR, PFA y ALT).

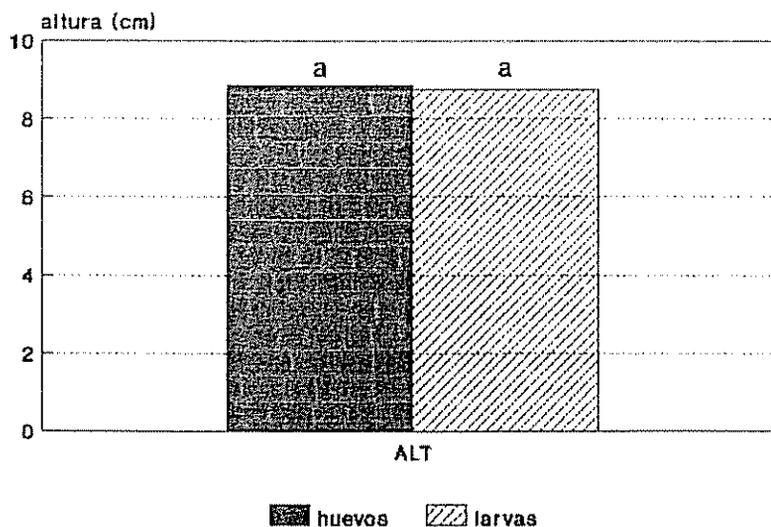
Cuadro No 4. Cuadrados Medios de los tratamientos: larvas y huevos de híbridos de "Robusta" y testigo "Pacas".

F.V.	G.L	SQ2	PFR	PFA	ALT
BLOQUE		660049.6 ^{NS}	0.27 ^{NS}	2.05 ^{**}	2.94 ^{NS}
GEN(híbr y test)		988249.65 [*]	0.53 ^{NS}	6.22 ^{**}	106.92 ^{**}
BLOQ*GEN (error a)		210682.32	0.15	0.35	1.15
TRAT		142542.08 ^{NS}	0.11 ^{NS}	2.21 ^{NS}	0.47 ^{NS}
TRAT*GEN		145673.90 ^{NS}	0.006 ^{NS}	0.42 ^{NS}	11.35 ^{**}
ERROR B		158612.61	0.11	1.05	1.45

testigo: cultivar "Pacas" (*Coffea arabica*)

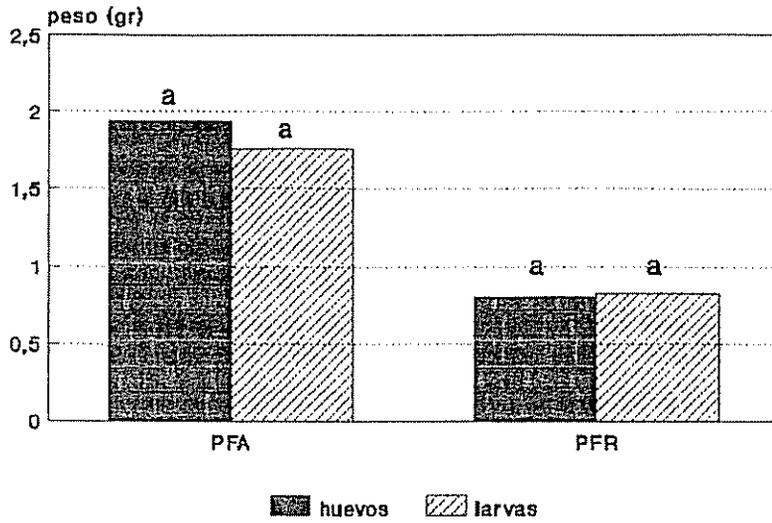
híbridos de "Robusta" (*Coffea canephora*): 10 y 12

El análisis de varianza (cuadro No 4) presenta los cuadrados medios para los tratamientos (larvas y huevos) y para los híbridos de "Robusta" y testigo "Pacas". Con relación a los tratamientos, no existen diferencias significativas entre los dos métodos de inoculación evaluados para todas las variables (SQ2, PFR, PFA y ALT) figura No.2, 3 y 4; esto hace puede ser debido a que en la extracción del inóculo es difícil la separación de estadios J2 de los huevecillos, por lo que no puede decirse que se halla inoculado únicamente huevos o únicamente larvas. Por lo que es necesario una técnica más precisa para la extracción del inóculo, esta la constituye la "técnica de la cámara nebulizadora" en la que se tiene la gran ventaja de trabajar únicamente con estadios infectivos del nemátodo.



Comparación metodológica entre larvas y huevos para ALT

Figura 2. Comparación metodológica entre larvas y huevos para la variable ALT.



Comparación metodológica entre larvas y huevos para PFR y PFA

Figura 3. Comparación metodológica entre larvas y huevos para las variables PFR y PFA.

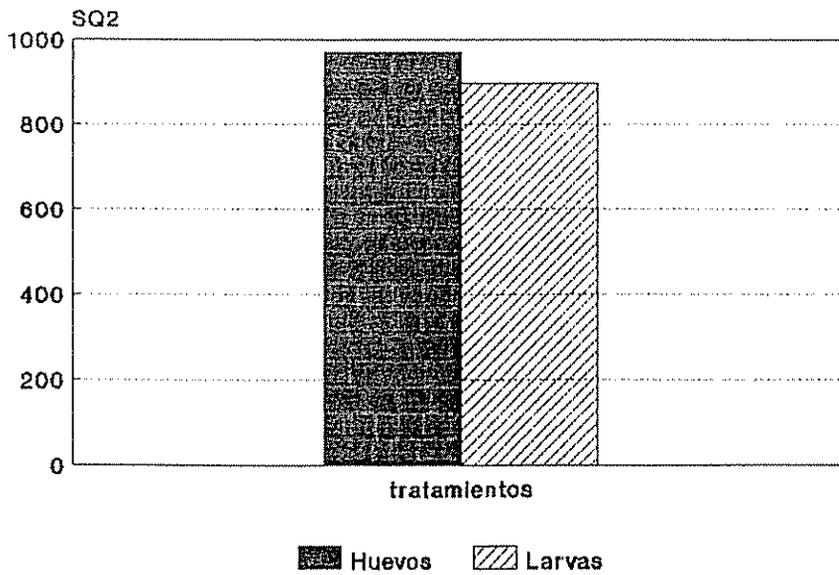


Figura 4. Comparación metodológica entre larvas y huevos para la variable SQ2

Con respecto al genotipo, el análisis mostró diferencias altamente significativas entre híbridos de "Robusta" y testigo "Pacas" para las variables SQ2, ALT, y PFA, no así para PFR. Así los híbridos 10 y 12 presentaron en promedio 863.44 y 827.11 nematodos por sistema radical contra un promedio de 1127.66 nematodos para el testigo "Pacas" (figura No. 5). Para las variables vegetativas (PFA y ALT) los híbridos de "Robusta" presentaron superioridad con respecto al testigo "Pacas", indicando que los "Robustas" poseen características genéticas que los hace más resistentes a los nematodos. La interacción trat*gen fue significativa únicamente para la variable ALT.

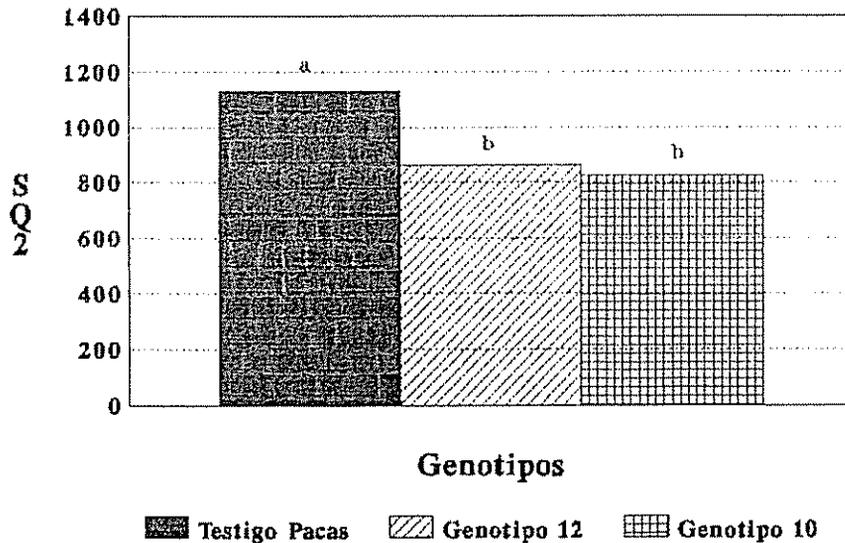


Figura 5. Respuesta de híbridos de Robusta y Testigo Pacas a la inoculación de larvas y huevos con respecto a la variable SQ2.

4.2 ANALISIS CUALITATIVO DE LA RESISTENCIA

Los híbridos de Robusta fueron clasificados por el IR bajo la escala de Taylor (1967) donde: 0 = no se reprodujo (Inmune = I); 1 = menor 1 % (altamente resistente: AR); 2 = 1-10 % (muy resistente : MR); 3 = 10-25% (moderadamente resistente : MMR); 4 = 25-50 % (ligeramente resistente : LR); 5 = mayor 50 % (suceptible : S).

En general puede observarse una variabilidad grande dentro de las familias y una tendencia muy marcada entre ellas, hacia un grupo que presenta los mayores porcentajes de plantas muy resistentes. En el cuadro No 5, se observa que el testigo "Pacas" (familia 13) no tiene plantas en las categorías de 0, 1 y 2, lo que significa que la presición de la prueba de resistencia es alta.

Así se tiene que las familias 1 y 4 (cuadro No 5) presentan porcentajes de 50.0% y 46.4% de plantas que estan entre inmunes y altamente resistentes (escala 0 y 1).

Se observa también que entre las plantas usadas como madre (cuadro No. 6) T-3561 (2-1) presentó 40.18% de plantas desde inmunes a muy resistentes frente a *Meloidogyne incognita* (cepa de El Salvador) y para los padres (cuadro No. 7) T-3751 (1-2) presentó 36.14% de plantas en esas mismas categorías.

Cuadro No 5. Evaluación de híbridos de *Coffea canephora* y Testigo Pacas en contra de *Meloidogyne incognita* (población de El Salvador).

Fami- lias	Escala de resistencia según Taylor (1967)						Plantas %
	0 I	1 AR	2 MR	3 MMR	4 LR	5 S	
1	11 39.29	3 10.71	8 28.57	2 7.14	1 3.6	3 10.7	28 100.00
2	10 35.71	0 0.0	5 17.9	2 7.14	7 25.0	4 14.3	28 100.00
3	5 17.9	3 10.71	7 25.0	4 14.3	2 7.14	7 25.0	28 100.00
4	11 39.3	2 7.1	4 14.3	5 17.9	1 3.6	5 17.9	28 100.00
5	6 22.2	3 11.11	4 14.81	1 3.7	4 14.81	9 33.33	27 100.00
6	0 0.0	0 0.0	6 26.1	5 21.70	2 8.70	10 43.5	23 100.00
7	0 0.0	0 0.0	0 0.0	6 22.22	8 29.63	13 48.15	27 100.00
8	1 3.85	0 0.0	0 0.0	2 7.7	4 15.4	19 73.1	26 100.00
9	6 21.4	1 3.6	10 35.7	3 10.7	4 14.3	4 14.3	28 100.00
10	0 0.0	0 0.0	2 7.4	7 25.9	2 7.4	16 59.3	27 100.00
11	1 4.3	0 0.0	3 13.0	2 8.7	2 8.7	15 65.2	23 100.00
12	0 0.0	1 3.6	4 14.3	2 7.14	6 21.43	15 53.57	28 100.0
Testi- go	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	5 20.83	19 79.17	24 100.0
Total	51	13	53	41	48	139	345
Total %	14.78	3.77	15.36	11.88	13.91	40.3	100.00

Cuadro No 6. Evaluación de plantas madres de *Coffea canephora* frente a *Meloidogyne incognita* cepa de El Salvador.

Número de plantas en la Escala de resistencia Según Taylor (1967)							
Madre	0	1	2	3	4	5	Total %
T-3561 (2-1)	37 33.04	8 7.14	24 21.43	13 11.61	11 9.82	19 16.94	112 34.89
T-3757 (2-2)	7 6.8	3 2.91	10 9.71	14 13.59	18 17.48	51 49.51	103 32.09
T-3757 (2-1)	7 6.6	2 1.89	19 17.92	14 13.21	14 13.21	50 47.17	106 33.02
Total %	51 15.89	13 4.05	53 16.51	41 12.77	43 13.40	120 37.38	321 100.00

Cuadro No 7. Evaluación de plantas padres de *Coffea canephora* frente a *Meloidogyne incognita* cepa de El Salvador.

