

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**ÁREA INTEGRADA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**DISTRIBUCIÓN Y PRESENCIA DEL COMPLEJO DE NEMÁTODOS DE QUISTE  
EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) EN LA ALDEA CONCEPCIÓN,  
PALENCIA, GUATEMALA Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE  
DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO MAGA, BÁRCENA VILLA NUEVA, GUATEMALA**

**NELSON JAVIER GARCÍA SANTOS**

**GUATEMALA, ENERO DE 2015**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**ÁREA INTEGRADA**

**DISTRIBUCIÓN Y PRESENCIA DEL COMPLEJO DE NEMÁTODOS DE QUISTE  
EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) EN LA ALDEA CONCEPCIÓN,  
PALENCIA, GUATEMALA Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE  
DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO MAGA, BÁRCENA VILLA NUEVA, GUATEMALA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

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

**POR**

**NELSON JAVIER GARCÍA SANTOS**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**EN EL GRADO ACADÉMICO DE  
LICENCIADO**

**GUATEMALA, ENERO DE 2015**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**RECTOR MAGNÍFICO**  
**Lic. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA**

DECANO en funciones	Dr. Ariel Abderraman Ortiz López
VOCAL I	Dr. Ariel Abderramán Ortiz López
VOCAL II	Ing. Agr. MSc. Marino Barrientos García
VOCAL III	Ing. Agr. Eberto Raúl Alfaro Ortíz
VOCAL IV	P.Agr. Josue benjamín Boche Lopez
VOCAL V	Bach. Sergio Alexander Soto Estrada
SECRETARIO	Dr. Maynor Raúl Otzoy Rosales.

Guatemala, Enero de 2015.

Guatemala, Enero de 2015

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

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación: “Distribucion y Presencia del Complejo de nemátodos de quiste en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L) en la aldea Concepción, Palencia, Guatemala y servicios realizados en el Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario MAGA, Bárcena Villa Nueva ,Guatemala”; como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

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

Atentamente,

**“ID Y ENSEÑAD A TODOS”**

Nelson Javier García Santos.



## **ACTO QUE DEDICO**

**A:**

### **DIOS Y LA VIRGEN DE GUADALUPE.**

Creador del cielo y la tierra, que me dio el don de la vida, por darme sabiduría, por estar siempre en mi camino, y permitirme alcanzar esta meta, virgencita linda gracias por lo que me das diariamente.

### **A MIS HIJAS**

Quiero que sepan que este logro es de ustedes también, sepan que las amo, que están en mi corazón y en mi mente siempre: Nilseth Yessidere, Nélida Nilyene.

### **MIS PADRES**

Francisco Javier García Hernández y Vilma Felipa Santos gracias por darme la vida, con mucho amor y respeto, este logro no es solamente mio también lo comparto con ustedes.

### **MIS HERMANOS**

Victoria, Oscar y Rafael, por tantas cosas de la vida, por apoyarme en algún momento, por ser mis amigos, este logro es también de ustedes.

### **MIS ABUELOS**

Deciderio García (Q.E.P.D), Jesus Hernández (Q.E.P.D.), pero en especial, a Francisca Hernández con todo mi cariño y respeto, por todos los recuerdos y enseñanzas que me seguís dando.

### **MIS CUÑADOS**

Norma, Evelyn y Raúl por formar parte de la familia.

## **MIS SOBRINOS**

Shirley, Enguelbert, Dulce, Oscar, Carlos, Mario, Ely, y Josselyn que esto sea un ejemplo a seguir quiero que sepan que todo lo que se propongan en la vida se puede alcanzar, siempre con la ayuda de Dios con mucha voluntad y un poco de sacrificio, jamás se den por vencidos.

## **MIS TIOS Y PRIMOS**

En especial a Marco Tulio García (Q. E. P.D.) Ricardo Hernández (Q.E.P.D.) Con mucho cariño y respeto, siempre estaré agradecido por el apoyo brindado en todo momento, Marta, Adelia, Cesar, David, Veronica y a todos mis primos.

## **MIS AMIGOS**

Pablo García, Elmer González, Eugenia Díaz, Michelle Ayau, Ricardo Ola, Teresa Guerra, Brenda García, Nadia Ramírez, Marvin Mejia, Bayron Bamaca, Luis Reyes, Soren Ramirez, Carlos Sican, Barbara Porta, Guillermo Hernández, , Arturo García Salas , Pablo Cordón, Sayda Guillen, Osman Urizar, Pablo Alvarez y en especial como no podían faltar: Chex, Crispin, Canas, Cazador, Burro, Chom, Feto, Caballo, Pite. Gracias por brindarme su amistad, apoyo y confianza, por haber compartido tantas experiencias durante la carrera, hasta la victoria siempre.

## TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A:

- Dios y la Virgen de Guadalupe.
- Mi Madre y Abuela.
- A mis Hijas.
- A Villa Canales.
- Guatemala.
- Universidad de San Carlos de Guatemala.
- La Facultad de Agronomía.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser mi casa de estudios y mi segunda casa.

A la Facultad de Agronomía, por permitirme formarme en las Ciencias Agronómicas.

Al mi Supervisor y a la vez Asesor Ing. Gustavo Álvarez, por toda la ayuda técnica brindada a lo largo de la elaboración de este documento, muchísimas gracias por todo.

A mi asesor Ing. Ramiro López. Por su ayuda y valiosas observaciones en todas las etapas del trabajo.

A Ing. Amílcar Sánchez, por el apoyo brindado en la culminación de este trabajo de graduación.

Al personal del Laboratorio Fitosanitario UNR-MAGA, del Km. 22 Ing Agr. MSc. Edil Rodríguez por el apoyo brindado durante estos años para poder alcanzar esta meta, Diana Gutierrez, Bernardo Mendoza, Guillermo Hernández, Oscar Arevalo, Amilcar Toledo gracias por su amistad, somos los sobrevivientes.

Al personal del Laboratorio Fitozoosanitario (Sanidad Animal) UNR-MAGA km. 22 Bárcenas Villa Nueva, Dr. Mv. Flor Porras y personal técnico Arely Morroquín.

Al personal y Laboratorio Nacional de Salud, Km 22. Bárcena Villa Nueva.

A la aldea Concepción, Palencia, a todas las personas que colaboraron para el desarrollo de esta investigación, gracias.

Gracias sinceramente a todas las personas que de alguna u otra manera han hecho posible este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN.....	viii
CAPÍTULO I.....	1
Diagnóstico del Laboratorio Fitosanitario de la UNR, del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala Km.22 Carretera al Pacífico, Bárcena Villa Nueva, Guatemala ....	1
1. PRESENTACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1 Generales .....	2
2.2 Específicos .....	2
3. MARCO REFERENCIAL.....	3
3.1. Antecedentes.....	3
3.2 Unidad ejecutora.....	4
3.3 Misión y Visión .....	4
3.4 Ubicación .....	4
3.5 Administración .....	5
3.6 Alcances .....	6
3.7 Descripción general .....	6
3.7.1 El Laboratorio realiza diferentes actividades de diagnóstico.....	6
3.7.2 Asistencia Técnica .....	6
3.7.3 Capacitación .....	7
3.8 Costos.....	7
3.9 Infraestructura y servicios .....	7
3.10 Servicios .....	9
3.11 Recurso Humano .....	10
3.11.1 Diagnóstico Fitopatológico, .....	10
3.11.2 Diagnóstico Nematológico.....	10
3.11.3 Diagnóstico Bacteriológico .....	10
3.11.4 Entomología .....	10
3.12. Recursos físicos.....	10
3.12.1 Equipo.....	10
3.12.2 Reactivos y medios de cultivo .....	13
3.13 Metodología de ejecución .....	13
3.13.1 Recepción de muestras.....	13
3.13.2 Registro de muestras .....	14
3.13.3 Procesamiento de muestras.....	14
3.13.4 Tiempo requerido para el diagnóstico.....	14
3.13.5 Emisión de resultados .....	14
3.13.6 Muestras procesadas .....	14
3.14 Distribución de fondos recaudados .....	15
4. METODOLOGÍA .....	15
5. RESULTADOS .....	16
5.1 Análisis FODA (fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas) .....	16
6. CONCLUSIONES .....	18
7. RECOMENDACIONES .....	19
8. BIBLIOGRAFÍA.....	20
9. ANEXOS.....	21

	PÁGINA
CAPÍTULO II. INVESTIGACIÓN .....	28
DISTRIBUCIÓN Y PRESENCIA DEL COMPLEJO DE NEMÁTODOS DE QUISTE ( <i>Globodera pallida</i> ) y ( <i>Globodera rostochiensis</i> ) EN EL CULTIVO DE PAPA ( <i>Solanum tuberosum</i> L) EN LA ALDEA CONCEPCIÓN, PALENCIA, GUATEMALA.....	28
1. Presentación.....	29
2. Marco conceptual .....	31
2.1 Cultivo de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L) .....	31
2.2 Descripción general del cultivo de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	32
2.3 Zonas Óptimas de Producción del Cultivo de la Papa.....	33
( <i>Solanum tuberosum</i> L) de Guatemala (Christiansen, JA; Vargas, R. 1980). .....	33
2.3.1 Variedades cultivadas .....	34
2.4 Características de los nemátodos fitoparásitos .....	34
2.4.1 Características morfológicas y anatómicas .....	34
2.4.2 Biología y ciclo de vida .....	35
2.4.3 Población y patrón de distribución de los nemátodos .....	36
2.4.4 Familia HETERODERIDAE Filip'ev & Schuurmans Stekhoven, .....	37
1941 (Luc, M. 1942). .....	37
3. Género <i>Globodera</i> Skarbilovich, 1959 .....	39
3.1 Hospederos:.....	40
3.2 NEMATODOS DEL QUISTE DE LA PAPA, <i>Globodera rostochiensis</i> (Wollenweber) y <i>Globodera pallida</i> (Stone) Behrens, (Crozzoli, R. 1995).....	40
3.2.1 ASPECTOS GENERALES: .....	40
3.2.2 IDENTIFICACIÓN .....	41
3.2.3 BIOLOGÍA .....	42
3.2.4 PATOGENICIDAD Y MAGNITUD DEL DAÑO .....	45
3.2.5 DINÁMICA POBLACIONAL Y DIFUSION DE LOS NEMATODOS .....	46
3.2.6 HOSPEDEROS .....	47
3.2.7 <i>Globodera tabacum</i> (Lownsbery 1954) Behrens, 1975 (CAB, UK. 2006) .....	48
3.2.7.1 Taxonomía y Nomenclatura:.....	48
3.2.7.2 Biología y Ecología:.....	48
3.2.7.3 Morfología de ( <i>Globodera tabacum</i> ).....	49
3.2.8 Semejanzas a otras especies (CAB, UK. 2006) .....	51
3.2.9 MÉTODOS DE LA DETECCIÓN Y DE LA INSPECCIÓN.....	52
3.2.10 DIAGNOSTICO MOLECULAR, UTILIZANDO LA PRUEBA DE PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) (UD, PCR. 2006). .....	52
3.3 MARCO REFERENCIAL.....	54
3.3.1 Localización, extensión y accesos:.....	54
3.3.2 Zona de Vida .....	55
3.3.3 Su Clima .....	56
3.3.4 Suelos .....	56
3.3.5 Estudios realizados sobre el nemátodo de la papa.....	56
4. OBJETIVOS.....	58
5. HIPÓTESIS.....	59
6. METODOLOGÍA .....	60
6.1. Área de Producción:.....	60
6.1.2 Planificación del Muestreo .....	60
6.1.3 Áreas de Muestreo: .....	60
7. FASE DE CAMPO .....	61
7.1. Toma de Muestras: .....	61

	PÁGINA
7.2 Manejo de Muestras:.....	62
8. FASE DE LABORATORIO.....	65
8.1 Extracción de Quistes: .....	66
8.1.1. Método Fenwick modificado con Flotación en Acetona .....	66
8.1.2. Preparación de Montajes de Fenestralias de Quistes:.....	68
8.1.3. Determinación: .....	68
8.1.4. Mediciones .....	69
8.1.5. Prueba de Patogenicidad .....	69
8.1.6. Determinación de la especie: .....	71
8.1.6.1. Preparación de montajes de fenestralias de quistes del género <i>Globodera</i> sp. ....	71
8.1.6.2. Montaje de larvas estadio Juvenil (II). .....	73
8.1.6.3. Cuadro de comparación de parámetros según varios autores.....	74
8.1.6.4. Análisis Molecular mediante la prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR- Proceso Convencional:.....	76
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	78
9.1 Fase de campo .....	78
9.2 Fase de laboratorio .....	78
9.3. Prueba de Patogenicidad .....	80
9.3.1. Cortes Perineales de los quistes obtenidos del Bioensayo.....	81
9.3.2. Segundos estados juveniles .....	82
9.4. Resultados morfo-métricos .....	83
9.5. Análisis Reacción en Cadena de la Polimerasa-PCR Método Convencional.....	84
10. CONCLUSIONES .....	89
11. RECOMENDACIONES .....	90
12. BIBLIOGRAFÍA .....	91
13. ANEXOS.....	95
CAPÍTULO III.....	99
Servicios realizados en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la Unidad de Normas y Regulaciones, Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación.....	99
UNR-MAGA.....	99
1. Presentación.....	100
2. Servicio 1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA RECEPCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS .....	101
2.1 Objetivo.....	101
2.2 Metodología .....	101
2.3 Resultado.....	101
2.3.1 Manual de procedimientos para las muestras de hongos.....	102
2.3.1.1 Guía procedimiento .....	102
2.3.1.3 Procedimiento .....	105
2.4. Evaluación .....	112
2.5 Referencias bibliográficas .....	112
2.6 Anexo.....	113
3. Servicio 2. DETERMINACIÓN PICTÓRICA DE LAS ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LAS PLANTAS ORNAMENTALES Y LOS DIFERENTES CULTIVOS DE GUATEMALA. ...	114
3.1 Objetivos.....	114
3.2 Metodología .....	114
3.2.1 Muestreo .....	114
3.2.2 Materiales .....	115

	PÁGINA
3.2.3 Diagnóstico .....	116
3.3 Resultado.....	117
3.4 Evaluación .....	142
3.5 Revisión bibliográfica .....	142
4. Servicio 3. PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN EL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD, LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO, UNR-MAGA, DE GUATEMALA.....	143
4.1 Objetivos.....	143
4.2 Metodología .....	143
4.3 Resultados.....	146
4.3.1. Limpia del terreno: .....	146
4.3.2. Implementación de la técnica realización de camellones para la siembra del cultivo y uso de Materia Orgánica: .....	147
4.3.3. Siembra del cultivo en el área específica: .....	148
4.3.4. Densidad de Población del cultivo:.....	148
4.3.5. Fertilización: .....	149
4.3.6. Tutorado.....	149
4.3.7. Manejo fitosanitario para plagas y enfermedades del cultivo: .....	150
4.3.8. Cosecha.....	151
5. Evaluación .....	152
6. Revisión bibliográfica .....	152