Número de plantas en la Escala de resistencia según Taylor (1967)							
Padre	0	1	2	3	4	5	Total %
T-3751 (1-2)	23 27.71	7 8.43	22 26.50	6 7.23	9 10.84	16 19.28	83 25.85
T-3752 (1-3)	10 12.82	0 0	13 16.17	14 17.95	11 14.10	30 38.46	78 24.3
T-3753 (1-1)	6 7.69	3 3.85	10 12.82	12 15.38	12 15.38	35 44.87	78 24.3
T-3755 (1-1)	12 14.63	3 3.66	8 9.76	9 10.98	11 13.41	39 47.56	82 25.55
Total %	51 15.89	13 4.05	53 16.51	41 12.77	43 13.40	120 37.38	321 100.00

4.3 ANALISIS CUANTITATIVO DE LA RESISTENCIA

4.3.1 RELACION ENTRE LAS VARIABLES

Un análisis de componentes principales, explica la proporción en que cada componente contribuye a la variabilidad, así con el 1er. componente se explica el 49.74% de la variabilidad, y el 2do. componente explica el 25.25%. Las variables PFR, PFA y ALT participan en un 34%, 31% y 33% respectivamente a la construcción del componente 1, y la variable SQ2 participa en un 95% en la construcción del componente 2 (figura No. 6).

Según la teoría del análisis de ACP, los dos componentes son independientes, por lo que puede considerarse que no hay relación fenotípica entre las variables vegetativas de PFR, PFA y ALT y la variable SQ2.

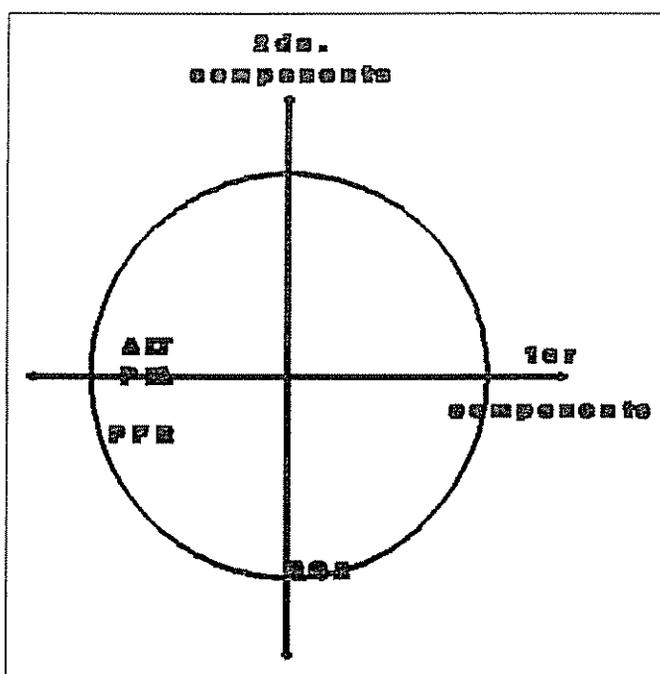


Figura 6. Comparación de las variables con los dos primeros componentes.

4.3.2 ANALISIS DE VARIANZA PARA HIBRIDOS DE "ROBUSTA" Y TESTIGO "PACAS"

Se realizó un análisis de varianza para observar el comportamiento de los híbridos de "Robusta" (*Coffea canephora*) con respecto al testigo "Pacas" (*Coffea arabica*) en relación a las variables evaluadas, como se muestra en el cuadro No. 8

Cuadro No 8. Cuadrados Medios para híbridos de "Robusta" y testigo "Pacas" con respecto a las variables SQ2, PFR, PFA y ALT.

F. V.	SQ2	PFR	PFA	ALT
BLOQUE	400478.40 NS	1.32 **	5.69 **	8.25 **
GENOT	2391134.32 **	1.33 **	5.86 **	35.84 **
ERROR	228089.57	0.16	1.44	2.06

SQ2: número de nemátodos en el sistema radical (transformados)

PFR: peso fresco de la raíz

PFA: peso fresco de la parte aérea

ALT: altura desde la base del tallo a los 4 meses

GENOTIPO: familias de "Robusta" y testigo "Pacas"

Existen diferencias altamente significativas entre los genotipos (híbridos de "Robusta" y testigo "Pacas"). La prueba de Duncan detectó diferencias entre las medias de los genotipos (híbridos y testigo) como se muestra en la figura No. 7. Existen tres grupos de plantas "a", "b" y "c", en los grupos "b" y "c" se encuentran plantas desde inmunes hasta muy resistentes (escala 0, 1 y 2 de

Taylor 1967) y el grupo "a" plantas con pobre resistencia en donde se ubica el testigo.

Dentro del grupo "c", se destaca el híbrido 1 [T-3561 (2-1) x T-3751 (1-2)] donde presentó menor número de nematodos con respecto a los demás híbridos, seguido de los híbridos 4, 2, 9 y 3 estadísticamente iguales entre sí; es de señalar que estos híbridos tienen como uno de sus progenitores a T-3561 (2-1), este cultivar proviene de un proceso de selección en contra de *Meloidogyne spp* cepas de Brasil, y forma parte de la variedad portainjerto "Apoata" (Goncalvez y Ferraz, 1987); por otra parte T-3751 (1-2) ha sido evaluado para la resistencia en trabajos anteriores: Anzueto, 1993 (*Meloidogyne spp* cepa de Brasil y Guatemala), Morera, 1990 (*Meloidogyne exigua* cepa de Costa Rica), Fazuoli, 1988 (*Meloidogyne incognita* cepa de Brasil) y Calderón 1989 (*Meloidogyne arabicida*), donde mostró alta resistencia frente a dichos nematodos.

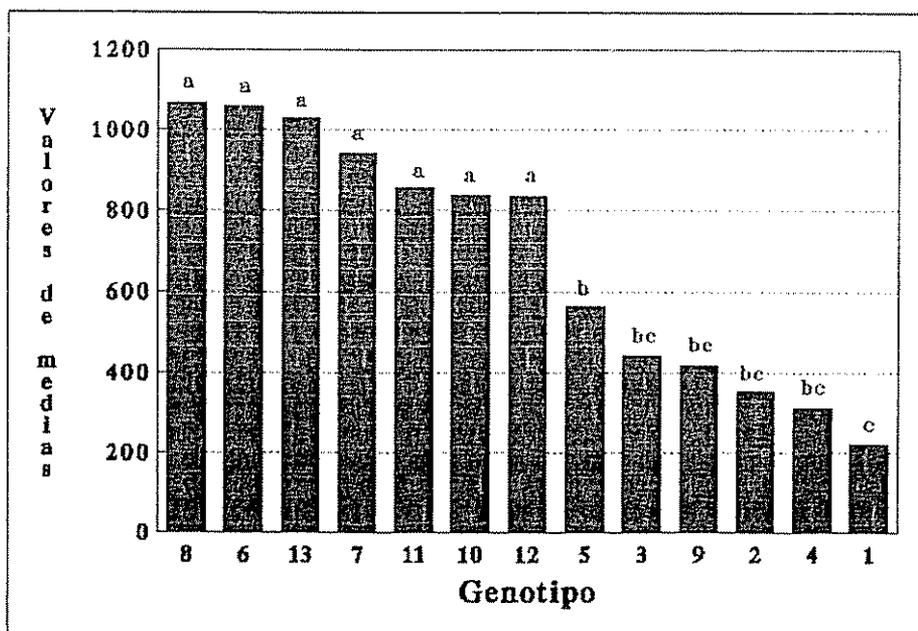


Figura 7. Número de nematodos por sistema radical (SQ2) en híbridos de "Robusta" y Testigo "Pacas" inoculados con *Meloidogyne incognita*

Con respecto a la altura (ALT), peso fresco de la parte aérea (PFA) y el peso fresco de la raíz (PFR) la prueba de Duncan mostró que todos los híbridos de "Robusta" fueron significativamente diferentes con respecto al testigo "Pacas", así también existieron diferencias significativas entre los híbridos, confirmando los resultados presentados en el análisis cualitativo.

4.3.3 ESTIMACION DE PARAMETROS GENETICOS: HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES GENETICAS.

En el cuadro No. 9 se muestran los cuadrados medios y en el cuadro No. 10 los componentes de varianza para cada una de las variables consideradas en el análisis. Para la variable SQ2 existe efecto significativo del macho y de la hembra, no así para la interacción macho*hembra. Para la variable ALT existe efecto significativo de la hembra y de la interacción macho x hembra, no así del macho. Mientras que para el PFA hubo efecto significativo de la hembra y no para los machos y la interacción; finalmente para el PFR no existe efecto significativo de las tres fuentes de variación.

En resumen se observa un mayor efecto de las hembras en relación con el efecto de los machos. Eso significa que no hay igualdad entre el aporte genético de las hembras y el aporte genético de los machos.

Cuadro No 9. Cuadrados Medios procedente del arreglo factorial para SQ2, ALT, PFR y PFA.

F.V.	G.L	CUADRADOS MEDIOS			
		SQ2	ALT	PFR	PFA
MACHO	3	26639**	0.66NS	1.87NS	11.22NS
HEMBRA	2	84280**	2.13**	16.0NS	101.32**
MACH*HEM	6	2879.7NS	1.0**	1.94NS	3.72NS
DENT FAM	265	2366	0.17	1.54	2.04

Cuadro No. 10. Componentes de varianza del arreglo factorial para las características de SQ2, PFR, PFA y ALT.

		COMPONENTES DE VARIANZA			
		SQ2	ALT	PFR	PFA
MACHO	σ^2_D	334.35	-0.005	-0.001	0.11
HEMBRA	σ^2_h	884.79	0.012	0.152	1.0
MACH*HEM	σ^2_{exh}	22.30	0.036	0.0174	0.07

Del cuadro No. 11 se conoce que la correlación genética (r_g) de la variable SQ2 con respecto a las demás son altas y negativas: -0.603, -0.826 y -0.975 respectivamente. La ALT guarda una correlación positiva y muy grande con las variables vegetativas PFR y PFA de 0.658 y 0.96 respectivamente y el PFR está altamente correlacionado con PFA en 0.978.

Con respecto a las correlaciones ambientales (r_e) la variable SQ2 con ALT y PFR muestran valores positivos y altos de 0.656 y 0.664, y valores bajos pero positivos con el PFA, lo que significa que la expresión de los genes varía considerablemente en función del ambiente.

En cuanto a las correlaciones fenotípicas (r_f) son bajas y negativas entre el SQ2 y las demás características. Debido a que las correlaciones genéticas y ambientales se oponen, las correlaciones fenotípicas son muy bajas.

Sin embargo hay que subrayar que las correlaciones genéticas pueden estar sobreestimadas debido a un efecto recíproco, que podía ser atribuido a un efecto maternal (Mariotti, 1987).

Cuadro No. 11. Correlaciones Genéticas, Ambientales y Fenotípicas Totales para SQ2, PFR, PFA y ALT.

	r_g			r_e			r_f		
	ALT	PFR	PFA	ALT	PFR	PFA	ALT	PFR	PFA
SQ2	-0.603	-0.826	-0.975	0.656	0.664	0.272	-0.127	-0.015	0.150
ALT		0.658	0.960		0.502	0.180		0.545	0.40
PFR			0.978			0.337			0.471

En el cuadro No. 12 se presentan las heredabilidades y el porcentaje de varianza aditiva, estimadas a partir de los componentes de varianza de los machos y no del promedio macho-hembra, pues se sospecha un eventual efecto recíproco que se podría atribuir a un efecto maternal.

Las heredabilidades para las características SQ2, ALT, PFR, PFA son de 0.37, 0.61, 0.19 y 0.15 (cuadro No 12) estimadas a partir de los machos debido a la presencia de un efecto mayor de las hembras, ocasionados por un proceso de selección en materiales como T-3561 (variedad "Apoata"), por consiguiente están sin duda sobreestimadas.

Cuadro No 12. Heredabilidades y porcentaje de la varianza aditiva para las características SQ2, ALT, PFR y PFA.

VARIABLES	h^2_{a}	$\% \sigma^2_{\text{a}}$
SQ2	0.37	98.0
ALT	0.61	97.4
PFR	0.19	62.0
PFA	0.15	95.0

4.4 ESTUDIO DE HISTOLOGIA EN *Coffea arabica* y *Coffea canephora*

Los cortes histológicos de raíz sana muestran peridermis delgada, capa de células parenquimáticas con grandes espacios intercelulares que forman la corteza. Se observan también células pequeñas de floema mezcladas con células parenquimáticas de mayor tamaño; hacia el interior hay células de tamaño pequeño y forma rectangular que corresponden al cambium vascular y finalmente un anillo grueso de xilema con un área central de células medulares de paredes lignificadas (figura No. 8-A).

A) Cultivar "Pacas" *Coffea arabica*.