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
<b>Figura 1.</b> Vista aérea de la ubicación del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario UNR-MAGA, Guatemala. ....	5
<b>Figura 2.</b> Ubicación interior y parte del equipo disponible para la realización del Diagnóstico Fitopatológico.....	8
<b>Figura 3.</b> Ubicación interior, material y equipo del área de trabajo de nematología.....	8
<b>Figura 4.</b> Ubicación interior, Material y Equipo del área de bacteriología....	9
<b>Figura 5.</b> Ubicación , Material y Equipo entomológico.....	9
<b>Figura 6.</b> Zonas productoras del cultivo de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.).....	34
<b>Figura 7.</b> Cortes perineales de <i>G. rostochiensis</i> y <i>G. pallida</i> .....	43
<b>Figura 8.</b> Raíces de papa infectadas con Quistes de <i>Globodera rostochiensis</i> (izquierda), y <i>Globodera pallida</i> (derecha) .....	43
<b>Figura 9.</b> Proceso de Prueba PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) .....	53
<b>Figura 10.</b> Mapa de la localización del municipio de Concepción, Palencia.....	55
<b>Figura 11.</b> Panorámica del área de estudio.....	60
<b>Figura 12.</b> Toma de muestras y datos en el área de muestreo .....	61
<b>Figura 13.</b> Ubicación del terreno y punto georeferenciado según Blanco como Con-10.....	62
<b>Figura 14.</b> Obtención coordenadas con ayuda de un GPS .....	63
<b>Figura 15.</b> Secado de muestras de suelo en las instalaciones del Laboratorio Facultad de Agronomía USAC y el Laboratorio Diagnostico Fitosanitario UNR-MAGA Km 22 .....	65
<b>Figura 16.</b> Procedimiento de extracción: Flotación de quistes a través del Método Fenwick, Modificado con Flotación en Acetona.....	67
<b>Figura 17.</b> Cortes perineales de los quistes.....	68
<b>Figura 18.</b> Bioensayo para prueba de Patogenicidad desarrollado en las instalaciones del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario UNR-MAGA, Modulo 6.....	70
<b>Figura 19.</b> Planta afectada por nematodos en la raíz presenta síntomas de amarillamiento, reflejados en las hojas después de 3 meses de sembrado el bioensayo .....	70
<b>Figura 20.</b> Adherencia de quistes obtenidos del bioensayo en las raíces de la planta de papa en vista al estereoscopio con lente 20X .....	71
<b>Figura 21.</b> Corte de región de quiste bajo estudio .....	72
<b>Figura 22.</b> Identificación de nematodos correspondientes al género <i>Globodera</i> sp obtenidos del bioensayo.....	73
<b>Figura 23.</b> Muestras de nematodos de quiste depositadas en tubos eppendorf enviadas al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía para análisis PCR-Método Convencional.....	77
<b>Figura 24.</b> Nematodos de quiste encontrados en el punto de muestreo Con-10 y terrenos aledaños. Aldea Concepción, Palencia, Guatemala .....	79

<b>Figura 25.</b> Patrón perineal de la fenestralia de los quistes encontrados en comparación con el patrón del genero <i>Globodera</i> sp (b). A (ano), V (vulva)...	79
<b>Figura 26.</b> Estudio de Patogenicidad. A (plántulas afectadas a los 105 días con síntomas de amarillamiento), B (quistes en las raíces) .....	80
<b>Figura 27.</b> Quistes encontrados en raíces en el estudio de patogenicidad, adheridos a las raíces.....	81
<b>Figura 28.</b> Patrones perineales de fenestralias de <i>Globodera</i> obtenidos del bio-ensayo de patogenicidad, unidades de muestreo a partir de Con – 10.....	81
<b>Figura 29.</b> Segundo estado juvenil obtenido a partir del estudio de patogenicidad .....	82
<b>Figura 30.</b> Nematodos de <i>Globodera</i> en el segundo estadio juvenil obtenidos a partir del estudio de patogenicidad del área de muestreo .....	83
<b>Figura 31.</b> Bandas obtenidas después de la prueba de PCR- Convencional, en gel de agarosa.....	85
<b>Figura 32.</b> Diferentes tipos de cámaras húmedas .....	107
<b>Figura 33.</b> Esquema de material vegetal para siembra en medio de cultivo.....	109
<b>Figura 34.</b> Cámara de flujo laminar encendida .....	110
<b>Figura 35.</b> Esquemización de la batería de desinfección.....	111
<b>Figura 36.</b> Incubadora para medios de cultivo .....	111
<b>Figura 37.</b> Personal del Laboratorio Nacional de Salud que recibió las Prácticas Agrícolas.....	144
<b>Figura 38.</b> Área del terreno asignado .....	145
<b>Figura 39.</b> Limpia del área para el cultivo .....	147
<b>Figura 40.</b> Realización de camellones y aplicación de Lombricompost.....	147
<b>Figura 41.</b> Siembra del cultivo.....	148
<b>Figura 42.</b> Establecimiento de la densidad del cultivo .....	148
<b>Figura 43.</b> Fertilización del cultivo y su floración .....	149
<b>Figura 44.</b> Plagas de suelo encontradas en el área del cultivo a) <i>Agriotes</i> sp, b) <i>Phyllophaga</i> sp, c) <i>Agrotis</i> sp.....	150
<b>Figura 45.</b> Aspersión de insecticidas contra plagas.....	150
<b>Figura 46.</b> Daño por <i>Rhizoctonia</i> y <i>Pythium</i> sp en tallo de chile jalapeño .....	151
<b>Figura 47.</b> Mancha en la hoja ocasionada por el hongo <i>Cercospora</i> sp .....	151
<b>Figura 48.</b> Fructificación del cultivo de chile jalapeño en el Laboratorio Nacional de Salud.....	152

## ÍNDICE DE CUADROS

	PÁGINA
<b>Cuadro 1.</b> Equipo de laboratorio del área de Nematología.....	11
<b>Cuadro 2.</b> Equipo con que cuenta el área de Fitopatología.....	11
<b>Cuadro 3.</b> Equipo de laboratorio del área de diagnostico Entomológico.....	12
<b>Cuadro 4.</b> Equipo de laboratorio del área de diagnóstico bacteriológico.....	12
<b>Cuadro 5.</b> Análisis FODA.....	17
<b>Cuadro 6.</b> Equipo de Cómputo del Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.....	23
<b>Cuadro 7.</b> Equipo para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.....	24
<b>Cuadro 8.</b> Cristaleria para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.....	25
<b>Cuadro 9.</b> Reactivos para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.....	26
<b>Cuadro 10.</b> Principales características de identificación en <i>G. rostochiensis</i> y <i>G. pallida</i> .....	44
<b>Cuadro 11.</b> Ubicación de las 52 unidades de muestreo.....	63
<b>Cuadro 12.</b> Características diferenciales entre <i>Globodera</i> sp, según varios autores..	75
<b>Cuadro 13.</b> Relación de Granek's (promedio) obtenida de patrones perineales de quistes de las muestras positivas al género <i>Globodera</i> encontrado.....	80
<b>Cuadro 14.</b> Relación de Granek's de patrones perineales de quiste, obtenidos del estudio de patogenicidad, Concepción – 10, Palencia, Guatemala.....	84
<b>Cuadro 15.</b> Resultados del Análisis Molecular PCR.....	85
<b>Cuadro 16.</b> Enfermedades que afectan a los diferentes cultivos de Guatemala.....	117
<b>Cuadro 17.</b> Material utilizado para limpia del area para el cultivo.....	146

**DISTRIBUCIÓN Y PRESENCIA DEL COMPLEJO DE NEMÁTODOS DE QUISTE  
EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) EN LA ALDEA CONCEPCIÓN,  
PALENCIA, GUATEMALA Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE  
DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO MAGA, BÁRCENA VILLA NUEVA, GUATEMALA**

**RESUMEN**

El Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía (EPSA), fue realizado en el “Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario”, Unidad de Normas y Regulaciones del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación de Guatemala (UNR-MAGA) en el “Centro de Diagnóstico Parasitológico” de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala -FAUSAC, con el objetivo de cumplir con los convenios realizados entre estas instituciones.

El diagnóstico consistió en determinar la situación actual del funcionamiento del “Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario”, UNR-MAGA, realizado en el periodo de agosto de 2005 a mayo de 2006. Se concluyó que esta institución cuenta con las condiciones necesarias y básicas para prestar sus servicios.

El municipio de Palencia, Guatemala, es un área productora de varias hortalizas, entre ellas, la papa (*Solanum tuberosum* L). Según reportes del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA), se cultivan 196 ha. y se producen 2,818TM. La plaga de mayor importancia a nivel mundial en el cultivo de papa es el complejo de nemátodos de quiste NQP, *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*; debido a los daños que ocasionan, ambas tienen restricciones cuarentenarias en Guatemala y en todo el mundo.

En abril del año 2002, el servicio agrosanitario de Honduras, detectó quistes de nemátodos en un cargamento de papa y por la sospecha de que fuera *Globodera rostochiensis*, se cerró temporalmente el mercado hondureño a Guatemala.

En base a un estudio preliminar que realizó Blanco en 2004, reportó que existe la presencia del nemátodo de quiste (*Globodera pallida*), en la aldea Concepción, Palencia debido a esta detección, se realizó la presente investigación, para establecer la presencia de NQP, en esta área y terrenos aledaños de producción de esta zona.

Se tomaron muestras de suelo en áreas cultivadas con papa o que tuvieran un historial de cultivo de cinco años. Las muestras fueron procesadas en el “Laboratorio de

Diagnóstico Fitosanitario” del MAGA Km. 22 de Guatemala, por el método Fenwick, con flotación en acetona (Blanco, 2004). A través de las características anatómicas y morfológicas se determinaron los géneros *Punctodera* y *Globodera*.

Muchos de los quistes obtenidos en la extracción estaban destruidos y no pudieron ser determinados. También se puede mencionar que el nivel de la población de quistes fue bajo.

Se realizó un bioensayo que consistió en inocular plantas de papa con quistes de *Globodera* obtenidos de las muestras de suelo procedentes de los puntos de muestreo y se comprobó la patogenicidad de *Globodera* en las plantas de papa. Los quistes obtenidos del bioensayo se sometieron a análisis morfométricos, y además se enviaron al laboratorio de Biotecnología de la FAUSAC, para la realización del Análisis Molecular “PCR-Convencional”

Los tres análisis realizados confirmaron la presencia de *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* en la región de Concepción Palencia, Guatemala.

Los análisis morfométricos establecieron la presencia de *G. rostochiensis* y *G. pallida*, además se encontraron especies que no encajan con los parámetros establecidos, para *G. pallida* y *G. rostochiensis* lo que se pudo corroborar en el análisis molecular que indican la presencia de al menos otra especie de *Globodera* además de las ya determinadas.

En base a los resultados obtenidos se recomienda realizar estudios sobre la dispersión, daño que ocasiona y establecer que otras especies están asociadas al cultivo en la región. Y además los organismos que están actuando como agentes de control biológico de la papa.

Los servicios realizados se llevaron a cabo en el Laboratorio Fitosanitario del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación del departamento de Guatemala, los cuales consistieron en: Elaboración del Manual de procedimientos para la recepción e identificación de hongos, con lo que se obtuvo la sistematización de los procedimientos en la recepción e ingreso de muestras.

Se logró establecer e identificar las diferentes enfermedades que afectan durante un fenómeno climático como lo fue el Huracán Stan a los cultivos del país. Así como la Planificación de las prácticas de producción de cultivos hortícolas al personal del

Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala. Este trabajo se realizó en el periodo de EPS de Agosto de 2005 a mayo de 2006.

## **CAPÍTULO I.**

**Diagnóstico del Laboratorio Fitosanitario de la Unidad de Normas y Regulaciones,  
del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala Km.22  
Carretera al Pacífico, Bárcena Villa Nueva, Guatemala**

## **1. PRESENTACIÓN**

El Laboratorio Fitosanitario, de la Unidad de Normas y Regulaciones del MAGA-Guatemala, fue creado con el fin de conformar el sistema de vigilancia epidemiológica fitosanitaria, así como proporcionar los servicios de análisis y asistencia técnica a la región de Central, prestando servicios a personas particulares, así como a instituciones privadas y gubernamentales.

Durante el año 2,006 se generaron normativas que deben cumplir los laboratorios de diagnóstico, con el fin de demostrar que operan bajo un sistema de estándares de calidad, con los cuales se podrían competir con otros laboratorios, que prestan similares servicios a nivel internacional, por tal razón hay exigencias de dichos parámetros con los que se tiene que cumplir, para poder prestar un servicio adecuado a los agricultores y exportadores de productos agrícolas.

Debido a ello se realizó el presente diagnóstico para establecer las fortalezas oportunidades debilidades y amenazas con que cuenta el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de Guatemala. Para ello se obtuvo información mediante entrevistas a personal del laboratorio. Como resultado se generaron recomendaciones para iniciar con el proceso de las normas establecidas por COGUANOR -ISO-IEC 17025.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Generales**

Establecer la situación actual del laboratorio de Fitopatología, en relación a las normativas de requerimiento internacional específicamente con las normas COGUANOR NGR-COPANT-ISO-IEC 17025.

### **2.2 Específicos**

- Evaluar las principales áreas de trabajo, con las que cuenta el laboratorio Fitosanitario en relación al personal y recursos con que se cuenta.
- Realizar un análisis FODA para el Laboratorio.

### **3. MARCO REFERENCIAL**

#### **3.1. Antecedentes**

En el año de 1955 el Ministerio de Agricultura, crea dentro de la dirección General de Agricultura, La División de Sanidad Vegetal. A partir de 1970 se instituye la Dirección general de servicios Agrícolas (DIGESA), y dentro de la misma se crea la Dirección Técnica de Sanidad Vegetal la cual coordina el Laboratorio Central de referencia de Sanidad Vegetal y su red de Laboratorios.

En el año de 1997 se inicia la reestructuración del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación con una derogación del acuerdo 102-70 desapareciendo la Dirección Técnica de Sanidad Vegetal y se crea la Unidad de Normas y regulaciones, bajo el esquema de área Fitozoosanitaria.

En 1998 se crea un área Fitosanitaria del Laboratorio ubicada en las Instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud. A partir del año 2001 se hace un esfuerzo a través de la unidad de Normas y regulaciones con el apoyo financiero del Programa de Apoyo a la Reconversión productiva Agroalimentaria (PARPA), para rehabilitar cuatro laboratorios regionales de Diagnóstico Fitozoosanitario, programado a través de la compra de equipo de laboratorio e infraestructura principalmente. A principios del año 2005 se contaba con 3 laboratorios regionales ubicados en los departamentos de Jutiapa, Escuintla y Quetzaltenango. Que seguidamente se cerraron.

Nuevamente a mediados del año del 2005 se le da la apertura a los Laboratorios , quedando nada más el Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario de referencia ubicado en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud, en el Km. 22 Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva del departamento de Guatemala, así como también el laboratorio que está ubicado en Quetzaltenango. Cabe mencionar que a partir de la nueva apertura del laboratorio del Km. 22 el Laboratorio Nacional de Salud le concedió

las instalaciones de lo que ahora es el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, para iniciar el trabajo el laboratorio comenzó con una área específica de 1 oficina y 2 áreas de trabajo, conforme fue pasando el tiempo se fueron implementando las demás áreas. A partir del año 2006 se abre un Laboratorio regional que esta ubicado en Santa Ana Petén.

En el mes de agosto del año 2005 en coordinación con el programa de EPS de la Facultad De Agronomía de la Universidad De San Carlos de Guatemala (FAUSAC), se establecen los lineamientos de trabajo tanto en el laboratorio de la FAUSAC, como en el laboratorio del MAGA – Guatemala. Además de ello, el Ing. Agr. Edil Rodriguez se traslado de UNR-MAGA ubicada en el Ministerio de Agricultura zona 13 de la ciudad de Guatemala, para formar parte de apoyo para el servicio de diagnostico del laboratorio. A partir de dicha fecha se han hecho mejoras para el laboratorio, así como capacitaciones para el personal del laboratorio.

### **3.2 Unidad ejecutora**

La Unidad De Normas y Regulaciones del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación. UNR-MAGA.

### **3.3 Misión y Visión**

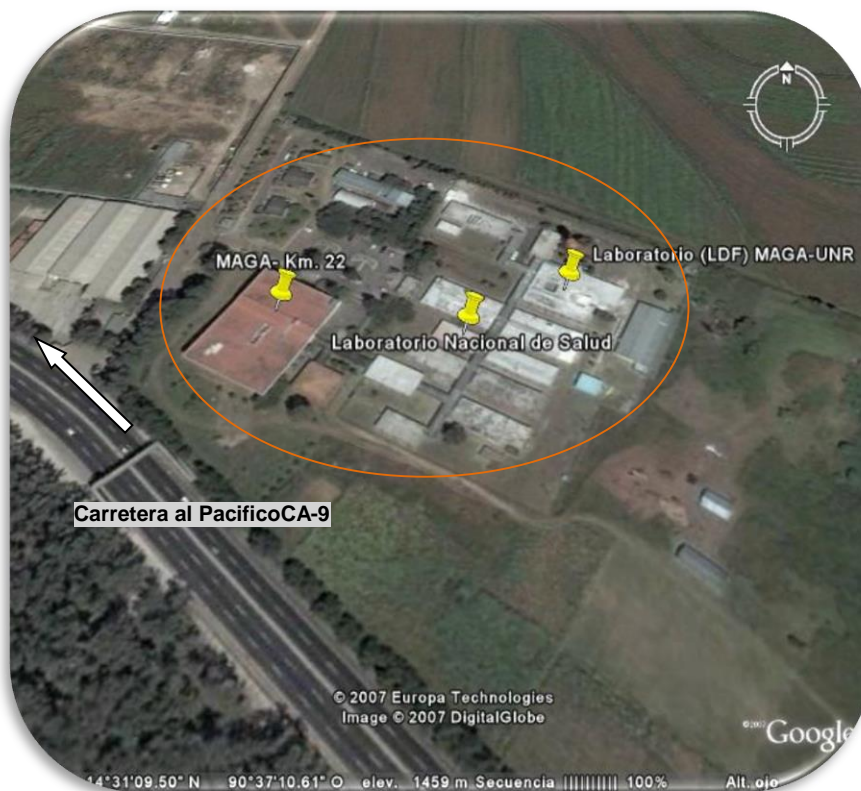
**Misión.** Este laboratorio fue creado con el fin de prestar asistencia técnica al sector agrícola y forestal, es un ente indispensable para la vigilancia, inspección y protección de productos agrícolas que ingresan y exportan, principalmente a la región central.

**Visión.** Prestar servicios de diagnósticos en el agro central y las demás regiones, factor clave para que el país compita con mayores posibilidades de éxito en el proceso de globalización y tratados internacionales de comercio.

### **3.4 Ubicación**

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) esta ubicado en el Km. 22 carretera al Pacifico, Bárcena Villa Nueva , en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud

(LNS) del departamento de Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), Unidad de Normas y Regulaciones (UNR), Guatemala.



**Figura 1. Vista aérea de la ubicación del “Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario UNR-MAGA, Guatemala”.**

Fuente: Google Earth, 2008.

En esta fotografía aérea se observa, la localización del Laboratorio del MAGA- Guatemala.

### 3.5 Administración

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario pertenece al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación por lo que su administración esta a cargo por la Unidad de Normas y Regulaciones y el Centro de Cooperación Internacional Para la Prevención Agrícola, según convenio 24-2005 CIPREDA – MAGA.

Actualmente se encuentra bajo la dirección del MSc.Ing. Agr. Edil Rodriguez quien figura como jefe del área de Diagnóstico Fitosanitario.

### **3.6 Alcances**

- El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario cuenta con una infraestructura básica y moderna, equipo humano especializado con amplia experiencia en las diferentes disciplinas de la fitoprotección.
- Factor clave para que el país pueda competir con posibilidades de éxito en el proceso de Globalización.
- Provee de material para colección de montajes permanentes y establecer la base de datos nacional de enfermedades.
- Apoyar proyectos de investigación con temas relacionados con el Diagnóstico Fitosanitario para el país.
- Apoyo de proyectos de investigación y formación de profesionales como la FAUSAC.

### **3.7 Descripción general**

#### **3.7.1 El Laboratorio realiza las actividades de**

- Diagnostico Fitopatológico,
- Diagnostico Entomológico.
- Diagnostico Nematológico.
- Diagnostico Bacteriológico.

#### **3.7.2 Asistencia Técnica**

- Muestreo de plagas.
- Asistencia Técnica al tema de Proteccion Vegetal.
- Toma de Muestras.
- Monitoreo de plagas.
- Manejo de enfermedades.
- Manejo de insectos plaga.

- Control de Plagas.
- Buenas Prácticas Agrícolas.
- Asesoría en proyectos de investigación con temas relacionados con el Diagnóstico Fitosanitario.

### **3.7.3 Capacitación**

- Patología Vegetal
- Entomología
- Capacitaciones relacionadas con el tema Fitosanitario.
- Uso de Plaguicidas
- Epidemiología
- Manejo Integrado de plagas
- Acarología
- Manejo Integrado de plagas

### **3.8 Costos**

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario tiene una tarifa estándar de 9.37 \$ por el tipo de cambio del Banco de Guatemala del día, este ingreso es depositado en el Banco de Desarrollo Rural (BANRURAL), el nombre de la cuenta monetaria es Unidad de Normas y regulaciones-MAGA y con el número de cuenta 30013-0405-17; por el tipo de análisis efectuado, prestando servicio a empresas Agrícolas, y Forestales, Agricultores individuales, Asociaciones de Productores y Gremiales, Cooperativas Agrícolas Organismos Internacionales etc, bajo el mismo costo.

### **3.9 Infraestructura y servicios**

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario está organizado con 4 áreas de análisis debidamente equipados, en donde se lleva a cabo las siguientes actividades:

**Área de Fitopatología:** compuesta por los elementos, recepción de muestras, material y equipo de cristalería y medios de cultivo, almacenamiento de reactivos, bodega, proceso y diagnóstico de muestras fitopatológicas, entrega de resultados.



**Figura 2.** Se observa la ubicación interior y parte del equipo disponible para la realización del Diagnóstico Fitopatológico.

**Área de Nematología** en esta área del laboratorio se procesan las muestras de extracción de nematodos filiformes y de quiste, se hace el diagnóstico de nematodos de Quiste y filiformes y se hace entrega de los resultados.



**Figura 3.** Ubicación interior, material y equipo del área de trabajo de nematología.

**Área de Bacteriología** en esta área del laboratorio se realizan los diagnósticos de bacterias y comprende también el área de almacenamiento de equipo y reactivos, y se hace entrega de los resultados.



**Figura 4.** Ubicación interior, Material y Equipo del área de bacteriología.

**Área de Entomología** esta área del Laboratorio se determina, se diagnostica el análisis entomológico y se hace entrega de los resultados.



**Figura 5.** Ubicación interior, Material y Equipo entomológico

### 3.10 Servicios

Para el funcionamiento del centro se cuenta con los siguientes servicios:

- Infraestructura Básica y Moderna
- Electricidad
- Agua potable



- Teléfono
- Internet
- Limpieza
- Bus
- Mantenimiento
- Seguridad

### **3.11 Recurso Humano**

Este esta constituido por el personal del Laboratorio. Actualmente se encuentra bajo la coordinación del Ing. Mcs. Edil Rodríguez Quezada, estando distribuido el personal en función del área en que se desempeña de la siguiente forma:

#### **3.11.1 Diagnostico Fitopatologico,**

- EPS. Nelson García

#### **3.11.2 Diagnostico Nematologico**

- Anibal Pérez.

#### **3.11.3 Diagnostico Bacteriologico**

- EPS. Nelson García

#### **3.11.4 Entomología**

- Técnico analista, Arturo García Salas

### **3.12. Recursos físicos**

Para la realización de los distintos tipos de diagnósticos el Laboratorio Fitosanitario cuenta con el siguiente material y equipo:

#### **3.12.1 Equipo**

**A. Área de Nematología**, área destinada para la ejecución de diagnóstico Nematológico y Fitopatológico, equipados con lo siguiente:

**Cuadro 1. Equipo de laboratorio del área de Nematología**

<b>No</b>	<b>Equipo</b>
1	Autoclave
1	Cámara nebulizadora para nematodos
1	Horno Pauster
1	Incubadora
1	Microscopio de investigación
1	Centrifuga
1	Estereoscopio de investigación
1	Pesa Diplato
1	Balanza analítica
1	Plato caliente Eléctrico
1	Computadora
	Cristalería , instrumental,reactivos y equipo accesorio de laboratorio

**B.Área de Fitopatología.** Este compartimiento está designado para el análisis Fitopatológico, pero aún hace falta implementarla con nuevo equipo, y brindarle mantenimiento al equipo existente.

**Cuadro 2.Equipo con que cuenta el área de Fitopatología.**

<b>No</b>	<b>Equipo</b>
2	Microscopios de investigación
2	Estereoscopios de investigación
2	Computadoras
1	Impresora
1	Refrigeradora
2	Incubadoras
	Bolsas plásticas para cámara húmeda

1	Fotocopiadora
	Sistema de agua
	Sistema de gas
	Cristalería, instrumental, reactivos y equipo accesorio de laboratorio.
1	Centrifuga
1	Horno microondas
1	Destilador de H <sub>2</sub> O

### C. Área Entomología

**Cuadro 3. Equipo de laboratorio del área de diagnóstico Entomológico.**

No	Equipo
1	Microscopio de investigación
1	Estereoscopio de investigación
	Cristalería , instrumental ,reactivos y equipo accesorio de laboratorios
1	Computadora
	Colección de especímenes para diagnóstico de referencia

**D. Área de Bacteriología**, esta área está debidamente aislada, y cuenta con el equipo siguiente:

**Cuadro 4. Equipo de laboratorio del área de diagnóstico bacteriológico.**

No	Equipo
1	Mecheros Bunsén
1	Lava placas
1	Refrigerador
1	Licuada
1	Olla para autoclave
1	Horno y Carretilla
1	Incubadoras

1	Baño maría
1	Campana de flujo laminar
1	Microscopio y Estereoscopio
1	Computadora
1	Incinerador de bacterias
	Cristalería , instrumental reactivos y equipo accesorio de laboratorios

### 3.12.2 Reactivos y medios de cultivo

Para la ejecución de los diversos tipos de diagnóstico o análisis que se realizan, se utilizan diversidad tipos de reactivos, medios de cultivo y cristalería, pudiéndose mencionar entre los mas comunes el agar nutritivo, agar-agar, dextrosa, extractos de origen vegetal y animal, B de King, YDC, agar-agua, gelatinas, harina, colorantes, sales, ácidos, alcoholes, y cristalería utilizados comúnmente, erlenmeyer, beakers, pipetas, probetas, cajas de petri, vidrios de reloj, tubos de ensayo, etc. Para observar la información mas completa se presenta en los anexos un listado de reactivos y cristalería según inventario del año 2005-2006.

## 3.13 Metodología de ejecución

### 3.13.1 Recepción de muestras

La recepción se realiza en el modulo VI de las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) es aquí donde esta ubicado el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (UNR-MAGA) en el interior de este modulo, para consignar los datos de las muestras tales como empresa o nombre del usuario, dirección, teléfono, correo electrónico etc., información requerida por si se necesita mayor información sobre el análisis o si se le debe de enviar los resultados al usuario. Además de ello en la boleta de ingreso el solicitante debe de llenar una serie de datos sobre el manejo del cultivo, así como datos de cómo se ha ido desarrollando en el espacio y el tiempo la plaga en su cultivo. (Boleta en anexo 1). La recepción esta a cargo del técnico de laboratorio, secretaria, o personal de cada área.

### **3.13.2 Registro de muestras**

Las muestras deberán de ingresarse al libro de registros en el cual se le asigna número según el correlativo que le corresponda a la muestra, ingresando los datos siguientes: Fecha de ingreso, código, solicitante, cultivo, procedencia, tipo de análisis solicitado, y alguna observación si es necesaria. Cabe mencionar una base de datos en forma digital.

### **3.13.3 Procesamiento de muestras**

El proceso de muestras esta a cargo de los responsables de las áreas mencionadas, dándole a ello el manejo correspondiente de acuerdo al tipo de análisis requerido.

### **3.13.4 Tiempo requerido para el diagnostico**

Desde la recepción hasta la emisión del resultado se estima un periodo aproximado de 5 días, tomando en cuenta la manifestación de signos en el tejido vivo o el crecimiento de muchos organismos in Vitro, es lenta. Para el caso de insectos, determinación de malezas y algunos hongos, el tiempo estimado es de 3 días como mínimo.

### **3.13.5 Emisión de resultados**

Los resultados son emitidos en una hoja debidamente membretada y sellada, en donde los encargados del laboratorio, emiten su firma, para la validación del resultado emitido. (Ver Anexo)

### **3.13.6 Muestras procesadas**

A partir del 2005 el Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario ha manejado diferentes volúmenes de muestras mensualmente, en donde inicialmente se manejo un numero de 30 ingresos en el mes de agosto el cual a partir del de Septiembre del año 2005 incremento a mas de 100 muestras, incrementándose a 2,000 muestras a finales de Diciembre del año 2005 de muestras ingresadas, en donde se solicitan en algunos casos hasta 3 tipos de análisis, por muestra.

Hasta la fecha de enero al mes de abril se han procesado mas de 350 muestras para el año 2006 en donde se estima que para finales del mes de diciembre sea mas de 3,000 muestras ingresadas.

Se ha prestado el servicio de diagnostico, a empresas Agrícolas, y Forestales, Agricultores individuales, Asociaciones de Productores y Gremiales, Cooperativas Agrícolas Organismos Internacionales, Instituciones gubernamentales y principalmente al Sistema de Vigilancia Fitosanitaria PIPAA. Dichas muestras han requerido diagnósticos de tipo Fitopatológico, Entomológico, Nematológico y Bacteriológico.

### **3.14 Distribución de fondos recaudados**

Los cobros que se realizan son depositados un fondo común de la Unidad De Normas y Regulaciones, del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación. El cual es distribuido a los diferentes programas. Los fondos son administrados bajo un sistema privativo utilizando una cuenta que se maneja, bajo el nombre Unidad de Normas y Regulaciones-MAGA.

## **4. METODOLOGÍA**

Para determinar la situación del laboratorio de Diagnostico Fitosanitario, de la UNR-MAGA de Guatemala se realizaron entrevistas al personal del laboratorio, con el fin de obtener información de los servicios que presta dicha institución, y en base a ello poder establecer un análisis FODA del laboratorio del MAGA. También se actualizó el inventario presente en el laboratorio, para ello se realizo un listado de material y equipo que provenía de los otros laboratorios ya cerrados.

## **5. RESULTADOS**

En base a la información recopilada a través de las entrevistas al personal del laboratorio, se logró la elaboración de un FODA. En el cuadro 5, se encuentra la información de las fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas obtenidas durante el desarrollo de EPS.

### **5.1 Análisis FODA (fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas)**

Este diagnóstico se realizó de acuerdo a la información y observaciones realizadas en el laboratorio Fitosanitario del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala así como entrevistas realizadas al personal que anteriormente había estado en el laboratorio. Pudiéndose establecer el siguiente análisis FODA. En el cuadro 4, se establece las fortalezas y amenazas que existe en el laboratorio Fitosanitario de la UNR-MAGA, Km.22 Carretera al Pacífico Bárcena Villa Nueva, Guatemala. Este análisis se compartió con el jefe del Laboratorio.