Los cortes transversales de raíces provenientes de este material, mostraron la presencia de juveniles en las células parenquimáticas cercanas a la epidermis. Dichas células sufren ruptura y destrucción, lo que crea verdaderas galerías, que dan lugar a entrada y avance de otros patógenos que contribuyen a aumentar la lesión (figura No. 8-B). Algunas otras células cercanas a las dañadas, presentan un citoplasma con gran cantidad de granulaciones y un núcleo degenerado.

En células corticales, es posible observar también, deposiciones de fenoles, sí como el desarrollo de masas de huevo envueltas en una matriz gelatinosa (figura No. 9-A). En ocasiones dichas masas se desarrollan externamente unidas a las células epidérmicas. Asociadas a las masas de huevos, se aprecian hembras grandes que son las que avanzan más internamente y que favorecen el desarrollo de células (hiperplasia e hipertrofia) localizadas básicamente a nivel de xilema, aunque en ocasiones afectan también las células adyacentes (figura No. 9-B).

Estas células se caracterizan por un tamaño mayor al de sus vecinas; sin embargo, permanecen uninucleadas y con las demás características muy similares a las de su alrededor. En

determinadas ocasiones se rodean de un precipitado oscuro que se localiza alrededor de su pared y entre los espacios intercelulares, dando la apariencia de una pared gruesa (figura No. 10).

Estudios realizados en el cultivo de soya, mostraron que la pared de las células gigantes maduras están formadas de una capa de material granular que reaccionan positivo a celulosa y pectina, pero no a lignina, suberina y almidón (Dropkin y Nelson, 1960).

B) Híbridos de Robusta (*Coffea canephora*) moderadamente resistentes.

A pesar de que las evaluaciones en invernadero de éste material, permiten clasificarlo como moderadamente resistente, en comparación con el cultivar "Pacas" de *Coffea arabica*, los estudios histológicos muestran una reacción mayor que la observada en "Pacas". La lesión inicial es muy similar a la anteriormente descrita, se observan juveniles a nivel del parénquima cortical, al igual que hembras con masas de huevos en diferentes etapas de desarrollo (figura No. 11).

A diferencia del cultivar "Pacas", se presentan células gigantes bien formadas que se localizan a nivel del cilindro vascular. Estas células sobresalen por su gran tamaño, su citoplasma denso y la presencia de hasta 7-8 núcleos alargados y con grandes cantidades de cromatina (figura No. 12 A y B). Dichas células actúan como una fuente de nutrientes para el desarrollo del nematodo, (Paulson y Webster, 1970).

Las observaciones realizadas al microscopio de luz sugieren que una célula gigante se forma por la expansión de una célula simple. De acuerdo con Paulson y Webster (1970), durante la expansión, hay compresión y distorsión de células adyacentes, algunas de las cuales han sido rotas por el movimiento del nematodo a través de la planta. No obstante, otros investigadores señalan que las células

gigantes se forman por rompimientos de las paredes celulares, dando como resultado la unión de células adyacentes y una serie de uniones endomitóticas. (Rodhe y McClure, 1975). Es importante hacer notar que de acuerdo a lo observado en los cortes, los híbridos de "Robusta se comportan de la misma forma que el testigo "Pacas" de *Coffea arabica*.

Finalmente, es posible que el empleo de cultivares de especies diferentes, en este trabajo, haya determinado la manifestación de dichas respuestas histológicas. Es por esto importante hacer estudios histológicos entre cultivares de la misma especie, para poder comparar la respuesta de ellos, ante la presencia del nematodo.

5. DISCUSION

5.1 COMPARACION ENTRE METODO DE INOCULACION: J2 Y HUEVOS

Bajo las condiciones de invernadero evaluadas en este trabajo, las inoculaciones realizadas con huevos y con larvas no fueron significativamente diferentes entre sí, este hecho es importante en los trabajos de evaluación de la resistencia ya que la opción de utilizar huevos como fuente de inóculo existen estadios infectivos (cerca del 15%) que se pueden distorcinar la respuesta de las variables, mientras que si se utiliza J2 como fuente de inóculo extraídos por otras técnicas más precisas como la "cámara nebulizadora" en la que se utiliza inóculo viable e infectivo aumentando el poder de penetración del inóculo, los resultados pueden ser diferentes y obtener respuesta de las variables y de los materiales de *Coffea canephora* evaluados, Marban 1993 (comunicación personal).

5.2 ANALISIS CUALITATIVO DE LA RESISTENCIA

Las familias que se encontraron muy resistentes en nuestro trabajo son tambien señaladas como muy resistentes en los trabajos de Anzueto 1993 (con *Meloidogyne spp*, cepa de Guatemala y de Brasil), Fazuoli 1988 (*Meloidogyne incognita*), Morera 1990 (*Meloidogyne exigua*) y Calderon 1989 (*Meloidogyne arabicida*) como se muestra en el cuadro siguiente:

Introducción de <i>C. canephora</i>	Anzueto 1993		Morera 1990	Fazzuoli 1988	Calderon 1989
	<i>M. spp</i> Guat.	<i>M. spp</i> Bras.	<i>M. exigua</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. arabicida</i>
T-3561 (2-1)	*		*	*	*
T-3751 (1-2)	*	*			
T-3757 (2-1)					*
T-3757 (2-2)			*		

Lo anterior muestra que existe la misma variabilidad genética frente a dichos nematodos, esto sugiere que la resistencia podría ser general para todo el género de los *Meloidogyne*, es decir que se trata de los mismos genes de resistencia.

Así los híbridos 1 [T-3751 (1-2) x T-3561 (2-1)], 4 [T-3755 (1-1) x T-3561 (2-1)] y 9 [T-3751 (1-2) x T-3757 (2-1)] del cuadro No 5, presentaron 78.6%, 60.7% y 60.7% de plantas que están entre inmunes y muy resistentes (escala 0, 1 y 2 de Taylor 1967). Por otra parte, la distribución de las plantas en las diferentes clases de la escala de resistencia utilizada permiten hacer la hipótesis de un sistema de genes múltiples y a efectos débiles; esto permite hacer un análisis cuantitativo de la resistencia.

5.3 ANALISIS CUANTITATIVO DE LA RESISTENCIA

5.3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL: ANALISIS FACTORIAL

El análisis factorial (diseño de Carolina del Norte II) muestra un efecto mayor de la hembra sobre los machos para las características consideradas en el análisis (SQ2, PFR, PFA y ALT) (cuadro No. 9). Este efecto puede interpretarse de dos formas:

- presencia de efectos maternos, este viene de una herencia citoplasmática, se menciona este efecto por varias resistencias a plagas.

- desequilibrio de ligamiento ocasionado por la selección efectuada sobre la madre T-3561 (1-2) que fue sometida a una fuerte selección en Brasil (Fazuoli, 1989) lo que modificaría grandemente la estimación de los efectos de las hembras.

Parece muy importante verificar este hecho en futuras experiencias. El mejor diseño será a través de la ejecución de un plano dialélico que permite estimar los efectos recíprocos.

5.3.2 PARAMETROS GENETICOS: HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES

Debido a las consideraciones anteriores, el valor más confiable de heredabilidad para cada una de las características fue el estimado a partir de los machos.

Los cálculos de varianza genética fueron hechos sobre datos individuales y no sobre datos promedios, por consiguiente heredabilidades de 0.30 a 0.50 pueden ser consideradas elevadas y heredabilidades mayores de 0.50 como muy elevadas (Leroy, 1993).

No se puede tratar de comparar las heredabilidades obtenidas para SQ2, PFR y PFA porque no se encuentran en la literatura sobre *Coffea canephora*. Sin embargo Leroy (1993) encuentra valores de 0.48 a 0.38 contra 0.61 en este trabajo.

La heredabilidad de SQ2 (0.37) puede considerarse muy fuerte, eso significa que puede hacerse una selección a partir del valor fenotípico de una planta para predecir el valor de sus descendientes.

El alto valor de la varianza de aditividad (cuadro No. 11) principalmente para SQ2 y la pequeña varianza de dominancia significan que la transmisión es esencialmente aditiva, lo que permite afirmar que el progreso genético será rápido en caso de un seguimiento en varios ciclos de selección.

Las correlaciones fenotípicas son muy débiles entre SQ2 y las demás variables. La presencia de altas correlaciones genéticas y negativas que se oponen a fuertes correlaciones ambientales explican eso.

Las fuertes correlaciones genéticas podrían hacer pensar en una selección indirecta, sin embargo a continuación se demuestra que no es el caso, con base a los parámetros genéticos estimados.

Una selección indirecta será más eficiente que una selección directa si, (Gallais, 1991):

- su heredabilidad es más fuerte que la del carácter principal
- su correlación genética tiene que ser alta con respecto al carácter principal.

Si tomamos como ejemplo la variable ALI se reúnen todas éstas condiciones. La eficacia comparada en la selección directa e indirecta se pueden hacer por medio de la fórmula siguiente, (Gallais, 1991):

$$G_{1/2} > G_{1/1}$$

$$r_a^2 h^2_2 > h^2_1$$

Es decir que:

τ^2_a = correlación genética aditiva entre el carácter 1 y el carácter 2.

h^2_2 = heredabilidad del carácter 2 (ALT).

h^2_1 = heredabilidad del carácter principal (SQ2)

Si se calcula en función de los resultados presentados (cuadro No. 11 y 12), se estima τ^2_a a través de τ^2_{total} , porque 98% y 97% de la varianza total es aditiva para SQ2 y ALT respectivamente.

$$\text{Entonces } \tau^2_a \approx \tau^2_{total} = (-0.603)^2 = 0.3636$$

para la ALT : $h^2_2 = 0.61$

para SQ2 : $h^2_1 = 0.37$

Entonces:

$$\tau^2_a h^2_2 = 0.61 \times 0.3636 = 0.2218$$

$$\text{y } \tau^2_a h^2_2 < h^2_1$$

Lo que significa que en este caso la selección indirecta será menos eficaz que la selección directa.

Las fuertes correlaciones genéticas significan que al hacer una selección sobre la resistencia, paralelamente se va a incrementar la altura y el peso aéreo y radical de las plantas en las generaciones siguientes. Sin embargo en lugar de realizar una selección indirecta se puede estimar un "índice de selección" calculado a partir de las cuatro variables medidas en este trabajo.

Por los resultados sabemos que las variables vegetativas llevan información sobre la resistencia. Podemos considerar que la ALT, PFR y PFA, son predictores de la resistencia (correlaciones genéticas fuertes). Entonces sería posible calcular una heredabilidad "generalizada", esta heredabilidad se estima así:

$$\tau' = \Sigma_{GP} \Sigma_{PP}^{-1}$$

En donde:

Σ_{GP} = matriz de covarianzas entre los valores genéticos G a predecir (resistencia) y los valores predictores (SQ2, ALT, PFR y PFA).

Σ^{-1}_{PP} = matriz de las varianzas y covarianzas entre las variables predictoras (Cov PP).

En definitiva, las características vegetativas definen el vigor de la planta. Este último aumentando con el nivel de resistencia. Una hipótesis que se puede hacer es que dentro de los genes de resistencia, algunos podrían tener un efecto pleiotrópico sobre el vigor general de las plantas. Esto podría significar también que, en la evaluación de la resistencia se mezclan dos fenómenos, uno que revela una verdadera resistencia y el otro una "tolerancia". Para verificar esto se realizaron cortes histológicos tanto en el testigo "Pacas" como en los "Robustas".

5.4 ESTUDIOS HISTOLOGICOS EN *Coffea canephora* Y *Coffea arabica*

Dentro de los híbridos clasificados como moderadamente resistentes se realizaron cortes histológicos para observar como se comporta este material comparado con el testigo "Pacas" al ataque del nematodo.

Los resultados demuestran, que no existen diferencias de comportamiento en cuanto a la susceptibilidad, pues la formación de células gigantes y la presencia de células de hasta 7 u 8 núcleos fue muy evidente. Esto confirma que las plantas de "Robusta"

clasificadas como "moderadamente resistentes" pueden ser clasificadas como "susceptibles" pero tolerantes en las condiciones de prueba de este trabajo. El problema es de saber ahora si esta "Tolerancia" es únicamente atribuido a las condiciones de experimentación, por lo que sería útil probar otras condiciones como alargar el período de evaluación del material y sobre todo en condiciones de campo.

En todo caso no parece factible la selección de las plantas "moderadamente resistentes" (escala de Taylor 1967 o mayor del 10% de reproducción del nematodo) antes de la verificación de la durabilidad y realidad de la "tolerancia".

5.5 CONSIDERACIONES SOBRE LA LIBERACIÓN DE UNA VARIEDAD DE PORTAINJERTO DE *Coffea canephora*.

Si se toma esta primera experiencia como un primer ciclo de selección, parece factible una primera salida varietal. El valor del progreso fenotípico es alto. La liberación de la mejor combinación permitiría un progreso real de resistencia.