**Cuadro 5. Análisis FODA.**

<b>INTERNOS</b>	
<b>FORTALEZAS:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reconocido a Nivel Nacional.</li> <li>• Centro de Referencia para otros laboratorios gubernamentales e instituciones.</li> <li>• Infraestructura básica y adecuada.</li> <li>• Equipo y material de laboratorio adecuado.</li> <li>• Personal calificado.</li> <li>• Personal Capacitado</li> <li>• Acceso puntual.</li> <li>• La globalización exigirá que el laboratorio trabaje bajo estándares de calidad exigidos por el mercado, para mantenerse en funciones.</li> </ul>	<b>OPORTUNIDADES:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Puede crecer en servicios y volumen de trabajo.</li> <li>• Puede formar alianzas con otras instituciones similares para generar proyectos estatales con instituciones privadas.</li> <li>• Puede formar alianzas con entes del sector público.</li> <li>• Divulgación por medio de Internet, por panfletos, artículos, Colegio de Ingenieros Agrónomos etc.</li> <li>• Expandirse más a nivel nacional e Internacional</li> <li>• Ampliar su campo de acción en forma integrada con área de virología y área molecular (PCR).</li> </ul>
<b>EXTERNOS</b>	
<b>DEBILIDADES:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Falta de equipo para detección de enfermedades provocadas por virus.</li> <li>• El MAGA puede cambiar personal que paraliza otras actividades que ya se han emprendido en años anteriores. (Cambio de Gobiernos).</li> <li>• Poca divulgación sobre sus actividades.</li> <li>• Cuenta con poca información acerca de manuales de Procedimientos y otras documentaciones necesarias.</li> <li>• Poco personal.</li> </ul>	<b>AMENAZAS:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Otras instituciones prestan servicios similares.</li> <li>• Mayor divulgación de otros Laboratorios Públicos.</li> <li>• No ir a la vanguardia de tecnología y técnicas de diagnostico.</li> <li>• Cambios en las actividades del personal de apoyo, cambios de personal.</li> <li>• Fenómenos políticos.</li> </ul>



## 6. CONCLUSIONES

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario cuenta con 4 áreas de trabajo destinadas para realizar los análisis de diagnóstico de hongos, nemátodos, artrópodos y bacterias que están debidamente equipadas en función de las actividades por tipo de análisis que se ejecuta, cada área esta debidamente a cargo del personal especialista.

Las áreas de trabajo con que cuenta el laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario son 4, Fitopatología, Nematología, Entomología y Bacteriología y cuenta con el material y equipo básico para que funcione.

Cabe mencionar que cada área de trabajo debe de tener documentación de procedimientos para la realización del análisis establecido en base a las normas internacionales ISO 17025 , esta es una de las principales debilidades que tiene el laboratorio según el análisis FODA realizado.

## **7. RECOMENDACIONES**

Realizar la debida documentación y reestructuración por áreas establecidas del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario con la finalidad preparar los requisitos que se establecen para que el laboratorio inicie los procesos de certificación de la norma ISO – 17025.

Llenar los o requisitos estandarizados poder optar a la acreditación y certificación y brindar así un mejor servicio de análisis, que tenga validez a nivel Nacional e Internacional.



Fortalecer el personal técnico y profesional del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario con capacitaciones, también implementar un programa de Buenas Prácticas de Manufactura dentro de las áreas de Fitopatología, Nematología, Entomología Y Bacteriología.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2009 Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (en línea). Guatemala. Consultado 03 jul 2009. Disponible en [http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc\\_unr/SANIDAD%20VEGETAL/laboratorio](http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_unr/SANIDAD%20VEGETAL/laboratorio)
2. MAGA .2004. Ley de Sanidad Vegetal y Animal y su Reglamento.Unidad de Normas y Regulaciones.Serie Normativa. Cuarta Edicion. 45 Pag.
3. Martínez Alvarado, GF. 2005 Laboratorio zoosanitario (entrevista). La Esperanza, Quetzaltenango, Guatemala, UNR-MAGA, Laboratorio Fitozoosanitario.
4. Rodríguez Quezada, ER. 2005. Laboratorio fitosanitario (entrevista). Bárcena Villa Nueva, Guatemala, UNR-MAGA, Laboratorio Fitosanitario.

## 9. ANEXOS

**Boleta de Ingreso, utilizado en el diagnóstico Fitosanitario del Laboratorio del  
Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, de Guatemala.**

	<b>MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION UNIDAD DE NORMAS Y REGULACIONES SISTEMA DE VIGILANCIA FITOSANITARIA Guatemala, C. A.</b>				
<b>FORMULARIO PARA INGRESO DE MUESTRAS AL LABORATORIO</b>					
		MUESTRA No. _____			
LABORATORIO FITOZOOSANITARIO DE DIAGNOSTICO _____		FECHA <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">200</td></tr></table>			200
		200			
1. COLECTOR: _____ EPIDEMIOLOGO: _____					
2. DIRECCION: _____ TEL. _____					
3. PROCEDENCIA DE LA MUESTRA, Depto. _____ Municipio: _____					
Aldea: _____ Finca: _____					
4. COORDENADAS (X,Y) _____ Cultivo: _____ Cultivo Anterior: _____					
5. EXTENSION DE SIEMBRA: _____ Daño % _____ Edad Cultivo: Días _____ Meses _____ Años _____					
6. FASE FENOLÓGICA (al tomar muestra) _____					
7. DISTRIBUCION DE LA PLAGA: Regional: _____					
En el cultivo Uniforme: _____ Manchones o Parches _____ Plantas Aisladas: _____					
8. FACTORES ABIOTICOS: Inundación _____ Sequía _____ Heladas _____ Viento _____ Granizo _____ Otro _____					
Especifique: _____					
9. PARTE AFECTADA: Raíz _____ Tallo _____ Ramas _____ Hojas _____ Yemas _____ Flores _____ Fruto _____ Semilla _____ Otros _____					
10. SINTOMATOLOGIA: Acolochamiento _____ Marchites _____ Clorosis _____ Necrosis _____ Achaparramiento _____ Pudrición _____					
Moteado _____ Mancha Foliar _____ Nódulos Radiculares _____ Agallas _____ Minas _____ Otros: _____					
Especifique: _____					
11. AGROQUIMICOS EMPLEADOS:					
11.1 Fungicidas _____		Dosis: _____			
11.2 Insecticidas _____		Dosis: _____			
11.3 Nematicidas: _____		Dosis: _____			
11.4 Herbicidas: _____		Dosis: _____			
11.5 Fertilizantes: _____		Dosis: _____			
11.6 Otros: _____		Dosis: _____			
12. Tipo de análisis: Entomológico: _____ Nematológico: _____ Fitopatológico: _____ Bacteriológico: _____ Acarológico: _____					
13. OBSERVACIONES: _____					
_____					
_____ Nombre Receptor		_____ Nombre enterante			
<b>MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION UNIDAD DE NORMAS Y REGULACIONES SISTEMA DE VIGILANCIA FITOSANITARIA</b>					
El Petén, Sta. Elena. Tel.: 926-0171 • Quetzaltenango, La Esperanza: Tel.: 763-6381 Escuintla, Escuintla: Tel.: 889-5649 • Zacapa, Río Hondo, Casas de Pinto Tel.:					
		Muestra No. _____			
Nombre del propietario / Colector: _____					
Procedencia de la muestra: _____					
Fecha ingreso: _____ Fecha de Entrega: _____					
_____ Nombre y Firma de Receptor		_____ Nombre y Firma de Enterante			

## Boleta que se extiende para la entrega de resultados a los distintos usuarios del laboratorio



LABORATORIO NACIONAL DE SALUD  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO VEGETAL  
MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN  
UNIDAD DE NORMAS Y REGULACIONES  
Guatemala, C.A



LDF-2156-06

FECHA: Guatemala, 27 de Noviembre de 2006

EMPRESA: LA FLORESTA CROPS DE GUATEMALA

CULTIVO: Hiedra

UBICACIÓN:

FINCA: Villa Canales

PROCEDENCIA: Guatemala

METODO: Observación al Estereomicroscopio y al Microscopio.

TIPO DE ANALISIS:

HONGO XX INSECTOS \_\_\_\_\_ NEMATODOS \_\_\_\_\_ OTRO \_\_\_\_\_

MUESTRA:

INSPECCIÓN XX MONITOREO XX DENUNCIA \_\_\_\_\_ PARTICULAR \_\_\_\_\_

OTRO \_\_\_\_\_

EPIDEMIOLOGO/INSPECTOR: Ing. Elmer Reyes

### RESULTADOS DE LABORATORIO


En la muestra analizada se encontraron los siguientes fitopatógenos:

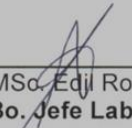
*Rhizoctonia solani. Fusarium sp.*

OBSERVACIONES:

Los resultados son referidos a la muestra analizada.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación  
Unidad de Normas y Regulaciones  
Laboratorio de Sanidad Vegetal  
Km. 22 Carretera al Pacífico, Barcenás, Villa Nueva

  
Técnico Analista Nelson García  
Responsable de diagnóstico

  
Ing. MSc. Edil Rodríguez Q.  
Vo. Bo. Jefe Laboratorio

*Entregado 2156-2167*

*20/12/06*

**INVENTARIO DE INSUMOS CON QUE CUENTA EL LABORATORIO FITOSANITARIO, PARA EL AÑO 2005-2006 QUE FUE PROPORCIONADO POR CIPREDA, LABORATORIOS REGIONALES Y PARPA.**

**Cuadro 6. Equipo de Cómputo del Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.**

<b>Equipo</b>	<b>Cantidad</b>
Monitor marca Mitsubishi	1
UPS marca Leums	1
Impresora marca Lexmark Z12 con su transformador	1
CPU marca Samsung	1
Monitor marca LG	1
CPU marca BENQ	1
Monitor marca Samsung	1
Mouse marca Samsung	1
Mouse marca Manhattan	1
Teclados de computadora	3
Papelera	1
Bocinas de equipo de cómputo	2

**Fuente:** CIPREDA

**Cuadro 7. Equipo para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.**

Platos caliente eléctrico	2
Estereomicroscopio, marca Nikon con 1 transformador Nikon	1
Microscopios marca Motic con transformador Motic y camara incorporada	2
Estereomicroscopios marca Motic con transformador Motic y cámara incorporada	2
Estereomicroscopios Marca Wild M3B con su respectivo transformador	3
Microscopio Marca Galen III con transformador	1
Cámara eléctrica marca Hitachi incorporada al microscopio Galen III	1
Estereomicroscopio marca Euromex	1
Embudos de Fenwick	2
Manguera de presión	1
Hornos	2
Incubadoras	2
Centrifugas	4
Destilador de agua	1
fotocopiadora	1
Teléfono de planta	1

**Cuadro 8. Cristalería para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.**

<b>CRISTALERÍA</b>	<b>CANTIDAD</b>
Caja Petri	1000
Tubos de Ensayo	300
Tubos de Ensayo con rosca	350
Vidrios de reloj	30
Beakers de 10 ml	20
Beakers de 250 ml.	26
Beakers de 50 ml.	50
Beakers de 100 ml.	75
Beaker de 600 ml	50
Beakers de 1000 ml	24
Beakers de 2000 ml	2
Erlenmeyer de 125 ml	54
Erlenmeyer de 250 ml	30
Erlenmeyer de 500 ml	34
Erlenmeyer de 1000 ml	24
Erlenmeyer de 2000 ml	2
Embudos de Berman plásticos	35
Embudos de Berman de vidrio	100
Probeta de 10 ml	13
Probeta de 50 ml	17
Probeta de 100 ml	22
Probeta de 500 ml	10
Probeta de 1000 ml	10
Pipetas de 1 ml	60
Pipetas de 5 ml	22
Pipetas de 10 ml	15
Pipetas de 25 ml	10
Guantes de asbesto	2
Pinzas de disección de hierro	50
Frascos con Gotero	100
Agujas de disección	110
Perillas para pipeta	10
Cajas Porta y Cubre objetos	100
Balones aforados	25
Frascos de vidrio	14



**Cuadro 9.Reactivos para el Laboratorio Fitosanitario, para los años 2005-2006.**

<b>PRODUCTO</b>	<b>CANTIDAD</b>
AGAR GRADO BACTERIOLÓGICO	1 KG.
AGAR NUTRITIVO	455G.
AGAR-AGAR	500G.
DEXTROSA	100 GR
EXTRACTO DE CARNE	1 KG
EXTRACTO DE LEVADURA	1KG.
GALACTOSA 98%	100G.
GELATINA USP.	455G.
KAOLIN	500G.
MA <sup>C</sup> CONDEY - AGAR	1 KG
PEPTONA DE CARNE	1 KG
ACEITE DE INMERSION	500ML
ACETATO CUPRICO	1KG
ACIDO ACETICO GLACIAL 99%	1 GAL
ACIDO CLORIDRICO	473ML
ACIDO CLORIDRICO 1(N)	1LT
ACIDO LACTICO	1LT
ACIDO SULFURICO	1LT
CARBONATO DE CALCIO	500G
GLICERINA 87%	2 GAL
HIDROXIDO DE POTASO	1KG
HIDROXIDO DE SODIO 1 (N)	1LT
XIOL	1LT
YODURO DE POTASIO	250G
CRISTAL VIOLETA	50 GR
FUCSINA ACIDA	50G
FUCSINA BASICA	300 ML
ROJO DE METILENO	25G
ACEITE MINERAL	200 ML
ACIDO ACETICO	1GL
AGUJAS CAOTERAS	100 UN.
ALCOHOL ETILICO 95%	2
ALCOHOL ISOPROPILICO 88%	100 ML
COLORO 100 %	1 GAL
GILLETTE	200 UNI.
PINZAS BACTERIOLÓGICAS	10
ACETATO DE CALCIO(II)	250G.
ACEITE DE CLAVO	3 GAL.
ÁCIDO BÓRICO	1
ACIDO BORICO	50G
BICARBONATO DE SODIO	100G.

CARBONATO DE SODIO	500G.
CASEINA HIDROLIZADA	454G.
CLORALHIDRATO	500G.
CLORURO DE AMONIO	113G.
CLORURO DE COBRE	100G.
CLORURO DE MERCURIO	50G
CLORURO DE SODIO	1KG
FENOL EN CRISTALES	500G.
FOSFATO DE SODIO	1KG
HIDRATO DE CLORAL	1KG
HIDROXIDO DE POTASIO	250G
HIDROXIDO DE SODIO	500G.
MALTOSA	100G.
NITRATO DE MAGNESIO	100 GR
NITRATO DE SODIO	500G.
NTRATO DE CALCIO	500G.
NITRATO DE SODIO	454G.
OXALATO DE AMONIO	500G.
SULFATO ANHIDRO DE SODIO	450G
SULFATO DE AMONIO	500G.
SULFATO DE MAGNESIO	454G.
SULFATO DE SODIO HIDRATADO	1KG
SULFATO FERROSO	100G.
SULFATO DE ZINC	250G
YODURO DE POTASIO	250G

## **CAPÍTULO II. INVESTIGACIÓN**

**DISTRIBUCIÓN Y PRESENCIA DEL COMPLEJO DE NEMÁTODOS DE QUISTE (*Globodera pallida*) y (*Globodera rostochiensis*) EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) EN LA ALDEA CONCEPCIÓN, PALENCIA, GUATEMALA.**

**DISTRIBUTION AND PRESENCE OF THE CYST NEMATODES COMPLEX (*Globodera pallida*) AND (*Globodera rostochiensis*) IN THE POTATO (*Solanum tuberosum* L) CROP IN THE VILLAGE OF CONCEPCIÓN, PALENCIA, GUATEMALA.**

## 1. Presentación

El municipio de Palencia, Guatemala, es un área productora de varias hortalizas, entre ellas, la papa (*Solanum tuberosum* L). Según reportes del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA), se cultivan 196 ha y se produce 2,818 TM anuales.

En base a un estudio preliminar que realizó Blanco en 2004, reportó que existe la presencia del nemátodo de quiste (*Globodera pallida*), en la aldea Concepción, Palencia (Blanco, L. 2004). Es por ello que se realizó la presente investigación en dicha aldea, en el punto localizado como lo cita Blanco y codificado como Con-10 para confirmar la presencia y distribución de nemátodos de quiste del género *Globodera* haciendo uso de técnicas más certeras. La importancia de la *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* radica en los daños y pérdidas que ocasionan a los productores de papa en la región y que por su virulencia están catalogados como cuarentenados.

A partir del punto georeferenciado se tomaron un total de 52 muestras y de áreas aledañas, de las cuales ocho representan al género *Globodera* y 44 al género *Punctodera*. Las ocho muestras positivas al género *Globodera* fueron sometidas a un bioensayo, para establecer la patogenicidad del nemátodo y así establecer su virulencia.

Del estudio de patogenicidad se observó presencia de quistes, marrones y globosos, adheridos a las raíces en sus repeticiones. Se recuperaron segundos estadios juveniles, los cuales fueron sometidos a análisis morfométrico y molecular.

El parámetro evaluado en relación al género *Globodera* que dio positivo, la prueba de patogenicidad y las otras como relación de Granek's de los patrones perineales de los quistes obtenidos del estudio de patogenicidad similares a los datos que Schots (Schots, A. 1987). et al y Schulter (Schluter, K. 1976), así como el número de estrías cuticulares; inóculo inicial en el estudio de patogenicidad, nódulos basales del estilete en el segundo estadio juvenil, valores de largo del estilete y longitud de cuerpo dentro del rango de una población tipo de *Globodera pallida*; presentaron variabilidad en los datos obtenidos.

Debido a esta variabilidad de datos para establecer con más certeza la presencia de la especie de nemátodo presente en la Aldea Concepción, se concluyó en realizar el análisis molecular en donde los resultados de la prueba de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) por el método Convencional, fue realizado en el laboratorio de Biotecnología de la FAUSAC, donde se detectó el ADN de los quistes y se confirmó que 2 muestras son positivas a *Globodera pallida*, 3 muestras positivas a *Globodera rostochiensis* y 3 muestras mas no presentaron ninguna de las bandas de las dos especies; con esta información se concluye que los quistes encontrados en el área de muestreo, Concepción, del municipio de Palencia son pertenecientes al nemátodo blanco de la papa (*Globodera pallida*) y al nemátodo dorado (*Globodera rostochiensis*). Aunque las otras 3 muestras que no presentaron banda en la prueba puede decirse que pertenezcan a otra especie de nemátodo.

## 2. Marco conceptual

### 2.1 Cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L)

La papa cultivada es originaria de Suramérica. La antigüedad de su cultivo aún no se conoce. Se supone que esta planta fue domesticada por varias culturas de clima frío como la Chiripa, Tiahuanaco, Colla e Inca, u otras anteriores a estas, que se desarrollaron en las altiplanicies andina, territorio conocido por los incas con el nombre de Collao y que actualmente se encuentra incluido entre el Perú y Bolivia.

Las colecciones de papa efectuadas en los Andes demuestran que las especies de papa cultivada, nativas de Suramérica, forman una serie poliploide integrada por diploide, triploide, tetraploide y pentaploide con 24, 36, 48 y 60 pares de cromosomas, respectivamente. Dichas colecciones también demuestran que la población más variable de las especies de papa cultivadas, en todos los niveles de ploidia, se presente en las altas regiones montañosas comprendidas entre el Cuzco y el Lago Titicaca, al sudeste del Perú. Esta región podría considerarse como el centro de origen de la papa, de acuerdo con la hipótesis de Vavilov (1951), según la cual, el lugar o centro de origen de una especie cultivada coincide con el área en donde la población de dicha especie presenta la máxima variabilidad genética. Probablemente, desde este centro primario la papa se difundió a lo largo de los Andes como uno de los factores más importantes para el desarrollo de las culturas de clima frío.

La papa cultivada recibió diferentes nombres de acuerdo con el idioma de los principales grupos étnicos que la utilizaron como alimento básico, así se la llamo “choque” en Aymara, “Acús.” En Quechua (Chinchay), “iomuy” en Chibcha y “poñi” en Araucano. El nombre común actual (papa), posiblemente de origen Quechua, fue difundido en América por los conquistadores; sin embargo, también se le utiliza para designar raíces y tubérculos botánicamente diferentes a la papa común especialmente en regiones de clima medio. En España la papa se denomina “batata”, derivada del nombre caribe de la batata dulce (*Ipomea batatas*, Poir) para designar cualquier tubérculo de plantas provenientes del Nuevo Mundo y de esta manera se aplicó dicho vocablo a la papa, la cual quedó con el nombre de “patata” debido a una ligera modificación.

El nombre científico de la papa es *Solanum tuberosum* L. Con este nombre fue registrada por primera vez en 1596 por Gaspar Bauhin en *Phytopinax* y luego adoptada

por Carlos Linneo en 1753 en *Species Plantarum* (Bauhin 1596, Linneo 1753). Hawkes (1963) reconoce dos subespecies de *Solanum tuberosum*; la subespecie *tuberosum*, representada por variedades tetraploides adaptadas a días largos y cultivada en todo el mundo; y la subespecie *andigena*, que incluye también variedades tetraploides pero adaptadas a días cortos y que se cultivan principalmente en la zona andina desde Venezuela hasta el norte de Argentina. Las variedades conocidas como “papa de año” en Colombia, corresponden a *Solanum tuberosum* L. subesp. *andigena*, Hawkes; y las variedades de “papa criolla” pertenecen a la especie *Solanum phureja*, Juz, et Buk (Juzepczuk y Bukasov 1929) (Luján Claire, L. 1995).

## 2.2 Descripción general del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Perteneciente a la familia Solanaceae, cuyo nombre científico es (*Solanum tuberosum* L.).

Es una planta herbácea, vivaz, dicotiledónea, provista de un sistema aéreo y otro subterráneo de naturaleza rizomatosa del cual se originan los tubérculos.

**Raíces:** son fibrosas, muy ramificadas, finas y largas. Las raíces tienen un débil poder de penetración y sólo adquieren un buen desarrollo en un suelo mullido.

**Tallos:** son aéreos, gruesos, fuertes y angulosos, siendo al principio erguido y con el tiempo se van extendiendo hacia el suelo. Los tallos se originan en la yerna del tubérculo, siendo su altura variable entre 0.5 y 1 metro. Son de color verde pardo debido a los pigmentos antociámicos asociados a la clorofila, estando presentes en todo el tallo.

**Rizomas:** son tallos subterráneos de los que surgen las raíces adventicias. Los rizomas producen unos hinchamientos denominados tubérculos, siendo éstos ovales o redondeados.

**Tubérculos:** son los órganos comestibles de la papa. Están formados por tejido parenquimático, donde se acumulan las reservas de almidón. En las axilas del tubérculo se sitúan las yemas de crecimiento llamadas “ojos”, dispuestas en espiral sobre la superficie del tubérculo.

**Hojas:** son compuestas, imparpinnadas y con foliolos primarios, secundarios e intercalares. La nerviación de las hojas es reticulada, con una densidad mayor en los nervios y en los bordes del limbo.

**Inflorescencias:** son cimosas, están situadas en la extremidad del tallo y sostenidas por un escapo floral. Es una planta autógama, siendo su androesterilidad muy frecuente, a causa del aborto de los estambres o del polen según las condiciones climáticas. Las flores tienen la corola rotácea gamopétala de color blanco, rosado, violeta, etc.

**Frutos:** en forma de baya redondeada de color verde de 1 a 3 cm de diámetro, que se tornan amarillos al madurar.

La papa se produce en climas templados y fríos adaptándose bien a alturas comprendidas entre los 1,000 a 2,400 msnm, con temperaturas óptimas para un buen desarrollo de 16 a 24°C. Su propagación es típicamente asexual, a través de tubérculos como propágulos, en términos generales, todo lo que sirve para propagar o multiplicar vegetativamente la planta (Infoagro.com 2006).

#### **Clasificación taxonómica de la papa (Cronquist, A. 1981)**

Dominio: Eukaryota

Reino: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Clase: Dicotyledonea

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: Solanum

Especie: *Solanum tuberosum* L.

### **2.3 Zonas Óptimas de Producción del Cultivo de la Papa**

**(*Solanum tuberosum* L) de Guatemala (Christiansen, JA; Vargas, R. 1980).**

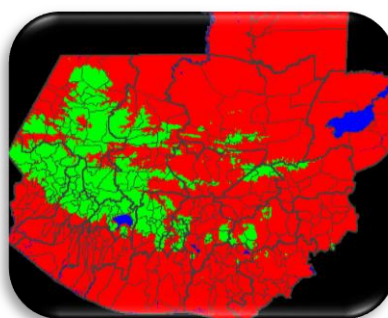
El área del cultivo de la papa es actualmente cerca de 10.000 has, dando una producción total la producción de 70.000 t, de este 40% se exporta, principalmente a los países americanos centrales, 40 % es utilizado para la consumición nacional y el 9% se utiliza en industria. Alrededor 8.000 t se utilizan para semilla.



A pesar de la papa que es plantada en casi todos los departamentos, 90 % están producidas en siete departamentos: San Marcos el 28%, Huehuetenango el 21%, Palencia (departamento de Guatemala) el 13%, Quetzaltenango el 11%, Chimaltenango el 9%, Jalapa el 6% y Sololá el 2%. De esto el 90%, el 62% se produce en las montañas occidentales.

En términos geográficos podemos distinguir 4 zonas importantes:

1. Zona occidental: San Marcos y Huehuetenango.
2. Zona occidental central: Quetzaltenango y Sololá.
3. Zona central: Chimaltenango y Palencia.
4. Zona del este: Jalapa y alrededor de Santa Rosa.



Áreas óptimas  
para la siembra



**FIGURA 6.** Zonas productoras del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) =

Fuente: MAGA/ESPRED-APTITUD/7-11-01;  
Sistema de Vigilancia Fitosanitaria-UNR (24).



### 2.3.1 Variedades cultivadas

Las variedades principales de la papa de la exportación en el país son: Loman, Flor Blanca, Alfa, Voran, Patrones, Atzimba, Mercurio, Utatlan, Ixhuatan o Santa Rosa y Toliman. . Las variedades principales son Atzimba y Loman. Loman no se ha incluido en el programa certificado de la semilla, debido a su susceptibilidad al último destroz y a su potencial limitado de la producción (Christiansen, JA; Vargas, R. 1980).

## 2.4 Características de los nemátodos fitoparásitos

### 2.4.1 Características morfológicas y anatómicas

Los nematodos fitoparásitos son pequeños organismos que viven en el suelo, atacan y se alimentan de la raíz de varias plantas. Su largo oscila entre los 300 a 1,000

$\mu\text{m}$ , por 15 a 35  $\mu\text{m}$  de ancho. Tienen generalmente forma de anguila con cuerpos lisos no segmentados, sin apéndices. Algunas hembras presentan dimorfismo sexual en la madurez con forma de pera o cuerpos esferoides (Agrios, GN. 1998, CAB, 2006).

Son más o menos transparentes, con una cutícula incolora, que a menudo poseen estrías u otros detalles, esta despliega la muda a través de sus distintas etapas larvarias. Poseen un sistema digestivo que está formado por un tubo hueco que se extiende desde la boca pasando por el esófago hasta el intestino, recto y ano. Por lo regular existen seis labios que rodean la boca. Los nematodos fitoparasíticos poseen un estilete hueco o lanza que utilizan para perforar las células vegetales (Agrios, GN. 1998, CAB, 2006).

El sistema reproductor se ha desarrollado, las hembras poseen uno a dos ovarios seguidos por un oviducto y un útero que termina en la vulva. El macho posee un testículo, una vesícula seminal y termina en un orificio común con el intestino; existe un par de espículas copulatorias que sobresalen (Agrios, GN. 1998).

#### **2.4.2 Biología y ciclo de vida**

Muchas especies de nematodos fitoparasíticos poseen un simple ciclo de vida, que consiste en huevo, cuatro estados juveniles (usualmente se refiere a ellos como JI, JII, JIII y JIV) y el estado adulto. Con pocas excepciones el estado juvenil JII de los nematodos fitoparasíticos, es el estado infectivo. El desarrollo del primer estado juvenil ocurre dentro del huevo, cuando la primera muda ocurre. En el segundo estado juvenil sale del huevo para buscar e infectar las raíces de las plantas, alimentándose de los fluidos de las células y en algunos casos del tejido foliar, en este estado juvenil pocas especies causan daños severos. La búsqueda de hospederos o su movimiento en el suelo ocurre aún con una pequeña lámina de agua sobre las partículas de suelo o sobre la superficie de las raíces (CAB, 2000).

Dependiendo de la especie, la alimentación ocurre a lo largo de toda la superficie de la raíz o como en otras especies que forman agallas, los estados juveniles jóvenes invaden el tejido de la raíz, estableciéndose dentro permanentemente y alimentándose de los sitios de alrededor. A partir del segundo estado juvenil mudará tres veces, hasta ser un adulto (Siddiqi, MR. 1972).

En varias especies de nematodos, la hembra produce de 50 a 100 huevos, y en otros casos como los nematodos formadores de agallas, más de 2,000 huevos son capaces de producir. Bajo las mejores condiciones del ambiente, los huevos eclosionan y un nuevo nematodo emerge para completar su ciclo de vida de 4 a 8 semanas dependiendo de la temperatura. Generalmente existe un mayor desarrollo de los nematodos a temperaturas óptimas del suelo en un rango de 21 a 27 °C (Agrios, GN. 1998, Siddiqi, MR. 1972).

### 2.4.3 Población y patrón de distribución de los nemátodos

El límite superior de la población para cualquier especie de nematodo parásito de plantas depende de su potencia reproductora, de la especie de planta huésped y del tiempo en estar en condiciones adecuadas para su reproducción. Los endoparásitos especializados y parásitos superficiales tienen una mayor potencia de reproducción que los ectoparásitos. La disposición de una población, es la forma en que sus individuos se ubican en el espacio, y se refiere al patrón de distribución espacial. Este patrón es un elemento básico que permite explicar muchos de los comportamientos de los individuos (Agrios, GN. 1998).

Los patrones de disposición espacial son tres (Agrios, GN. 1998):

1. **Patrón al azar:** cuando cada punto del espacio tiene igual probabilidad de estar habitado por un individuo
2. **Patrón agregado o contagioso:** cuando la presencia de un individuo en un sitio aumenta la probabilidad de encontrar otros en su vecindad.
3. **Patrón uniforme o regular:** cuando la presencia de un individuo disminuye la probabilidad de encontrar otros en el mismo lugar.

La distribución típica sigue un patrón agregado o contagioso. Factores como el tipo de deposición de huevos, patogenicidad relativa, distribución de raíces, respuesta al microclima y la interacción entre enemigos naturales contribuyen al proceso de agregación.

#### 2.4.4 Familia HETERODERIDAE Filip'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (Luc, M .1942).

**Tylenchoidea.** Dimorfismo sexual marcado, cuerpo vermiforme con un segundo estado juvenil delgado, machos robustos y hembras hinchadas. Estructura cefálica bien desarrollada y reducida en las hembras. Estilete robusto; el ancho del cuerpo a la altura de los nódulos basales es un cuarto del largo total del estilete. Abertura de la glándula esofágica dorsal hacia la base del estilete. Bulbo medio usualmente largo, con válvula fuerte. Glándula esofágica sobrepuesta ventral al intestino y un poco lateral.

**Hembras:** sedentarias sobre el tejido de las raíces, globosas. Vulva terminal o subterminal. Dos ovarios, amfidelicos o prodélicos. Útero columnar con tres hileras de células. Huevos inmersos en una matriz gelatinosa o total o parcialmente retenidos dentro del cuerpo de la hembra que transforma su cutícula (quiste).

**Machos:** vermiformes, con metamorfosis dentro de la cutícula joven. Cuerpo curvo en la parte posterior. Sin ala caudal. Cola corta o ausente.

Segundo estado Juvenil: cola cónica. Fasmidias ubicadas una cuarta parte antes del largo total de la cola.

##### 2.4.4.1 Subfamilia HETERODERINAE Filip'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (Luc, M .1942).

**Heteroderidae.** Cutícula fuertemente anillada, con un patrón de encaje en hembras hinchadas. Estructura cefálica fuerte y reducida en las hembras. Sectores laterales estrechos o iguales al sector sub-medio. Estilete robusto, usualmente mayor de 20  $\mu\text{m}$ .