Según Taylor (1967) se considera que una planta es resistente si se ubica a un nivel de resistencia entre inmune y altamente resistente (menor de 2 en la escala de resistencia presentada), con respecto a las plantas moderadamente resistentes, los cortes histológicos demostraron que estas se comportan como susceptibles.

Si se considera que este experimento corresponde a un primer ciclo de selección en el cual la liberación de una variedad se hace a partir de la mejor combinación, la ganancia (ver cuadro No. 5) será igual a 30.0% y a 21% si se liberan las cuatro mejores familias lo que sería menos peligroso porque permitiría conservar una cierta variabilidad genética.

En realidad la selección será mucho más compleja, dependerá de la respuesta del mismo material a otros nematodos, será en definitiva una selección multicaracter. Una variedad portainjerto no debe solamente ser resistente a un solo nematodo, como se ha indicado son varios los nematodos que se encuentran a nivel regional (Jaehn, 1990), además al interior de una misma parcela se puede encontrar también varios nematodos.

La liberación de una variedad a nivel regional resistente a un solo nematodo podría ser peligrosa, varios ejemplos reportados en la literatura muestran que los nematodos en un mismo campo compiten entre ellos. Según Luc (1985), hace 30 años en plantaciones de piña en Costa de Marfil, se utilizó la crotalaria como cultivo trampa para *Meloidogyne spp* en rotación con el cultivo. Las poblaciones de *Meloidogyne* disminuyeron considerablemente pero paralelamente se incrementó drásticamente la población de *Pratylenchus brachyurus* que ataca la piña. Young (1992) reporta que el uso de una variedad de tabaco en Estados Unidos resistentes a *Meloidogyne incognita* (raza 1 y 3) provocó incrementos muy importantes en las poblaciones de *Meloidogyne arenaria* y *Meloidogyne javanica*.

Parece entonces claramente que la variedad portainjerto debe ser multiresistente y por consiguiente la selección debe ser multicarácter.

Por otra parte, de manera clásica una mejor durabilidad de la resistencia se espera cuando la resistencia esta basada sobre muchos genes (efectos débiles y que revelen una resistencia parcial).

Finalmente para asegurar la durabilidad de la resistencia, Evans (1993) propone diferentes métodos de lucha integrada. Un ejemplo particularmente interesante es el que reporta en el caso del uso de una variedad portainjerto utilizado en melocotones, la variedad

Prunus persica ("Nemaguard"), esta variedad que tiene una alta resistencia a los nematodos *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne incognita* después de 35 años de uso es todavía resistente.

La resistencia no fue quebrada porque la variedad se cultiva junto a malezas que hospedan a los nematodos, lo que disminuye la presión de selección por dichos nematodos.

En resumen, la liberación de una variedad portainjerto será factible si se reúnen las condiciones siguientes:

- resistencia de tipo parcial (y/o poligénica)
- resistencia a muchos tipos de nematodos
- acompañar la liberación de una variedad de una lucha integrada.

De acuerdo a datos de otros autores Anzueto (1993), Morera (1990), Calderon (1989) y Fazuoli (1988) los resultados hacen pensar que la segunda condición existe, también se supone con pocas dudas que la resistencia es de tipo poligénica para *Meloidogyne spp.* y *Pratylenchus* (Anzueto, 1993) y para *Meloidogyne incognita* (por este trabajo).

5.5.1 PERSPECTIVAS DE SELECCIÓN DE *Coffea canephora* EN CONTRA DE *Meloidogyne incognita*.

Debido a las estimaciones de los parámetros genéticos parece posible incrementar el nivel de resistencia en otros ciclos de selección, se presentan tres tipos de esquemas de selección (ver anexos).

Si la selección se hace de forma individual se seleccionan dentro de la población 18.55% de plantas resistentes. Si la selección se hace de forma familiar se puede considerar que una familia es resistente si se encuentran 30% de plantas en categorías de 0 y 1.

Las familias seleccionadas representaran 33.33% del total de las familias (1, 2, 4 y 5). Si la selección es combinada (familia-individuo) en las cuales se seleccionan 44.44% de los individuos, es decir 14.33% de la población total (321).

Se propone en anexos, dos esquemas de selección como ejemplo con sus características propias en cada uno, teniendo en cuenta las tazas de selección calculadas anteriormente, y se calculan las ganancias genéticas por cada sistema en un ciclo de selección y el progreso en la resistencia.

Cada esquema tiene sus ventajas y sus desventajas. El esquema más sencillo parece ser el basado sobre una selección masal, fue el esquema elegido en Brasil (Fazuoli, 1986; Goncalvez y Ferraz, 1987). Sin embargo, este esquema presenta varios inconvenientes, el principal es el caso de la evaluación de resistencia en que un individuo será estudiado en un solo ambiente, no es posible estudiar la misma planta para varios nematodos, por otra parte la selección masal se practica sin control de apareamiento. Con una selección de fuerte intensidad sobre un carácter de fuerte heredabilidad (caso presente), eso aumenta la probabilidad de tener descendientes emparentados.

La selección familiar de medios hermanos tiene varias ventajas. El hecho de disponer de familias permite realizar dispositivos de pruebas con repeticiones en diferentes lugares y contra diferentes nematodos.

La selección familiar de hermanos completos es aún más eficaz. Sin embargo el hecho de polinización manuales reduce considerablemente el número de plantas disponibles para los ensayos, en definitiva es un método mucho más costoso.

En una selección combinada individuo-familia el progreso genético en este caso proviene de la selección entre familia y de la selección intrafamilia, la ganancia genética es más alta. Sin embargo en este último caso el riesgo es de desarrollar rápidamente demasiada consanguinidad y una pérdida de variabilidad.

Para impedir esto se deberá imponer un número máximo de individuos de cada familia. Por consiguiente se recomendará una selección familiar de medios hermanos.

5.5.2 MULTIPLICACIÓN DE UNA VARIEDAD PORTAINJERTO.

Se prevee liberar la variedad en forma de semilla, esto presenta varias ventajas:

- existe una técnica de injertación hipocotiledonaria que funciona bien en Guatemala, Reyna (1964), El Salvador, Abrego (1965) y que puede desarrollarse en los demás países
- el costo de las semilla es barato
- el costo de la técnica, también lo es, Villain (1992).

La producción se hará multiplicando vegetativamente los padres más resistentes (multiplicación clonal) para obtener campos de semilla.

7. CONCLUSIONES

1. Bajo las condiciones de nuestro trabajo la técnica de inoculación con huevos (más J2) se constituyó como una metodología válida. Sin embargo la respuesta de las variables evaluadas puede ser más precisa cuando un sólo tipo de inóculo esta presente (J2).
2. Después de lo que puede considerarse como un primer ciclo de selección del material de *Coffea canephora* en contra de *Meloidogyne incognita* (cepa de El Salvador), se destacan algunas combinaciones promisorias [(T-3751 (1-2) y T-3561 (2-1))] que permiten pensar en una primera etapa de liberación de una variedad por la resistencia a este nematodo.
3. Los mejores progenitores T-3751 (1-2) y T-3561 (2-1) son igualmente los que fueron determinados por otros autores y con otros nematodos como materiales resistentes, lo que sugiere que el mecanismo de resistencia es el mismo para varias especies del género de los *Meloidogyne*.
4. En función de la distribución del material en la escala de resistencia puede suponerse la existencia de una herencia de tipo poligénica (genes múltiples y a efectos débiles).
5. La heredabilidad de la resistencia es elevada, lo que debe permitir una selección eficaz dentro de la especie *Coffea canephora*.

8. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas de resistencia utilizando como fuente de inóculo únicamente J2 a través de la puesta en marcha de la técnica de extracción de la "cámara nebulizadora", que permite obtener inóculo viable, infectivo y con mayor poder de penetración en las raíces.
2. Las variedades de portainjerto representan una solución factible, sin embargo para una salida varietal se debe verificar que corresponda a los criterios siguientes:
 - resistencia de tipo parcial (y/o poligénica)
 - resistente a muchos tipos de nematodos
 - acompañar la liberación de una variedad de una lucha integrada.
3. Realizar urgentemente pruebas de resistencia con este mismo material contra diferentes poblaciones de *Pratylenchus* y otras especies del género *Meloidogyne*.
4. Para la selección del *Coffea canephora* en contra de varias especies de nematodos es indispensable trabajar a partir de la misma base genética (el CATIE tiene en la región la colección más amplia).
5. Es posible que exista además de una verdadera resistencia, un fenómeno de "tolerancia" que será interesante aclarar a través de un tiempo prolongado en las evaluaciones.
6. Verificar la existencia real de una herencia citoplasmática a través de experimentos especialmente diseñados para estimar dichos efectos.

BIBLIOGRAFÍA

- ABREGO, L.; HOLDEMAN, Q.L. 1961. Nematodos del café en El Salvador. Santa Tecla, Salv. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café. Boletín Informativo. Suplemento No.8. 16 p.
- ABREGO, L.; TARJAN, A. 1972. Reconocimiento de nematodos de importancia económica en El Salvador. Santa Tecla, Salv. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café. Boletín Informativo. Suplemento No. 105. 24 p.
- ANZUETO, F. 1993. Etude de la resistance du cafeier (*Coffea* sp) a *Meloidogyne* sp et *Pratylenchus* sp. These de Docteur. Montpellier, Fr., Ecole Nationale Superieure Agronomique de Rennes, IRCC-CIRAD.
- BAEZA-ARAGON, C.A.; BENAVIDEZ, M.; LEGUIZAMON, J.E. 1978. Plantas de la zona cafetalera colombiana hospedantes de especies de *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Cenicafe* (Col.) 29(2):35-45.
- BAEZA-ARAGON, C.A; LEGUIZAMON C, J.E. 1978. Control de nematodos en almacigueras. Avances Técnicos CENICAFE (Colobia). Enero 1978. No. 74. 2p.
- BERTRAND, B. 1992. PROMECAFE.
- BOLIVAR, B.G. 1984. Metodología para evaluar la reacción del cafeto al nematodo *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Tesis M. Sc. Turrialba, C. R., Programa Universidad de Costa Rica-CATIE. 71 p.
- CALDERON, V.M. 1989. Reacción de diferentes genotipos de café a *Coffea arabicida* Lopez y Salazar (1989), gama de hospedantes y hongos fitopatógenos asociados. Tesis M. Sc. Turrialba, C. R., CATIE. 71 p.
- CANTO-SAENZ, M. 1985. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. In. Sasser, J.N. & Carter, C.C., eds *Advanced Treatise on Meloidogyne: biology and control*. North Carolina, State Univ. and Unit St.

Agency Int. Develop.. vol I, p. 225-231.

CARVALHO, A. 1988. Principles and practice of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica*. In. Coffee Agronomy, Vol 4, Ed. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London-New York, pp. 129-165.

CASTILLO-SANCHEZ, J.L. 1986. Evaluación de líneas de *C. canephora* para determinar su grado de tolerancia a nematodos. Tesis Lic. en Cien. Biol. Guatemala, Gua., Universidad de San Carlos. 115 p.

CHITWOOD, B.G. & BERGE, C.A. 1960. Preliminary report on nematode parasites of coffee in Guatemala with suggested and interim control measures. Pbl. Dis. Rptr., 44: 841-847.

DROPKIN, U.; NELSON, P. 1960. The histopathology of rootknot nematode infections in soybeans. Phytopathology. 50:442-447.

ECONOMIA AGROPECUARIA. 1990. Productos tradicionales de exportación. San Salvador, Salv. MAG. Direc. Gral. de Eco. Agri. Ed. no.14. 52 p.

ENDO, B.Y. 1971. Nematode induced syncytia (giant cells). Host-parasitic relationships of Heteroderidae. In B.M. Zuckerman, W.F. Mai & R.A. Rhode. Ed. Plant Parasitic Nematodes. Vol. I, Academic Press, New York, 91-117 pp.

EVANS, K. 1993. Changes in the relative proportions of the two species of potato cyst nematodes in microplots in which different potato clones were grown for seven years. Nematologica 39:505-511.

FALCONER, D.S. 1981. Introducción a la Genética Cuantitativa. 2 Ed. Londres. Longman Publ. 340 p.

FASSUOLITIS, G. 1985. The role of the nematologist in the development of resistant cultivars. In. An Advanced Control. treatise on *Meloidogyne*. Volume I. Biology and Control. Raleigh, Sasser, J.N. & Carter, C.C. ed. North Carolina State

University Graphics, p. 233-240.