**Hembras:** sedentarias, globosas; cuello corto. Sin un estado pre-adulto vermiforme. Cutícula anormalmente gruesa, con un patrón variado. Poro excretor situado a nivel posterior del bulbo medio esofágico. Vulva terminal o subterminal. El perineo no posee un patrón de huella digital. Huevos generalmente retenidos dentro del cuerpo de la hembra cuyo cuerpo se endurecerá y se transformará en un quiste, con todos o parte de los huevos puestos sobre una matriz gelatinosa.

**Machos:** región labial regularmente anillada. Región cefálica esclerotizada con un estilete fuerte. Fasmidios pequeños o ausentes.

**Juveniles:** segundo estado juvenil con estructura cefálica y estilete robusto; estilete más largo de 17  $\mu\text{m}$ . Tercer y cuarto estado hinchados, con un estilete robusto.

**Biología:** sedentarios en raíces; hembras transforman las células (forman un sincitio o células gigantes con grandes núcleos). No producen agallas en las raíces.

**Género tipo:** *Heterodera* Schmidt, 1871.

**Otros géneros:** *Globodera* Skarbilovich, 1959.

*Punctodera* Mulvey & Stone, 1976.

*Cactodera* Krall' & Krall', 1978.

*Afenestrata* Baldwin & Bell, 1985.

### 3. Género *Globodera* Skarbilovich, 1959

Hembras: estado de quiste presente. Cuerpo globoso o esferoidal, con un cuello corto y sin cono terminal. Cutícula gruesa, con un patrón superficial parecido a un encaje. Vulva terminal, de mediana longitud. Área vulval circunfenestrada. Sin fenestra anal, pero el ano y la vulva están situados en el mismo “plano vulval”. Todos los huevos están retenidos dentro del cuerpo (pero no formando una masa de huevos).

Machos: cuerpo curvo, con cuatro incisuras laterales. Espículas > 30 µm, con extremo puntiagudo. Sin tubos cloacales. Cola corta, semiesférica.

Segundo estado juvenil: estilete < 30 µm. Cuatro incisuras laterales. Glándulas esofágicas cubriendo la cavidad del cuerpo. Cola cónica, puntiaguda, con una cuarta parte terminal hialina. Fasmidias punctiformes.

**Especie tipo:** *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975

*Heterodera schachtii rostochiensis* Wollenweber, 1923

*Heterodera schachtii solani* Zimmermann, 1927

**Otras especies:** *Globodera artemisiae* Behrens, 1975

*Globodera chaubattia* Wouts, 1984

*Globodera mirabilis* Mulvey & Stone, 1976

*Globodera pallida* (Stone) Behrens, 1975

*G. lobodera rostochiensis* Mulvey & Stone, 1976

*Globodera tabacum solanacearum* Behrens, 1975

*Globodera tabacum virginiae* Behrens, 1975

### 3.1 Hospederos:

Trabajos de investigación realizados en los últimos 48 años han dado mucha información sobre la distribución, biología, relación con hospederos y control de los nematodos de quiste. *Globodera solanacearum*, *Globodera tabacum* y *Globodera virginiae*, descritos para los Estados Unidos, son similares a los nematodos formadores de quiste en la papa respecto a su morfología y preferencia de hospederos siendo su diferenciación dificultosa. En los Estados Unidos consideran tener una subespecie de *Globodera tabacum* que ataca cultivos de tabaco y tomate. El complejo *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida* son los principales patógenos de la familia *Solanaceae* (Schluter, K. 1976, CAB, 2000).

*Globodera* parásita a las familias *Solanaceae* y *Compositae*. Los nematodos de quiste de la papa (*Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*) son una amenaza en campos de cultivo en Europa y otras partes del mundo (Stone, AR. 1973).

### 3.2 NEMATODOS DEL QUISTE DE LA PAPA, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) y *Globodera pallida* (Stone) Behrens, (Crozzoli, R. 1995)

#### 3.2.1 ASPECTOS GENERALES:

Phylum: Nematoda

Subphylum: Sarcodina

Clase: Secernentea

Orden: Tylenchida

Familia: Heteroderidae

Subfamilia: Heteroderinae

Género: *Globodera*

Especie: (*Globodera rostochiensis*) y (*Globodera pallida*).

Entre los parásitos que atacan a la papa (*Solanum tuberosum* L.), los nematodos juegan un papel muy importante en muchos países. Setenta especies de nematodos han

sido señaladas en el cultivo de la papa (Karssen,. 1995). Sin embargo, los formadores de quistes, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens y *G. pallida* (Stone) Behrens, son considerados los más dañinos y afectan el rendimiento de este cultivo en la mayoría de las zonas paperas del mundo (Interciencia, 1993). Debido a la coloración amarilla de las hembras, *G. rostochiensis* es conocido también como el nematodo dorado de la papa.

Se considera que estos nematodos son originarios de los países andinos, especialmente Perú y Bolivia. Sin embargo, estudios recientes de ADN ribosomal, hacen pensar que el centro de origen sea más bien México (Franco,. 1989). Es importante señalar, que (*Globodera rostochiensis*) Woll, fue detectado por primera vez en Alemania en el año 1881 y descrito en 1923 por Wollenweber, a partir de una población colectada en Rostok. En 1973, Stone, observó la existencia de poblaciones del nematodo cuyas hembras no presentaban la coloración amarilla y, basándose en características morfométricas de los estados juveniles y la cromogénesis de las hembras, describió a estas poblaciones como *Heterodera* (= *Globodera*) *pallida*, nueva especie de nematodo quiste de la papa (Salguero, M., 2003). Posteriormente, los nematodos formadores de quistes fueron agrupados en seis géneros incluyendo en el género *Globodera*, a las especies con quistes esféricos como eran *G. rostochiensis* y *G. pallida*. Desde Alemania el nematodo se dispersó a los otros países europeos y a otros continentes, incluyendo América Latina, probablemente con el comercio de tubérculos de papa para semilla (Mugniery, D., 1978).

### 3.2.2 IDENTIFICACION

Aún cuando la coloración amarilla de las hembras indica claramente la presencia de *G. rostochiensis* (Woll.), la ausencia de hembras con esta coloración en las raíces no garantiza que se trate de *G. pallida* (Stone), a menos que se observe el desarrollo del nematodo a lo largo de su ciclo biológico. La preparación de los cortes perineales de los quistes, colectados en las raíces de la planta de papa, y el conteo de las estrías cuticulares presentes entre el ano y la vulva, constituyen una manera simple de diferenciar las dos especies. *G. rostochiensis* (Woll.) posee un promedio de 21.6 estrías (Stone, AR. 1973) y *G. pallida* (Stone) 12 (Stone, AR. 1973). A veces, el número promedio puede ser de 15, lo cual causa confusión; en este caso, si es necesario identificar la especie, se deben medir otros parámetros, especialmente de hembras, quistes y segundos estados



juveniles y hacer comparaciones con los valores reportados en la literatura (Cuadro 1). La identificación con técnicas modernas y sofisticadas como son las basadas en reacciones serológicas (Schots, A., 1987), punto isoelectrico (Jensen, A.J., 1979), separación de proteínas, enzimas y pruebas de ADN (19), también es posible.

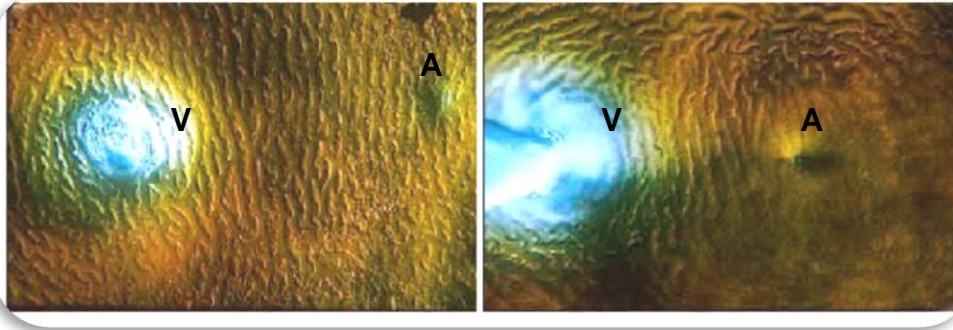
### 3.2.3 BIOLOGÍA

*Globodera rostochiensis* (Woll) y *Globodera pallida* (Stone) son nemátodos endoparasíticos sedentarios, que permanecen normalmente en el suelo por 5-6 años y a veces hasta por 20. Cada quiste joven contiene 200-500 huevos. Después de la siembra, las raíces de la planta huésped, papa en este caso, producen exudados radicales que estimulan la eclosión de los huevos, de los cuales emergen los juveniles de segundo estado. Estos miden entre 470 y 500  $\mu\text{m}$  de largo y entre 18 y 19  $\mu\text{m}$  de ancho. Al salir del huevo, siendo el único estado infectivo, migra hacia el ápice radical por donde penetra. Después de recorrer algunos milímetros de la raíz, el juvenil se detiene y continúa su desarrollo como sedentario, pasando por tres estados juveniles (segundo, tercero y cuarto) antes de lograr el estado adulto (Crozzoli, R. 1995).

En la familia Heteroderidae, a la cual pertenece el género *Globodera*, existe un dimorfismo sexual muy marcado. Mientras el segundo estado juvenil es móvil y vermiforme, el tercero y cuarto estado juvenil, así como las hembras adultas, son inmóviles y abultados. Las hembras son esféricas y miden 500-600  $\mu\text{m}$  de diámetro. El tamaño es afectado por el huésped y por el nivel poblacional del nematodo, siendo más pequeñas cuando la población es elevada o el huésped se encuentra fuertemente dañado. El macho adulto es móvil y vermiforme y mide aproximadamente 1200  $\mu\text{m}$  de largo y 28  $\mu\text{m}$  de ancho; sin embargo, a veces se encuentran ejemplares que miden un poco más de la mitad del largo normal. Su capacidad patogénica no ha sido demostrada.

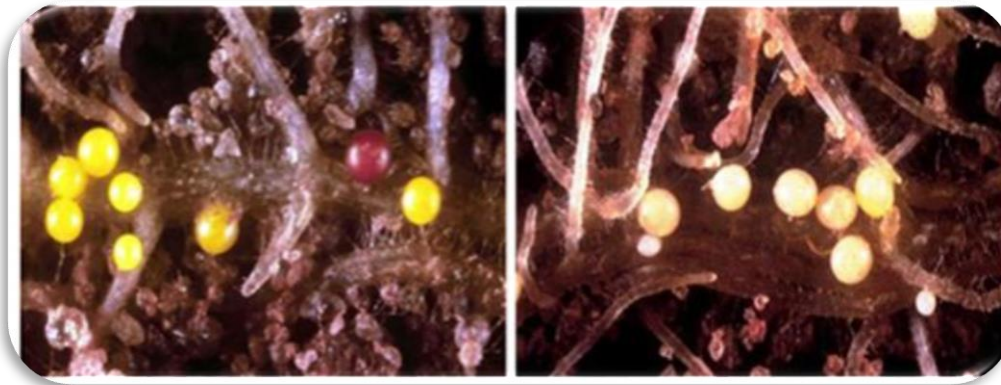
La hembra posee un aparato reproductivo muy desarrollado y después de ser fecundada produce gran cantidad de huevos (hasta 500) que retiene en el interior del cuerpo. Cada huevo mide aproximadamente 40 x 80  $\mu\text{m}$ . En *G. rostochiensis* (Woll.), la hembra adulta adquiere una coloración amarilla, luego se transforma en quiste. En comparación con la hembra madura, el quiste tiene una cutícula más gruesa y de color castaño oscuro para proteger los huevos contenidos. Los quistes no se alimentan y se

desprenden fácilmente de las raíces o de los tubérculos. Los huevos, al final del desarrollo embrionario, aproximadamente después de 2-3 semanas, contienen juveniles de segundo estado. En países de clima templado, al final del ciclo de la papa (otoño) la mayoría de los huevos permanecen en estado de latencia y eclosionan en la primavera siguiente (Interciencia. 1993, Crozzoli, R. 1995).



**FIGURA 7.** Cortes perineales de *G. rostochiensis* (izquierda) y *G. pallida* (derecha). Nótese el número de estrías entre la vulva (V) y el ano (A): más de 20 en *G. rostochiensis* y menos de 12 en *G. pallida*.

Fuente: Crop Protection Compendium (2006), United Kingdom. 2 CD.



**FIGURA 8.** Raíces de papa infectadas con Quistes de *Globodera rostochiensis* (izquierda), y *Globodera pallida* (derecha).

Fuente: Crop Protection Compendium (2006), United Kingdom. 2 CD.

**CUADRO No. 10. Principales características de identificación en *G. rostochiensis* y *G. pallida*.**

Característica	<i>G. rostochiensis</i>	<i>G. pallida</i>
<b>Hembra</b>		
Largo del estilete ( $\mu$ m)	22.9	27.4
Diámetro zona vulvar ( $\mu$ m)	22.4	24.8
Largo vulva ( $\mu$ m)	9.2	11.5
Número de estrías cuticulares entre el ano y la vulva	21.6	12.5
Coloración	amarillo	crema
<b>Quiste</b>		
Diámetro fenestra ( $\mu$ m)	18.8	24.5
Distancia ano-fenestra ( $\mu$ m)	66.5	49.9
<b>Relación Granek's</b>	3.6	2.1
<b>Juveniles de segundo estado</b>		
Largo del estilete ( $\mu$ m)	21.8	23.8
Forma de las protuberancias basales del estilete	redondeadas y apuntando hacia atrás	en forma de ancla apuntando hacia adelante
Distancia entre la valvula del bulbo medio y el poro excretor ( $\mu$ m)	31.3	39.9

Fuente: Schluter, K y Schots A.

El periodo de tiempo que el nemátodo necesita para cumplir una generación, desde la penetración del juvenil de segundo estado hasta la formación de quistes con huevos, es de 45-60 días, según las condiciones ambientales. Si se considera una temperatura de 10°C como la mínima a la cual el nematodo puede comenzar su desarrollo, puede cumplir una generación después de 400 grados-días. Las condiciones más favorables son una temperatura de 20-25°C y una humedad del suelo con pH de 2.6-4. Cuando las condiciones ambientales son desfavorables, como en casos de alta temperatura (28°C) y sequías, cuando la planta se aproxima al final del ciclo o bien las raíces están muy dañadas, las hembras se transforman temprano en quiste y el ciclo se acorta, mientras que, cuando la temperatura del suelo es menor de 20°C, se alarga. Estudios comparativos han demostrado que *Globoderapallida* (Stone) se desarrolla mejor que *Globoderarostochiensis* (Woll), a bajas temperaturas (Mugniery, D. 1978).

Generalmente ocurre una sola generación por cada ciclo de cultivo de la papa. Una segunda generación puede empezar, pero difícilmente es completada (Crozzoli, R. 1995). Algunas poblaciones de estos nematodos no atacan mucho a los tubérculos, mientras que otras infectan y se desarrollan muy bien sobre ellos, convirtiéndose, este medio de propagación, en un vehículo efectivo de diseminación del patógeno.

El nematodo *Globodera pallida* tienen un rango de huéspedes muy reducido. Además de la papa, que es el huésped más susceptible, afecta tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), berenjena (*Solanum melongena* L.) y alguna otra solanácea.

### 3.2.4 PATOGENICIDAD Y MAGNITUD DEL DAÑO

A nivel histológico el daño es representado por necrosis de las células de las raíces atravesadas por los juveniles de segundo estado. Cuando éstos se detienen en el lugar definitivo de alimentación, las células alrededor de la cabeza del nematodo sufren una profunda transformación, de 3 a 10 células alrededor de la cabeza de cada nematodo se funden, la pared celular engrosa, el citoplasma se torna denso y se origina el sincitio multinucleado de alta actividad metabólica, el cual es indispensable para la alimentación del nematodo. La formación del sincitio ocasiona una interrupción de los vasos cribosos y leñosos limitando notablemente la funcionalidad de las raíces. Debido a esto, las plantas de papa atacadas por el nematodo presentan crecimiento y rendimiento reducidos, la senectud se anticipa y, a veces, en suelos muy infestados, el follaje presenta un ligero amarillamiento. Las reducciones de rendimiento dependen del nivel poblacional del nematodo al momento de la siembra (CAB, UK. 2000).

La magnitud del daño ocasionado por estos patógenos también depende del patotipo. Seis de *G. pallida*: tres en Europa (Pa1, Pa2, Pa3) y tres en la zona andina (P4A, P5A, P6A).

La identificación de los patotipos se hace basándose en la tasa de reproducción de las distintas poblaciones en una serie estándar de clones de *Solanum* spp.

Métodos basados en separación de proteínas, enzimas y pruebas de ADN, hasta ahora, no han dado resultados satisfactorios. De todas formas, mientras la mayoría de los investigadores coinciden en señalar como patotipos Pa1, existen fuertes dudas en relación a considerar el resto como tales. Por lo tanto, muchos especialistas prefieren

hablar de poblaciones que se reproducen en uno u otro clon de *Solanum* sp con genes de resistencia a uno de los nematodos, antes que hablar de verdaderos patotipos (Franco, J., 1989).

### **3.2.5 DINAMICA POBLACIONAL Y DIFUSION DE LOS NEMATODOS**

En ausencia del cultivo de la papa, en zonas de clima templado, el nivel poblacional disminuye en un 50% cada año, mientras que en países con clima cálido, como Marruecos, puede ocurrir una reducción de casi 100% (Schluter, K. 1976). En países con clima cálido, la superficie del suelo, en el verano, se calienta mucho y los nematodos que se encuentran en los primeros 5-10 cm mueren naturalmente. Por lo tanto, araduras en esta época del año, reducen sensiblemente el nivel poblacional del parásito.

La época de siembra también afecta la dinámica de los nematodos. Generalmente las siembras de primavera son las que favorecen más su tasa de reproducción (población final/población inicial), alcanzando valores de 40-65 por cada ciclo de cultivo. En climas cálidos, las siembras de verano y las que se realizan hacia finales de otoño, ocasionan una menor tasa de reproducción (entre 8 y 9), reduciéndose, por lo tanto, el efecto negativo sobre el próximo ciclo de cultivo (Maza, M., 2002). Cuando la cosecha se realiza al final del ciclo biológico de la papa, todos los nematodos que han penetrado en las raíces alcanzan el estado de quiste, logrando un nivel poblacional muy alto. No ocurre así cuando se cosecha temprano la papa, de esta forma muchos nematodos se encuentran todavía en los estados juveniles y el nivel poblacional en el suelo permanece bajo.

El cultivo de papa juega un papel importante sobre la dinámica de *Globodera* spp. Se conocen cultivares susceptibles a ambas especies y cultivares resistentes o parcialmente resistentes a una sola de ellas, que afectan la tasa de reproducción de los nematodos. En presencia de cultivares resistentes los juveniles de segundo estado salen del quiste, penetran en las raíces, pero no se desarrollan. A veces, la reducción poblacional, utilizando un cultivar resistente, puede ser mayor que utilizando un cultivo no huésped o dejando el suelo en barbecho. El uso de cultivares resistentes ejerce una presión selectiva sobre el nematodo, debido al hecho que no existen cultivares resistentes a ambas especies o a todos los patotipos de la misma especie. Por otro lado, ambas especies o diferentes patotipos de ellas, pueden encontrarse en el mismo campo, de manera que el uso de un cultivar resistente puede reducir la incidencia de una especie o

patotipo, pero favorece el desarrollo de la otra especie o de otro patotipo. Se ha determinado que el uso continuo de un mismo cultivar resistente ocasiona la selección de patotipos que antes no eran importantes.

En un campo, el primer foco de infección se manifiesta en una pequeña área circular que luego se agranda hasta afectar toda la superficie. El nematodo, por acción propia, puede moverse 1-2 m/año; sin embargo, el movimiento pasivo es más rápido (Blanco, L. 2004).

El suelo adherido a los implementos agrícolas, zapatos y patas de los animales, puede contener quistes, favoreciendo la diseminación de los nematodos dentro de la misma unidad de producción o a otras unidades. Todo sistema de riego que favorezca la escorrentía del agua, así como las inundaciones pueden ser importantes. Sin embargo, el comercio de la papa, y especialmente los tubérculos utilizados como semilla, son la forma más eficaz de diseminar los quistes entre estados, países y continentes. La limpieza de la maquinaria agrícola, zapatos, uso de tubérculos-semilla sanos y medidas cuarentenarias son muy eficaces para evitar la diseminación de los nematodos (Blanco, L. 2004)

### 3.2.6 HOSPEDEROS

La papa (*Solanumtuberosum*) es el más importante hospedero del nemátodo dorado, aunque el tomate (*Lycopersiconesculentum*) y la berengena (*Solanummelonogena*) pueden ser afectados (Evans et al, 1993, CABI 2000). Otros hospederos en los cuales se puede encontrar el nemátodo incluyen (*Solanumsarachoides*), *S. dulcamara*, *S. rostratum*, *S. triflorum*, *S. elaeagnifolium*, *S. xantii*, *S. integrifolium*, algunas especies del género *Lycopersicon* y (*Daturastramonium*), (Evans et al, 1993; Spears, 1968; Stone, 1973). En estudios realizados sobre el rango de hospederos se han determinado alrededor de 90 especies de *Solanum* como potenciales hospederos del nemátodo dorado. (Spears, 1968, Smith et al, 1997) (Stone, AR. 1973).

El rango de hospederos del nematodo blanco está confinado a las solanáceas especialmente la papa (*Solanumtuberosum*), el tomate (*Lycopersiconesculentum*) y sus híbridos y la berengena (*Solanummelonogena*), (Luján, L. 1995).

### 3.2.7 *Globodera tabacum* (Lownsbery 1954) Behrens, 1975 (CAB, UK. 2006)

Nombre Común: Nematodo de quiste del tabaco.

#### 3.2.7.1 Taxonomía y Nomenclatura:

El nematodo *Globoderatabacum* fue descrito por Lownsbery, B.F y Lownsbery, J.W. en 1954 de las plantas solanáceas en Connecticut, EE.UU. Descrito originalmente en el género *Heterodera*, fue transferido al subgénero *Globodera* por Skarbilovich (1959) y a un género separado por Behrens (1975). Hay por lo menos otras 12 especies de *Globodera*, extendiéndose de los parásitos mundiales lo mejor posible conocidos de la papa, *G. rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 y *G. pallida* (Piedra, 1973) Behrens, 1975 (Cobb y Sastre, 1953) Behrens, 1975. El género *Globodera* consiste en la especie que se reproduce casi enteramente sobre las plantas solanáceas que han irradiado de América Central y de México, con solamente algunas especies de las plantas solanáceas conocidas para ser anfitriones en países del viejo mundo de, por ejemplo, el continente de África. Stone (1983) sugirió que *G. tabacum* (Lownsbery y Lownsbery, 1954) se debe considerar un complejo de la especie, para incluir *G. solanacearum* (Molinero y gris, 1972) y *G. virginiae* (Molinero y gris, 1968) como subespecie.

#### 3.2.7.2 Biología y Ecología:

El ciclo vital y la biología del *G.tabacum* es muy similar a los de los nematodos del quiste de la papa, aunque se han estudiado en menos detalle. Green y Molinero (1969) condujeron estudios en el hibridación interespecífica entre *G.rostochiensis*, *G. pallida* y todos los miembros del grupo de *G.tabacum*. Produjeron a la progenie F1 pero su viabilidad no fue probada. El cruce de *G.rostochiensis* con *G. pallida*, parece ser una hibridación más difícil a alcanzar, pero es posible (Molinero, 1983;Stone, 1983). En los años 70, *G.tabacum*, *G.virginiae* y *G.solanacearum* todavía eran considerados ser especies separadas pero los estudios demostraron que el entrecruzamiento de la especie redonda del quiste de los anfitriones a solanáceas era posible (Green y Plumb, 1970). Salude (1972) y Salude y Firth (1977) (CAB, UK. 2006).

### 3.2.7.3 Morfología de (*Globodera tabacum*)

#### Huevos:

Largo del huevo = 90-100  $\mu\text{m}$ , ancho del huevo = 40-50  $\mu\text{m}$ .

Los huevos se conservan en el cuerpo de la hembra. Después de la fertilización, la cutícula del cuerpo endurece y protege los huevos, los cuales permanecen "in-situ" hasta la estimulación para salir. Como con la mayoría de los nematodos del quiste, esto puede ser por algunos años. No se produce ningún saco del huevo (CAB, UK. 2006)

#### Juveniles (J2):

Largo = 500  $\mu\text{m}$  ( 410-527  $\mu\text{m}$  ); Ancho del cuerpo en el poro excretorio=24  $\mu\text{m}$  ( 22-24  $\mu\text{m}$ ); largo del estilete =22  $\mu\text{m}$  (19-24  $\mu\text{m}$  ); Base de estilete de la glándula del ducto =5  $\mu\text{m}$  ( 4.3-6.8  $\mu\text{m}$  ) ; (46-59  $\mu\text{m}$ ); Parte hialina de la cola =27  $\mu\text{m}$  ( 23-31 $\mu\text{m}$ ).

El segundo estado, de la primera muda a la segunda etapa que es terminada antes de salir. Hay tres vendas en el campo lateral. La cabeza se compensa y lleva 3-4 piezas anulares principales. El cono y el eje del estilete son iguales en longitud. Un tercio de la longitud de cuerpo es ocupado por las glándulas esofágicas, las cuáles traslapan la pieza anterior del intestino. El bulbo mediano es robusto, redondeado y aproximadamente mide 70  $\mu\text{m}$  de la extremidad principal. El poro excretorio mide cerca de 110  $\mu\text{m}$  de la extremidad principal. La cola mide finalmente el 50-58  $\mu\text{m}$  de largo. La porción hialina de la cola es generalmente mitad de la longitud de la cola (CAB, UK. 2006).

#### Hembra:

Largo del estilete = 23  $\mu\text{m}$  (8.5 -24  $\mu\text{m}$ ); Base de estilete al esófago dorsal de la glándula =5.5  $\mu\text{m}$  (3.8-8.0  $\mu\text{m}$ ); Número nudos de la cabeza = 4; Longitud de cuerpo = 464 (327-688  $\mu\text{m}$ ); Radio =1.5-2.0  $\mu\text{m}$  de Granek; largo de raja vulva r = 9  $\mu\text{m}$  (8-10  $\mu\text{m}$ ).

La hembra tiene una forma globosa primero al emerger de la raíz. La hembra es en esta etapa es blanca seguido por un amarillo a la fase de oro que dura hasta la formación del quiste marrón. La cabeza es pequeña y lleva cuatro piezas anulares. El poro excretorio está situado en la base del cuello y, los tubérculos se pueden ver a veces en esta región



(Mota y Eisenback, 1993a). La cutícula de medio del cuerpo se cubre con las marcas del zig-zag, el cambiar a los cantos paralelos en el área fenestral. La vulva se contiene dentro de un área de la cutícula de paredes delgadas, tiene un hueco de la circumfenestrata. La raja vulvar es de aproximadamente 9-10  $\mu\text{m}$  en longitud, cualquier lado por un arreglo creciente de tubérculos, los cuáles son anchos y discretos. El ano es distinto (CAB, UK. 2005).

### **Quiste:**

Longitud =550  $\mu\text{m}$  (337 -740  $\mu\text{m}$ ); máximo =500  $\mu\text{m}$  (232-645  $\mu\text{m}$ ); Longitud de la fenestra= 27  $\mu\text{m}$  (15-32  $\mu\text{m}$ ); Anchura de la fenestra=22  $\mu\text{m}$  (15-28  $\mu\text{m}$ ); Ano fenestral =35  $\mu\text{m}$ ; Longitud de la vulva al estilete=9-10  $\mu\text{m}$ ; Número de estrías=5-10 (< 14); Radio =1.5-2.0 de Granek.

El quiste es globoso y carece de un cono vulvar. La cutícula es fuerte y marrón oscura y los huevos se contienen dentro de ella. Una capa secundaria-cristalina está generalmente ausente. Estos caracteres, junto con el hueco de la circumfenestra del área vulvar dan el diagnóstico del género (CAB, UK. 2005).

### **Macho:**

Largo =1200  $\mu\text{m}$  (710-1355  $\mu\text{m}$ ); a=33;  $\mu\text{m}$ , estilete largo=26  $\mu\text{m}$  (24-27); base de estilete de la glándula = 4  $\mu\text{m}$  (2.0-3.6); largo de la espícula=34  $\mu\text{m}$  (26-34); largo de la cola =4.0  $\mu\text{m}$  (2.0-3.6).

Los machos son generalmente de 700-1300  $\mu\text{m}$  en longitud; la región posterior se tuerce con el 90° al resto del cuerpo. Hay cuatro líneas laterales en el mediados de-cuerpo, el enangostar a dos líneas laterales anteriores y posteriores. El campo lateral se extiende alrededor del término de la cola. La cabeza se compensa y tiene seis piezas anulares principales. El marco cefálico es robusto y esclerotizado pesadamente. El estilete es fuerte y las tres nódulos del estilete se desarrollan y se redondean bien, al inclinarse posterior. El bulbo mediano es elipsoidal y prominente, cerca de 95  $\mu\text{m}$  del extremo principal. El anillo del nervio es anterior localizado a la ensambladura del esófago y del

intestino, donde cerca el esófago. El poro excretorio es 160  $\mu\text{m}$  del extremo principal. Las glándulas esofágica traslapan el intestino ventro-lateral. La cola es corto circuito y no hay Bursa presente. Según Lownsbery y Lownsbery un fasmido se puede situar cerca del término de la cola. Las espículas son aproximadamente 34  $\mu\text{m}$  en longitud, el estado normal para *Globodera*.

Otras medidas se pueden encontrar en Lownsbery y Lownsbery (1954), Granek (1955), Green (1971), Molinero y Gray (1972), Hesling (1973, 1978), Mulvey (1973), Behrens (1975), Mulvey y Golden (1983), Othman et al. (1988), Baldwin y Mundo-Ocampo (1991), Molinero (1991), Mota y Eisenback (1993a, b, c). (CAB, UK. 2006).

### **3.2.8 Semejanzas a otras especies (CAB, UK. 2006)**

La especie de *Globodera* puede ser extremadamente difícil de diagnosticar y dentro de cada especie, la variación es común. En detalle, *G.tabacum* y el complejo de la papa las especies *G. rostochiensis* y *G. pallida* tiene muchas características morfológicas en el campo común que puede también traslaparse de tamaño (por ejemplo, color femenino, la longitud vulvar de la raja y la longitud de cuerpo juvenil) y el anfitrión similar se extiende. Es generalmente necesario que se vean detalles y valores más sutiles que el diagnostico, por ejemplo, Cociente de Granek, longitud del estilete y forma de los nódulos del estilete, y el patrón y el número de cantos cuticulares entre el ano y el hueco de la circunfenestra del quiste, el cuál puede ser circular, paralelo o laberinto como y es importante para el diagnostico de la especie.

La especie de *Globodera* se encuentra más comúnmente en Compositae también para tener características en campo común con los grupos del tabaco y de la papa, pero es suficientemente distinto para que sean distinguidos por las características morfológicas tales como una raja vulvar muy pequeña, como cuál aparece casi cuando está visto usando el SEM. Es generalmente innecesario recurrir a las técnicas tales como análisis bioquímico. En especie de Compositae, El cociente de Granek es generalmente muy pequeño, con un valor de 1 o menos.