- FAZUOLI, L.C; LIMA, M.M.A. de; GONCALVES, W. E COSTA, W.M. da. 1987. Melhoramento do cafeeiro visando resistencia a nematoides. Utilizacao de porta-enxerto resistentes. In: Congresso Paulista de Agronomia, SP, Brasil, 6:171-180.
- FAZUOLI, L.C.; LORDELLO, R.R.A. 1978. Resistencia de cafeeiro au Híbrido do Timor a *Meloidogyne exigua*. Ciencia e Cultura, S.P, Brasil, 30:3.
- FAZUOLI, L.C. 1988. La respuesta del Brasil a los problemas nematológicos en el cultivo del café. In. XI Simposio de Caficultura Latinoamericana. San Salvador, Salv., IICA-PROMECAFE. p. 5-8.
- GARCIA, R.E. 1985. Conceptos generales sobre resistencia en plantas al ataque de patógenos. In. Nahúm Marbán & Ivan J. Thomason, eds. Fitonematología Avanzada. Montecillos, Edo. de Mexico. 214-232 pp.
- GALLAIS, A. 1990. Theorie de la Selection en amelioration des plantes. Editori Masson. Paris, France. 588 p.
- GIEBEL, J. 1973. Nematode resistance in plant: biochemical mechanisms of plant resistance to nematodes. Abstrat No.0613 In Abstracts of paper, 2nd Int. Cong. Plant Pathol., Minneapolis, Minnesota, U.S.A., 5-12 Sept.
- GIEBEL, H. 1982. Mechanism of resistance to plant nematodes. Ann.Rev. Phytopathology 20:257-279.
- GIL-FAGIOLI, S; BERRY, D. & BIEYSSE, D. 1990. Investigación sobre la resistencia a *Hemileia vastatrix* Berk et Br. En un grupo de Genotipos de *Coffea arabica* L. de origen etíope. Café Cacao Thé, vol. XXXIV No.2, avrib-juin: 134-144.
- GONCALVES, W.; FAZUOLI, L.C. 1987. Resistencia do cafeeiro a nematoides. II Testes de progenies e híbridos para *Meloidogyne incognita* raza 3. Nematología Brasileira (Bra.). 11:125-142.

- GONCALVES, W.; THOMAZIELLO, R.A.; MORAES, M. DE; FERNANDEZ, J.A.; COSTA, A.M. DA; CORSI, T.; JUNQUEIRA, C.A.; LACERDA, L.A. 1978. Estimativos de danos ocasionados pelo nematoides do cafeeiro. In. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. (6. Sao Paulo, Bra.). Resumos. Rio de Janeiro, Bra. Instituto Brasileiro de Café. p. 182-186.
- HUANG, J.S. 1985. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes. In. Sasser, J.N. & Carter, C.C., eds. Advanced Treatise on *Meloidogyne*: biology and control. North Carolina State Univ. and St. Agency Int. Develop., vol.1, p.143-153.
- JAEHN, A. 1976. Ensaio de nematicidas em café novo instalado em solo infestado por *Meloidogyne incognita*. In. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. (4, Gerca, Bra.). Resumos. Rio de Janeiro, Bra., Instituto Brasileiro do Café. p. 156-158.
- JAEHN, A. 1990. Informe de asesoría sobre nematodos de café en el área de centroamérica. Turrialba, C.R., IICA-PROMECAFE. 17 p.
- JAEHN, A.; REBEL, E.K.; BUHRER, E.R. 1976a. Efeito de nematicidas sistemicos empulverizacao, irrigacao e imersao, no tratamento de mudas de café infestadas com *Meloidogyne incognita*. In. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. (4, Gerca, Bra.). Resumos. Rio de Janeiro, Bra., Instituto Brasileiro do Café. p. 27-20.
- JAEHN A.; REBEL, E.K.; MATIELLO, J.B. 1976b. Estudo do efeito curativo de nematicida em mudas de café infestadas com *Meloidogyne incognita*. In. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. (4, Gerca, Bra.). Resumos. Rio de Janeiro, Bra., Instituto Brasileiro de Café. p. 32-33.
- LEROY, T. 1993. Diversite, parametres genetiquea et ameliotion par selection recurrenente reciproque du cafeier *Coffea canephora* P. L'ecole Nationale Superieure Agronomique de Rennes. These de Docteur de L'ensar. France. 147 p.
- LUC, M. et REVERSAT, G. 1985. Possibilites et limites des solutions genetique aux affections provoquées par les nematodes sur les cultures tropicales. Acad. Agri. de France. 71 No. 7, pp 781-791.

- LIMA, M.M.; GONCALVES, W.; FAZUOLI, L.C. 1987. Evaluación da resistencia de selecoes de *Coffea canephora* e *Coffea congensis* a raza 3 de *Meloidogyne incognita*. In. Congreso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. (14, Sao Paulo, Bra.). Resumos. Campinas, Bra., Instituto Brasileiro de Café. p. 87-90.
- MARIOTII, J.A. 1987. Fundamentos de genética biométrica: aplicaciones al mejoramiento genético vegetal. Washington, D.C. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. 152 p.
- MAZZAFERA, P.; GONCALVES, W. & RIGUHETTI, J.A. 1989. Fenóis, peroxidase e polifenoloxidase na resistencia do cafeeiro a *Meloidogyne incognita*. *Bragantia* (Bra.), Campinas, 48(2):131-142.
- MONACO, L.C.; CARVALHO, A. & ANTUNES FILHO, H. 1963. Cruzamento naural dentro da "cova" do cafeeiro. *Bragantia*, Campinas (Bra.) 22:1a. partie XI-XV.
- MORERA, N.M. 1986. Evaluación de la interacción entre genotipos de *Meloidogyne exigua* Goeldi 1887 y *Coffea* sp. Tesis M. Sc. Turrialba, C. R. Progarama UCR-CATIE. 59 p.
- MORENO, R.G. & CASTILLO, Z.J. 1990. The variety Colombia: a variety of Coffee with resistance to rust (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.). Cenicafe, Colombia. Technical Bulletin, No.9. 27p.
- MORERA, N.M. 1990. Metodología para evaluar la resistencia del café a *Meloidogyne exigua*. In. IX Reunión Regional de Mejoramiento de Café. (Managua, Nic., IICA-PROMECAFE. p. 27
- NOE, J.P. 1985. Analysis and interpretation of data from nematological experiments. In: An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Edited by K.R. Barker, C.C. Carter and J.N. Sasser. Vol II. 188-196 p.
- PAULSON, R.; WEBSTER, J. 1970. Giant cell formation in tomato roots caused by *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla* (nematode) infection. A light and electron microscope study.

Canadian. Journal of Botany. 48:271-276.

OROZCO, F.J. 1990. Hibridación interespecífica en café y las posibilidades de los híbridos triploides. In: VIII Curso Regional sobre Fundamentos de la Caficultura Moderna. Módulo II. CATIE, 9 julio - 10 agosto.

OROZCO, F.J. 1986. Descripción de especies y variedades de café. Cenicafe, Colombia. Boletín Técnico No.11.

PLA, L. 1986. Analisis de Componentes Principales. UCV. Editorial OEA.

PROMECAFE, 1992. Importancia del café en Centroamérica. IICA-PROMECAFE. Boletín 54-55 (Enero-Junio). p 5.

RHODE, R.A. and M.A. Mc. CLURE. 1975. Autoradiography of developing syncytia in cotton roots infected with *Meloidogyne incognita*. Jour. Nematol. 7:64-69.

REBEL, E.K. e FAZUOLI, L.C. 1978. Fontes de resistencia de cafeeiros au nematoide de *Meloidogyne incognita*. In: Cong. Bras. Pes. Caf. IBC/GERCA, 6:187-191.

REBEL, et al. 1976. Teste de sobrevivencia do nematoide *Meloidogyne incognita* em solo, na ausencia de plantas hospedeiras. In. Congresso Brasileiro de Pesquisas Caffeiras. (4, Gerca, Bra.). Resumos. Rio de Janeiro, Bra., Instituto Brasileiro do Café. p. 85-86.

REYNA, E.H. 1968. Nuevo Método para injertar cafetos. Agricultura de las Américas (EUA). vol 17:3-4.

SASSER, J.N.; HARTMAN, K.M. & CARTER, C.C. 1984. Standardization of host suitability study and reporting of resistance to root-knot nematodes. Raleigh, N.C. Crop Nematode Research & Control Project. 7 p.

TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. 1983. Biología, Identificación y Control de los nematodos del nódulo de la raíz. Raleigh, N.C.

International Meloidogyne Projet. 111 p.

TAYLOR, A. L. 1967. Introduction to Research on Plant Nematology. No. PL:CP/5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italy. 135p.

TRONCONI, N.M. 1986. Generalidades sobre nemátodos fitopatológicos en el cultivo del cafeto. In. Segundo Curso Regional sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto con énfasis en la Broca del Fruto (*Hypothenemus hanpei*, Ferr). San Pedro Sula, Hon.). San Pedro Sula, Hond., IICA-PROMECAFE. p. 231-243.

VILLALBA, D.A.; FERNANDEZ, B.O.; BAEZA, A. 1983. Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* raza 5 (Kifoid & White 1919) Chitwood 1949, en *Coffea arabica* variedad Caturra. Cenicaf (Col.) 34(1):16-33.

VILLAIN, L.; LICARDIE, D. 1993. Evaluación de tres nematicidas y la práctica del injerto hipocotiledonar en el control de *Pratylenchus spp.* In: Resúmenes XVI Simposio de Caficultura Latinoamericana. Managua, Nicaragua 26-29 Octubre.

VEGA, M.I. 1991. Los nematodos en la producción cafetalera de El Salvador. In. Manual para el Caficultor Salvadoreño. Nueva San Salvador, Salv., ISIC-PROCAFE. p. 115-122.

YOUNG, L.D. 1992. Problems and Strategies Associated with long-term use of nematode resistant cultivars. Journal of Nematology, 24 (2):228-238.

9. ANEXOS

I. IDENTIFICACION DE LA ESPECIE DE *Meloidogyne*

Detalle de las principales características: patrón perinial de hembras adultas, diferencias morfológicas en larvas, machos y huevos.

JUVENIL 2 (J^2)

Longitud total	:	355-460	(c.v.% = 5.5)
Estilete	:	13-17	(c.v.% = 6.3)
O máximo del cuerpo:		11-18	(c.v.% = 5.5)
Dist. del estoma a			
base estilete	:	13-17	(c.v.% = 8.7)
O.G.D.E.	:	2.1-4	(c.v.% = 9.7)
Long. cola	:	40-60	(c.v.% = 7.6)
Diámetro anal	:	9-12	(c.v.% = 4.05)
Proporciones	:	a = 22.8-35.6	(c.v.% = 6.5)
		b = 25.0-31.2	(c.v.% = 13.5)
		c = 6.0-10.0	(c.v.% = 5.3)

HEMBRA

Long. total	:	634-784	(c.v.% = 9.9)
Estilete	:	11-18	(c.v.% = 10.0)
O máx. del cuerpo	:	371-538	(c.v.% = 14.6)
O.G.D.E.	:	2.3-4.4	(c.v.% = 14.7)
Dist. estoma al			

poro excretor : 13-35 (c.v.% = 25.6)
 Long. vulva : 19-26 (c.v.% = 13.6)
 Dist. ano-vulva : 14-23 (c.v.% = 11.4)
 Dist. interfasmidial: 15-31 (c.v.% mas 17.3)
 Patron Perinial : Muy variable. Estrías poco separadas y muy
 onduladas. Arco dorsal alto, redondeado o
 cuadrado. Campos laterales poco evidentes,
 pueden observarse con estrías quebradas y los
 extremos así quebrados pueden apreciarse
 bifurcados.

MACHO

Long. total : 550-1994 (c.v.% = 26.7)
 Estilete : 16-24 (c.v.% = 10.8)
 O máx. cuerpo : 17-44 (c.v.% = 14.7)
 D.G.D.E : 2-4 (c.v.% = 19.7)
 Long. cola : 7-15 (c.v.% = 14.1)
 Long. espícula: 21-46 (c.v.% = 17.6)
 Campos laterales con 4 líneas aereoladas.

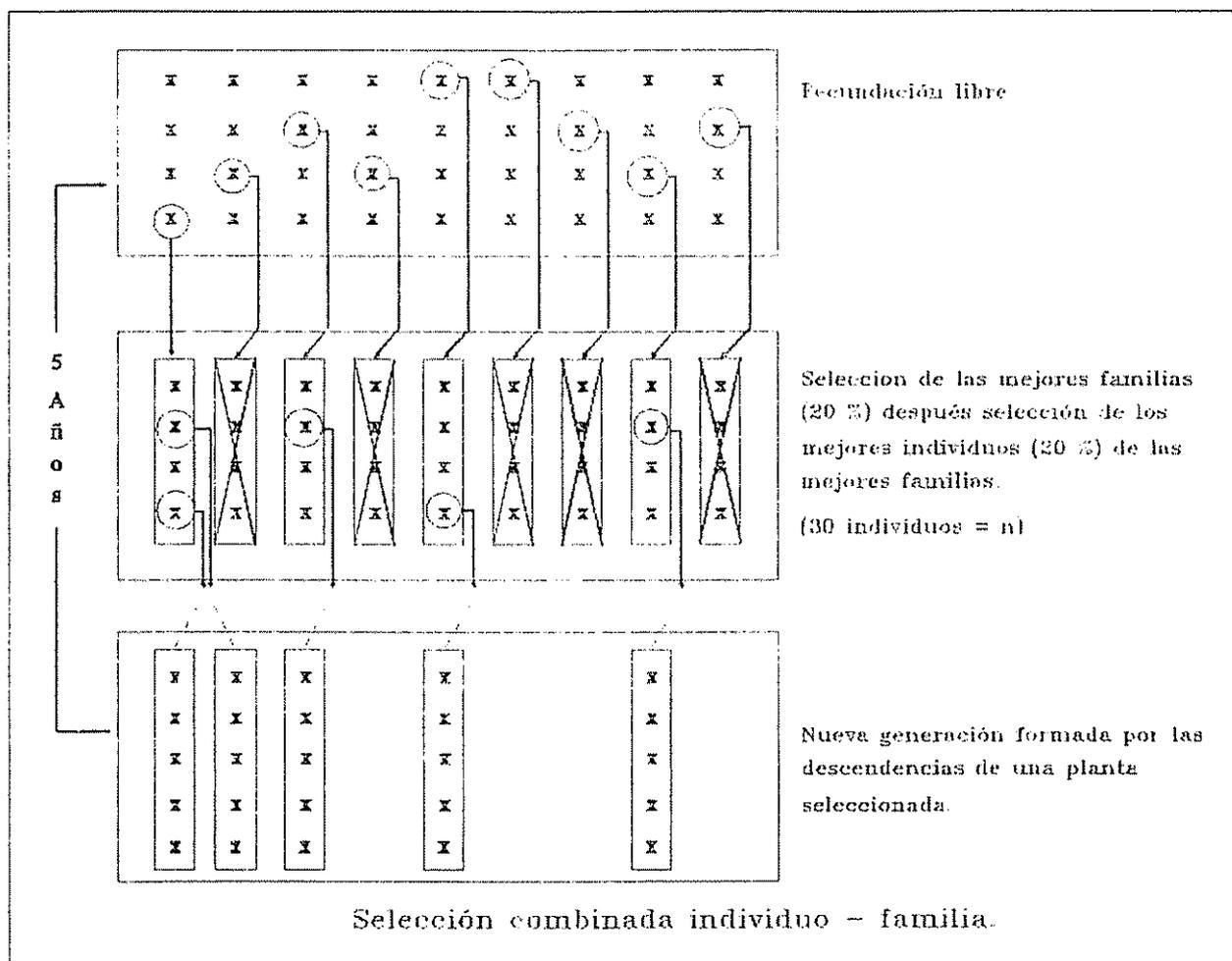


Figura 13. Selección Familiar Combinada Individuo-Familia.

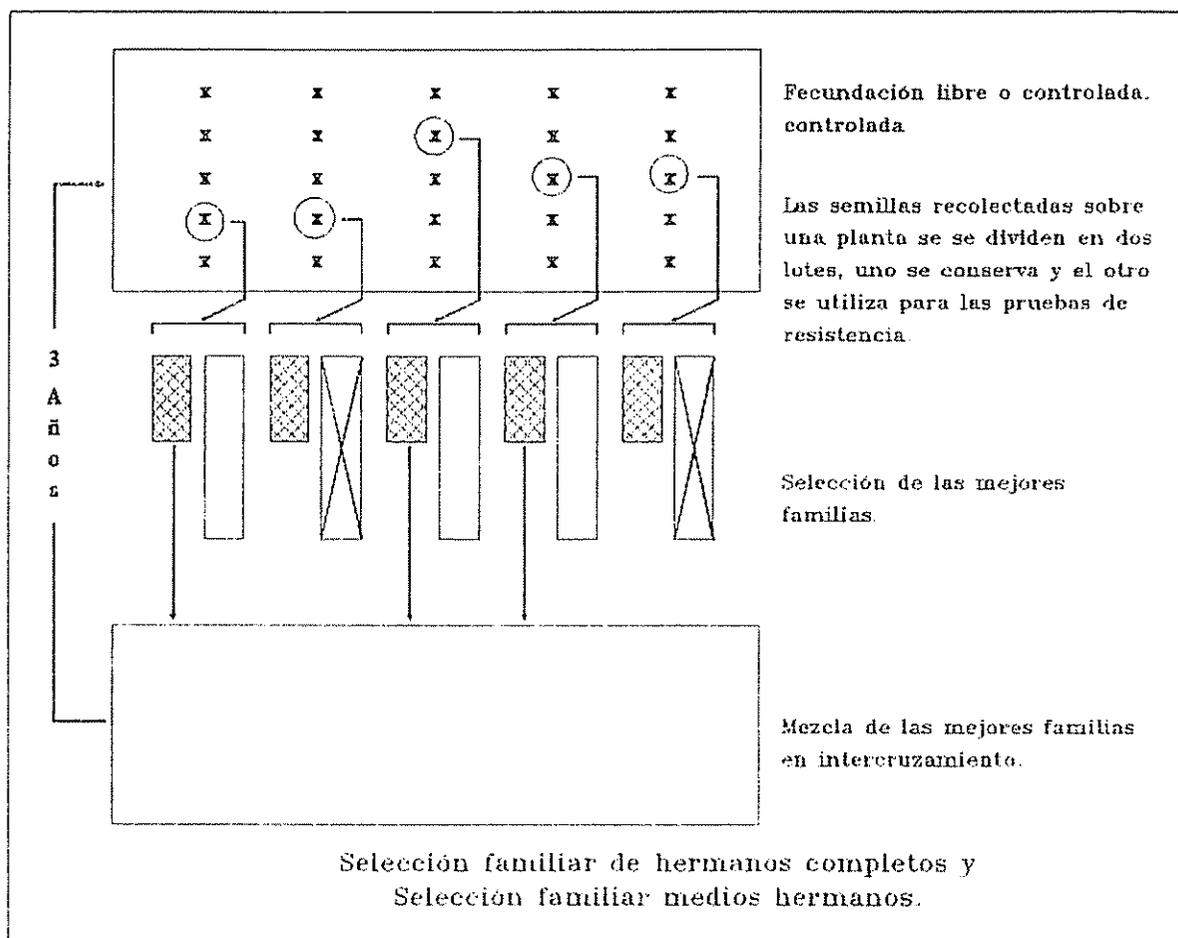


Figura 14. Selección Familiar de Hermanos Completos y Medios Hermanos.

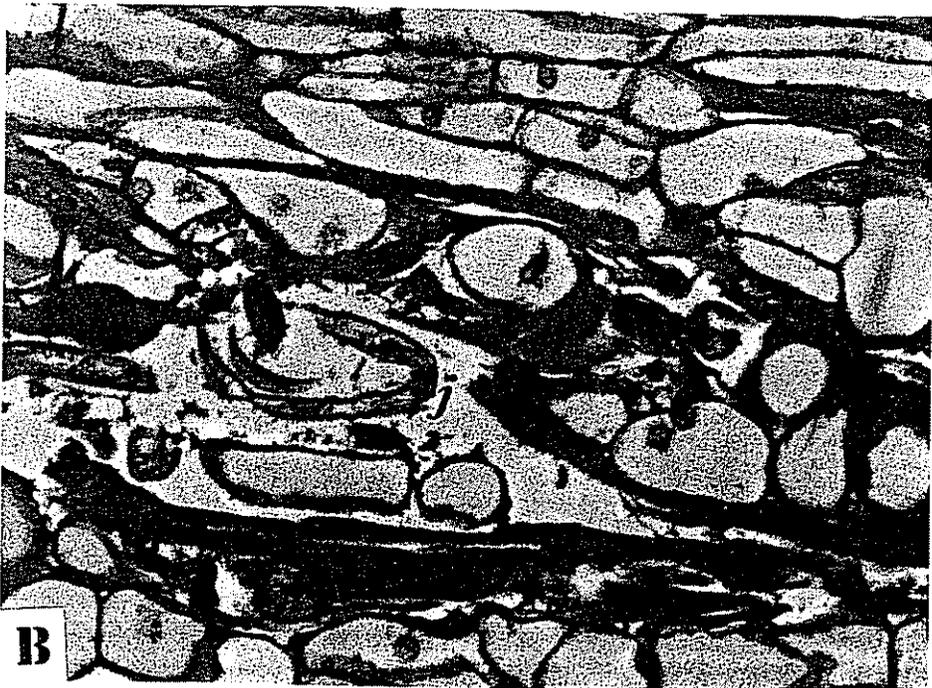
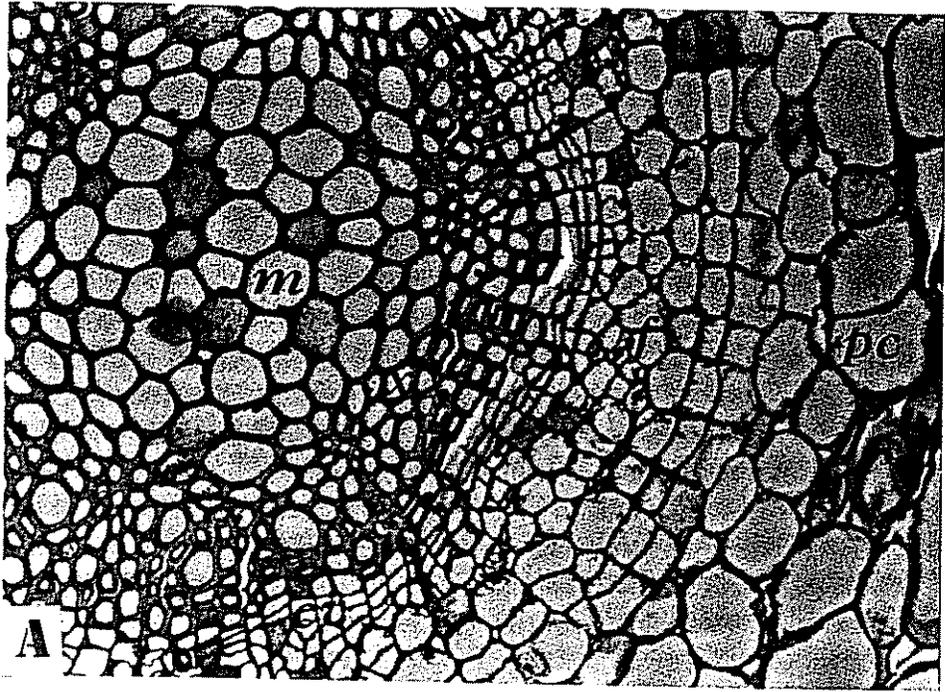


Figura 8. A: Sección transversal de raíz sana en *Coffea arabica* (pc: parénquima cortical, f: floema, cv: cambium vascular, x: xilema, m:medula) (10x).
 B: juveniles de *M. incognita* en *Coffea arabica* (j: juveniles) (16x).

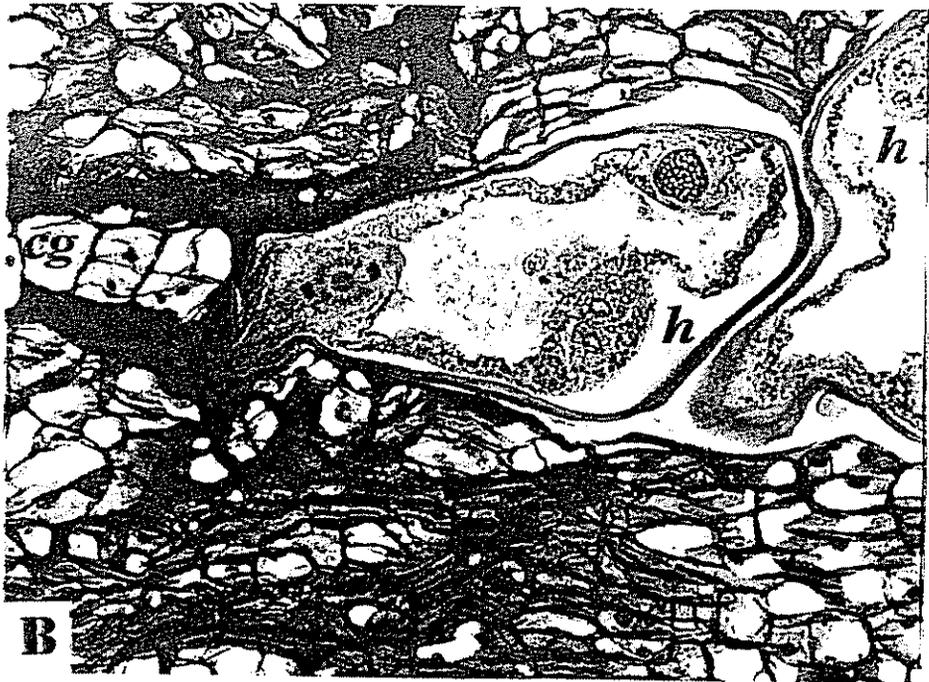


Figura 9. A: Masa de huevos (h: huevos, mg: matriz gelatinosa).
B: Hembras de *M. incognita* y alteración celular *Coffea arabica* (h: hembras, c.g: células gigantes) (10x).

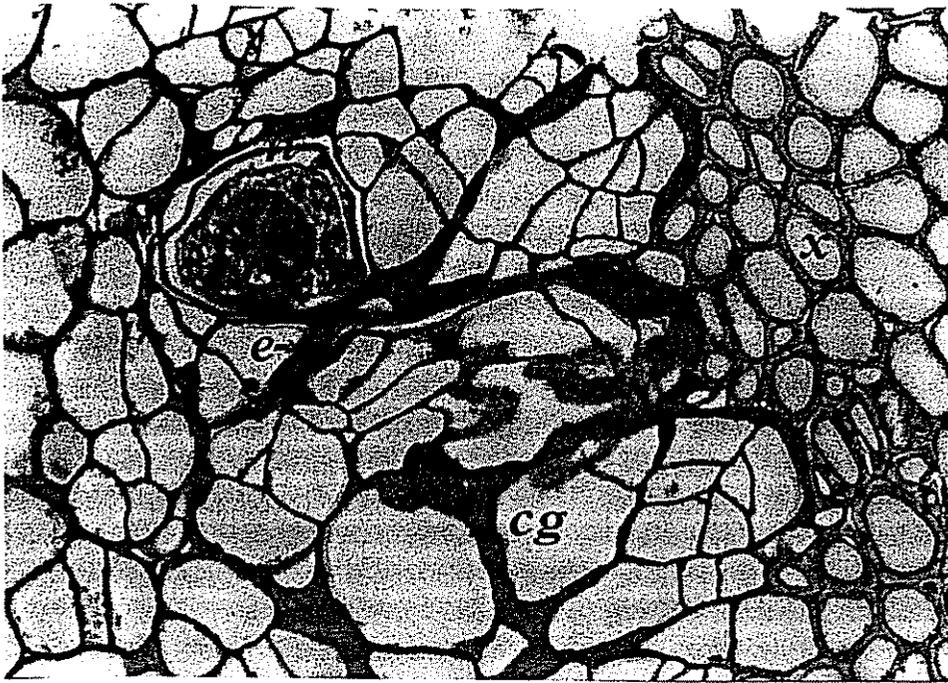


Figura 10. Sección transversal de raíz de *Coffea arabica*, donde se observa la Hiperplasia e Hipertrofia de las células y engrosamiento de sus paredes (x: xilema, cg: células gigantes, n: nematodos, e: engrosamientos) (20x).

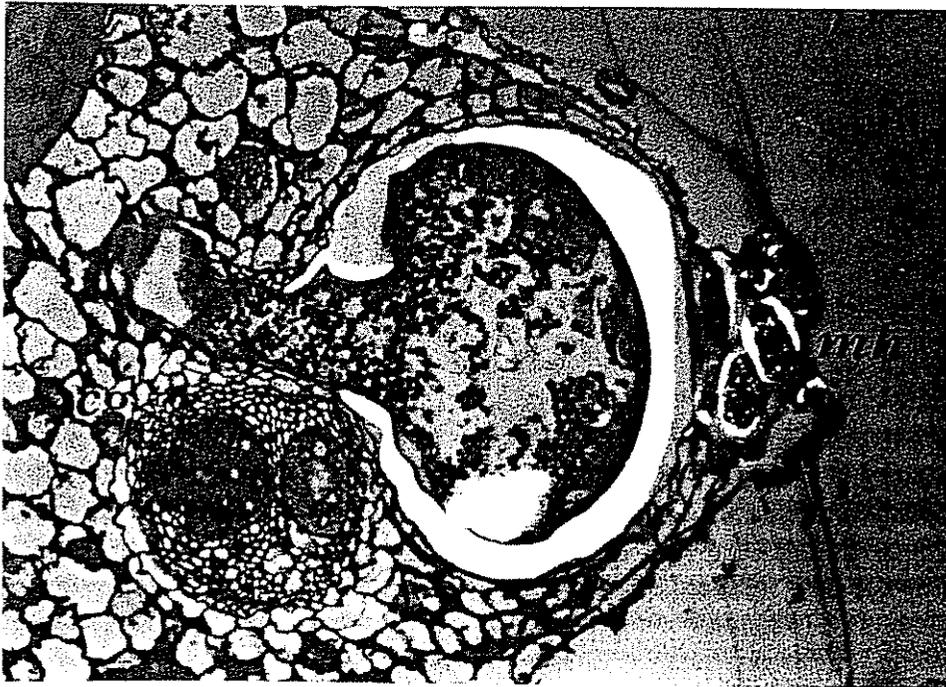


Figura 11. Corte transversal en *Coffea arabica* que muestra una hembra de *M. incognita* asociada a una masa de huevos, nótese también las células gigantes (mh: masa de huevos, cg: células gigantes) (10x).

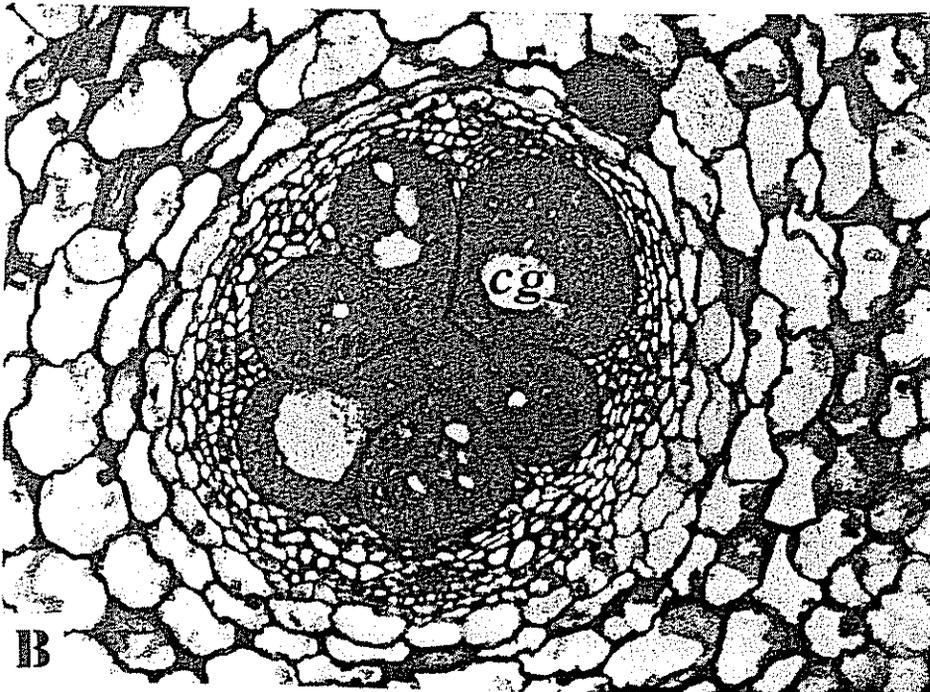
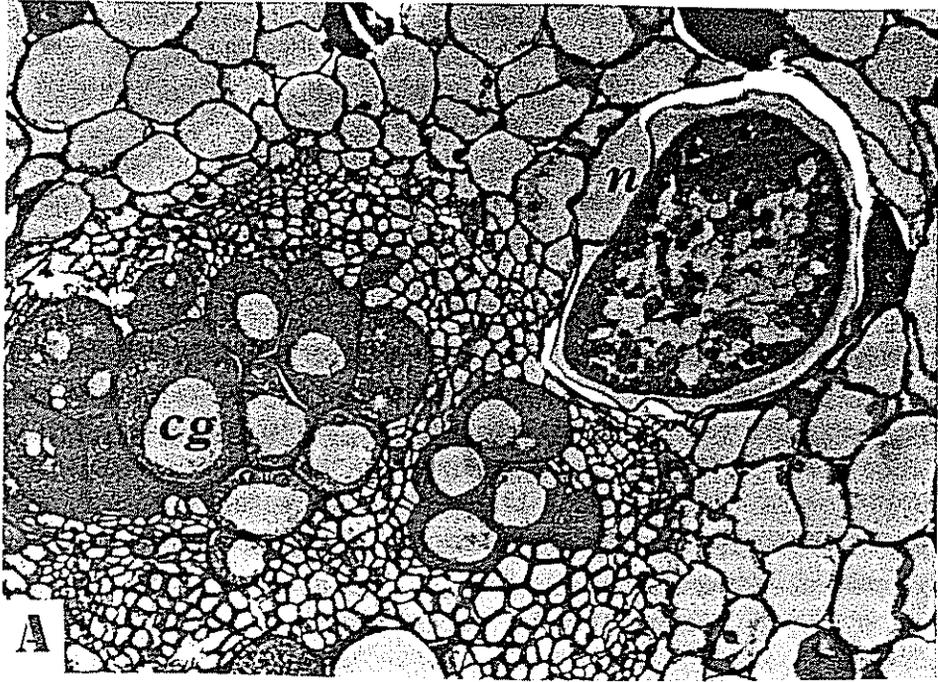


Figura 12. A: células gigantes en el cilindro vascular en *Coffea canephora* (n: nematodo, cg: células gigantes) (10x).
 B: detalle de las células gigantes con presencia de muchos núcleos (n: núcleos, cg: células gigantes) (12.5x).

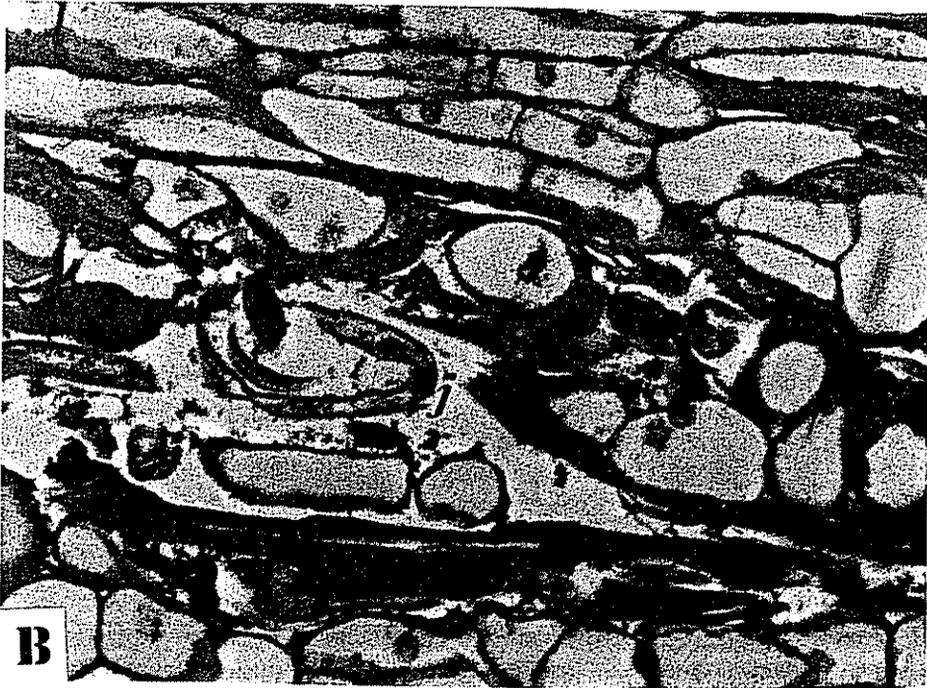
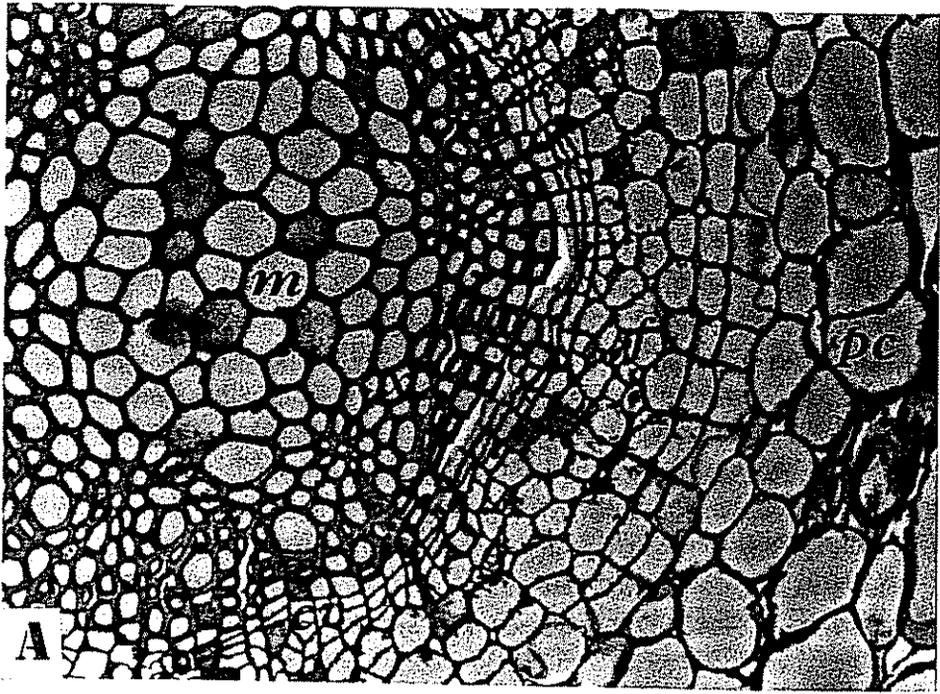


Figura 13. A: Sección transversal de raíz sana en *Coffea arabica* (pc: parénquima cortical, f: floema, cv: cambium vascular, x: xilema, m: medula) (10x).
 B: juveniles de *M. incognita* en *Coffea arabica* (j: juveniles) (16x).

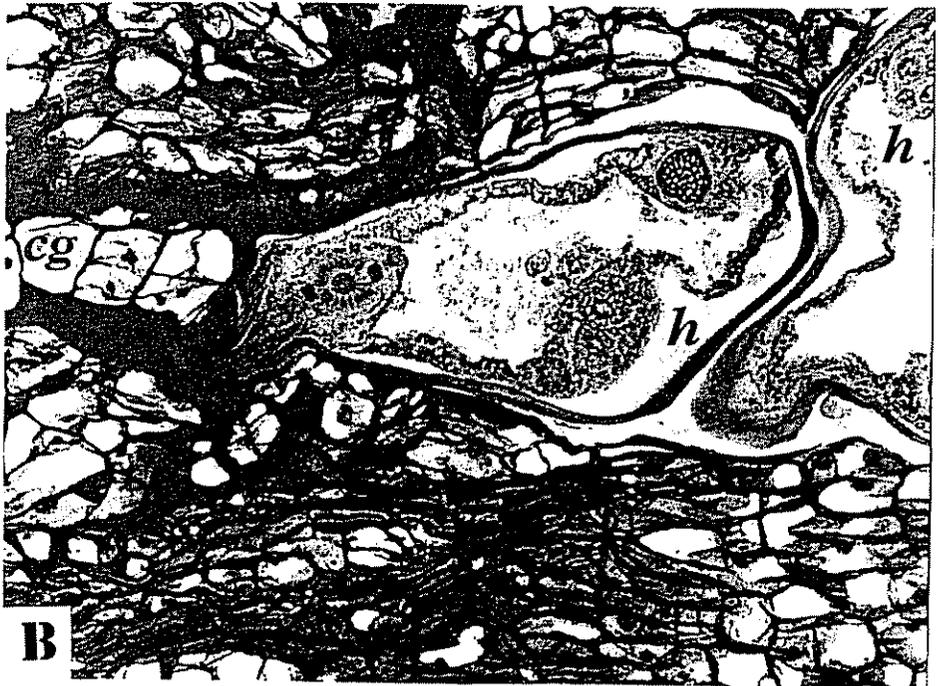


Figura 14. A: Masa de huevos (h: huevos, mg: matriz gelatinosa).
B: Hembras de *M. incognita* y alteración celular *Coffea arabica* (h: hembras, c.g: células gigantes) (10x).

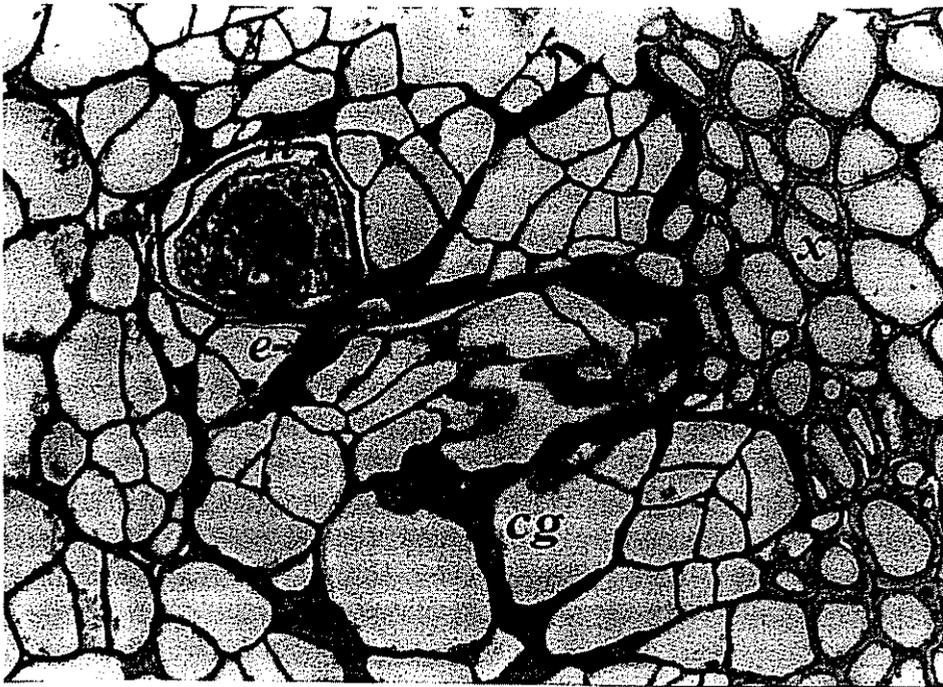


Figura 15: Sección transversal de raíz de *Coffea arabica*, donde se observa la Hiperplasia e Hipertrofia de las células y engrosamiento de sus paredes (x: xilema, cg: células gigantes, n: nematodos, e: engrosamientos) (20x).

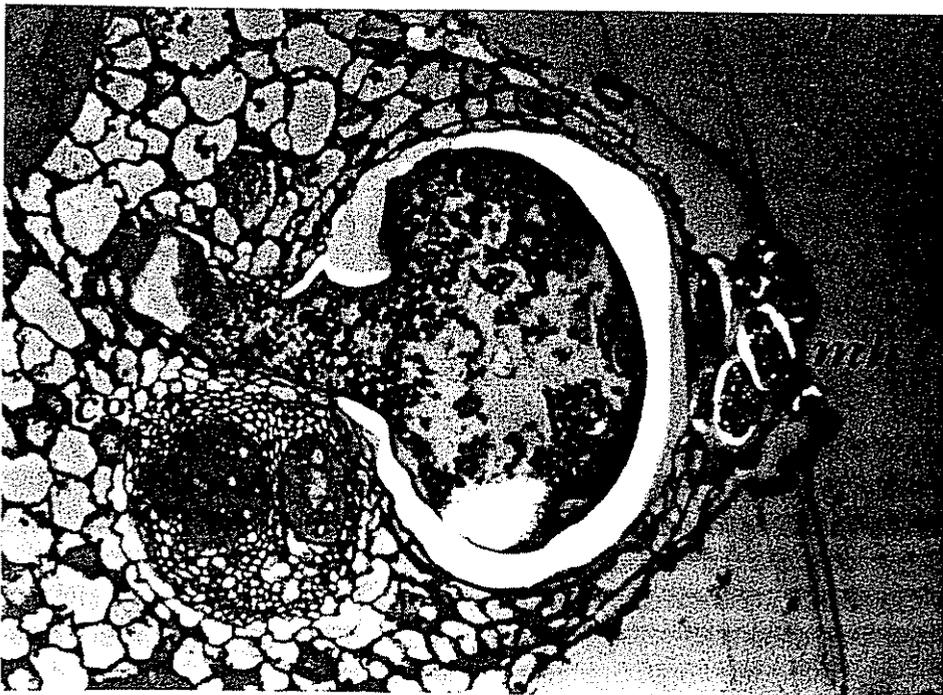


Figura 16. Corte transversal en *Coffea arabica* que muestra una hembra de *M. incognita* asociada a una masa de huevos, nótese también las células gigantes (mh: masa de huevos, cg: células gigantes) (10x).

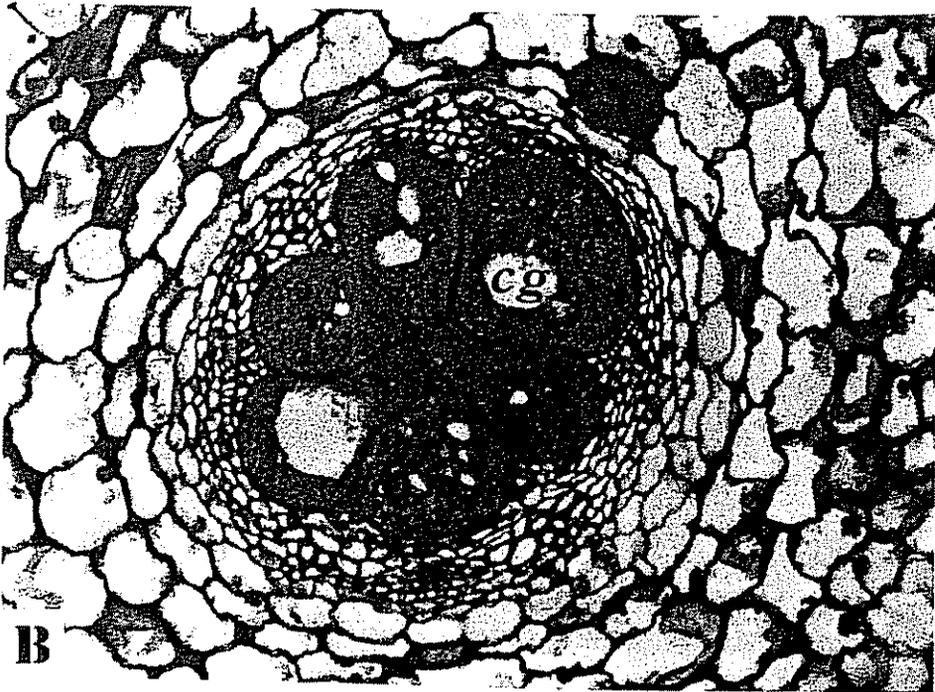
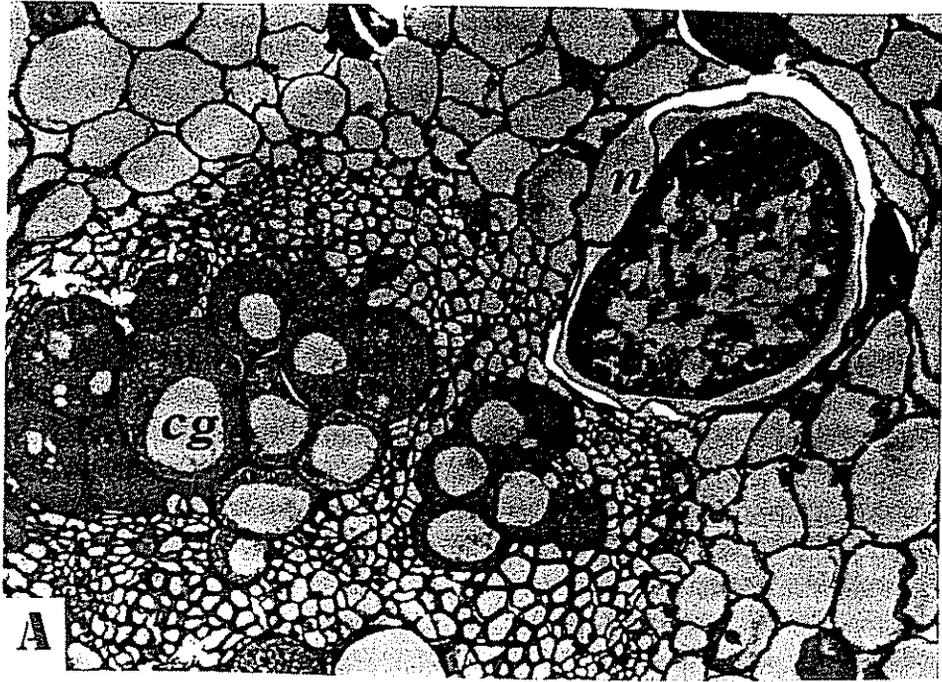


Figura 17. A: células gigantes en el cilindro vascular en *Coffea canephora* (n: nematodo, cg: células gigantes) (10x).
B: detalle de las células gigantes con presencia de muchos núcleos (n: núcleos, cg: células gigantes) (12.5x).