### 3.2.9 MÉTODOS DE LA DETECCIÓN Y DE LA INSPECCIÓN

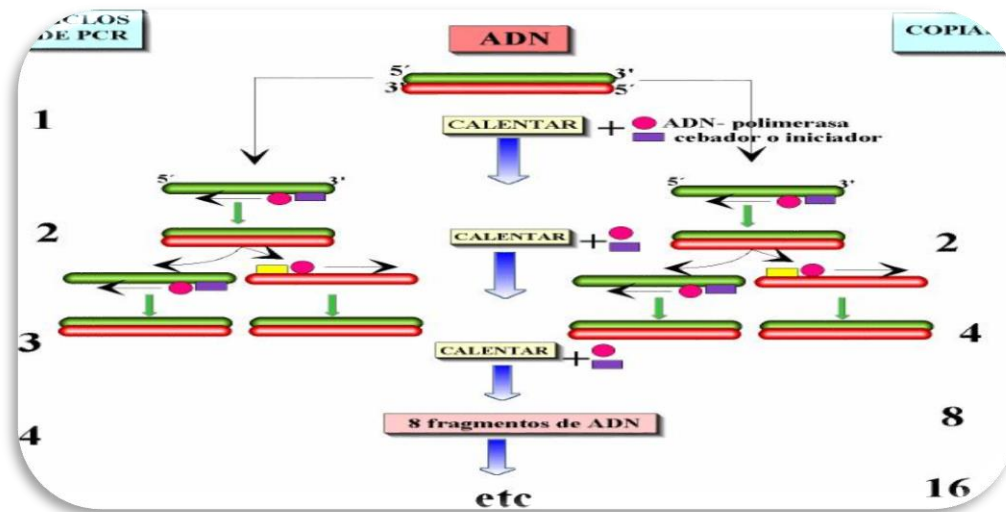
Hembras y quistes, son coloreados al amarillo y marrón oscuro, se ve normalmente al ojo desnudo en raíces infectadas de la planta, de 6 a 8 semanas después de haber sido establecido el cultivo (CAB, UK. 2005).

### 3.2.10 DIAGNOSTICO MOLECULAR, UTILIZANDO LA PRUEBA DE PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) (UD, PCR. 2006).

La prueba de PCR, es una técnica que permite duplicar un número ilimitado de veces un fragmento de ADN en un tubo de ensayo. Mediante esta técnica pueden generarse millones de moléculas idénticas, a partir de una molécula de ADN. Esto se puede conseguir en unas horas. La reacción es muy sencilla, necesita cantidades de ADN muy pequeñas y sólo se precisa un tubo de ensayo, algunos reactivos, una fuente de calor y unas pequeñas cadena de nucleótidos que actúan como cebadores.

La reacción es un proceso cíclico:

1. La molécula de ADN que va a copiarse se calienta para que se desnaturalice y se separe las dos hebras.
2. Cada una de las hebras es copiada por la ADN-polimerasa. (Se utiliza la ADN-polimerasa de una bacteria que vive en aguas termales, *Thermus aquaticus*, así la enzima puede trabajar a altas temperaturas).
3. Las cadenas recién formadas son separadas de nuevo por el calor y comienza otro nuevo ciclo de copias. Estos ciclos se repiten hasta que se obtiene el número de copias deseado.



**FIGURA 9.** Proceso de Prueba PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).

Fuente: [www.biotech.bioetica.org/clase2-3.htm](http://www.biotech.bioetica.org/clase2-3.htm), [www.arrakis.es/~ibrabida/vigpccr.html](http://www.arrakis.es/~ibrabida/vigpccr.html).

Los nematodos *Globoderarostochiensis* y *Globodera pallida* son morfológicamente muy parecidos, muchas de las técnicas bioquímicas, han sido desarrolladas para separar las dos especies Schots et al. (1992) fue capaz de diferenciar y cuantificar utilizando un conjunto de tres los anticuerpos monoclonales. Hubo, sin embargo, en la reactividad cruzada problemas entre los anticuerpos para las dos especies.

La técnica bioquímica de extracción del ADN, poderoso enfoque basado en los diagnósticos que consiste en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El uso de esta tecnología se basa en los cebos o Primer que son desarrollados, se unen a dos lugares de destino en cada hebra de ADN y replica una región específica del ADN. Los científicos han desarrollado pruebas de PCR para separar las dos especies de nematodos de quiste de la patata (por ejemplo, Fleming et al., 1993; Mulholland et al., 1996; Shields et al., 1996; Zouhar et al., 2000).

El Enfoque Isoeléctrico (IEF) ha demostrado ser lo suficientemente sensible como para identificar las muestras de los nematodos del quiste de la papa. Durante IEF, las proteínas son separadas en un gradiente de pH y se centra en la posición del gradiente (el punto isoelectrico), donde se convierten eléctricamente neutro. Cuatro especies de

proteínas específicas se encuentra, pl 5,9 y 8,7 y pl 5.7 y 6.9. Estas proteínas se pueden utilizar para identificar *G. rostochiensis rostochiensis* y *G. pallida* (Fleming y Marks, 1982; fallax et al., 1995). (EPPO. 2004).

### **3.3 MARCO REFERENCIAL**

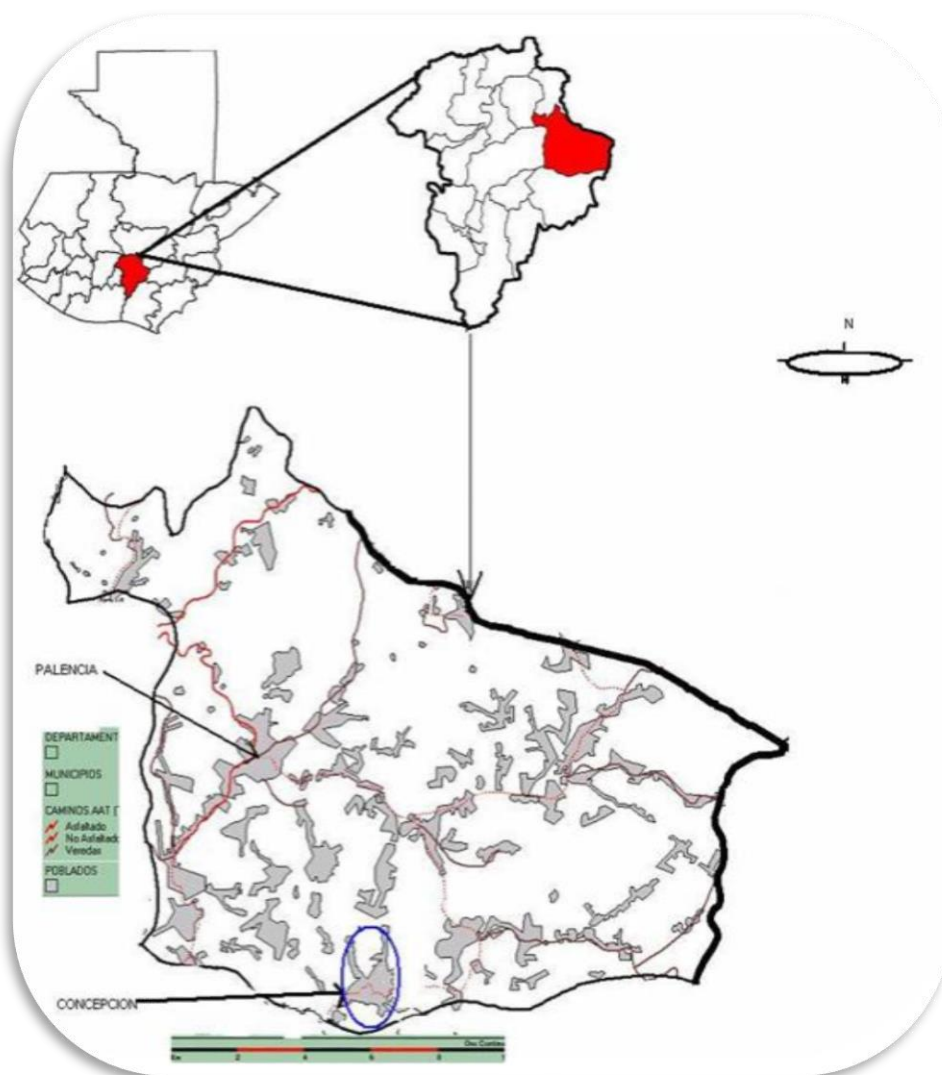
#### **3.3.1 Localización, extensión y accesos:**

El municipio de Palencia, pertenece al departamento de Guatemala. Está aproximadamente a una altura de 1,330 msnm, a una latitud norte de 14°40'00"y una longitud oeste de 90°21'30". Su extensión territorial es de 194 Km², su principal vía de acceso es la ruta al Atlántico (CA-9), a 31 Km. de la ciudad capital (IGN, GT., .1980).

Sus condiciones geográficas presentan la existencia de un relieve y topografía accidentada que corresponde a cordones montañosos del sistema de La Sierra Madre. Casi toda el área está completamente seccionada y caracterizada por pendientes y barrancos profundos sobre materiales volcánicos, con pendientes demasiado escarpadas y áreas de suelo casi plano o valles ondulados con erosión también en lugares (IGN, GT., 1980).

La aldea de Concepción de la cabecera por el camino de revestimiento suelto rumbo este-sureste son 8 Km. A la aldea Plan Grande. De allí por vereda al sureste hay 6 Km. la aldea Sanguayaba, ubicada al sur de río Vado Hondo y al este del río Aguacate. De ese lugar por rodera son 2 Km. el Canutillo y hacia el oeste 4 Km. la Concepción. Se encuentra a 2350 msnm. Con una latitud de 14°36'30", longitud 90°19'38"y con 338 habitantes y 53 viviendas. Por acuerdo gubernativo del 7 de Diciembre de 1887, la aldea que en esa época se llamaba Concepción Buena Vista se agrego del municipio de San José Pínula y se agrego a Palencia. A la fecha, no se ha localizado la disposición respectiva relacionada con el cambio de nombre. La Concepción cuenta con escuela rural mixta y tiene también caseríos (IGN, GT .1980).

## MUNICIPIO DE CONCEPCION, PALENCIA GUATEMALA



**Figura 10.** Mapa de la localización del municipio de Concepción, Palencia

Fuente: Base de datos mapas geográficos MAGA.

### 3.3.2 Zona de Vida

La zona de vida del municipio de Palencia, según De la Cruz (Cruz, S., 1982), es bh-S (t), bosque húmedo subtropical (templado).

### 3.3.3 Su Clima

El clima del Municipio de Palencia está calificado como (B'b'Bi), semi - cálido, con invierno benigno, húmedo con invierno seco (Cruz, S., 1982).

### 3.3.4 Suelos

Los suelos de Palencia según Simmons, (Simmons, C.,1959), son suelos poco profundos sobre materiales volcánicos débilmente cementados comprendidos dentro de la serie Pínula, con una pendiente del 12% y una altura de 2,100 msnm.

### 3.3.5 Estudios realizados sobre el nematodo de la papa

La semilla en el año 1965 fue obtenida de campos comerciales o importada. Sin embargo, en el año de 1966, el Ministerio de Agricultura prohibió la importación de la papa para evitar la introducción de Nematodos (Salguero, ML. 2003).

García , M. determino la presencia de quistes, en los departamentos de San Marcos, Totonicapán, Quetzaltenango, Chimaltenango y Sololá, determinando la presencia de los géneros *Globodera* y *Heterodera*, logrando identificar también las especies de *Punctodera punctata*, *Globodera virginal*, así de cómo *Globodera pallida*.( García, M. 1980).

En Venezuela, la superficie sembrada con papa sobrepasa las 15000 ha, siendo los estados Lara, Mérida, Táchira y Trujillo los mayores productores. No se conoce la superficie afectada por el nematodo. La presencia de *G.pallida* ha sido señalada, en Venezuela. Recientemente, investigadores locales, han detectado esta especie en los estados Táchira y Mérida. No se conoce la superficie que actualmente afecta. En un muestreo realizado en siembras de papa en los estados Lara, Trujillo y Mérida, se encontró que en el 90% de las muestras estaba presente *Globodera* sp, observándose las mayores poblaciones de quistes viables en Cubiro (Edo. Lara) y San Rafael de Mucuchies (Edo. Mérida), (CAB, UK. 2000).

En agosto de 2006- La Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria (ACIA) ha confirmado la detección de una plaga de papa, el nematodo dorado, en un campo de 30

acres en una granja en el Municipio regional de Lajemmerais, aproximadamente a 20 kilómetros al este de Montreal, Quebec. (Argenpapa.com.AR. 2007).

El nematodo del quiste de la papa (*Globodera pallida*) ha sido identificado sin duda por los científicos del Servicio de Investigación Agrícola (ARS) y colaboradores en un terreno en una instalación de procesamiento de papas en Idaho oriental. Esta es la primera vez que esta plaga -- ahora de gran preocupación en Europa -- ha sido encontrada en EE.UU. (USDA, US.2007).

La magnitud del daño ocasionado por estos patógenos también depende del patotipo. A nivel mundial han sido identificados seis de *G. pallida*: tres en Europa (Pa1, Pa2, Pa3) y tres en la zona andina (P4A, P5A, P6A). La identificación de los patotipos se hace basándose en la tasa de reproducción de las distintas poblaciones en una serie standard de clones de *Solanum spp.* (CAB, UK. 2000).



#### 4. OBJETIVOS

- 4.1.- Confirmar la presencia y distribución de la especie del nemátodo de quiste (*Globodera pallida*), en la Aldea de Concepción, Palencia, Guatemala.
- 4.2.- Establecer si existe la presencia de otro nemátodo, asociado al cultivo de papa.

## 5. HIPOTESIS

**5.1.-** El nemátodo de quiste que se encuentra en el área de Palencia, Aldea Concepción corresponde a la especie *Globodera pallida* y está distribuido en el punto georeferenciado, asociada al cultivo de la papa.

**5.2.-** El nemátodo de quiste que se encuentra en el área de Palencia, Aldea Concepción no corresponde a la especie *Globodera pallida* sino a otra especie del genero *Globodera* y no está distribuido en el punto georeferenciado, asociado al cultivo de la papa.

## 6. METODOLOGIA

### 6.1. Área de Producción:

El área de producción donde se realizó la investigación fue la Aldea Concepción del municipio de Palencia, en el punto localizado como se cita (Blanco, L. 2004) y codificado como Con-10 en donde ya existe información sobre la presencia de nematodos de quiste.

#### 6.1.2 Planificación del Muestreo

Se realizaron 4 visitas aleatoriamente en época de verano para Guatemala, a la Aldea Concepción, Palencia. A partir del punto localizado, según Blanco, Con-10, coordenadas en UTM (X=1616132, Y=787441,) (4), se muestreo el área georeferenciada y los terrenos aledaños, en donde se extrajeron las muestras de suelo, se identificaron y se les dio una codificación, para luego determinar la presencia del nematodo de quiste.

#### 6.1.3 Áreas de Muestreo:

A partir del punto georeferenciado se muestrearon los terrenos aledaños donde se ha cultivado papa durante los últimos cinco años.



**FIGURA 11.** Panorámica del área de estudio

Fuente: El Autor.

## 7. FASE DE CAMPO

### 7.1. Toma de Muestras:

Para la obtención de las muestras necesarias se tomó como base el punto de partida identificado como Con-10, coordenadas en UTM ( $X=1616132$ ,  $Y=787441$ ) (4), y según lo planificado se utilizó el método de radiaciones que comprendió que a partir de un punto de referencia ubicado, se realizaron caminamientos de forma vertical y horizontal y perpendiculares a estos, para lo cual establecer nuevos puntos de referencia a lo largo y ancho de todo el terreno y aledaños posibles a manera de cubrir toda el área. Las radiaciones contemplaron la forma circular por cada punto establecido.

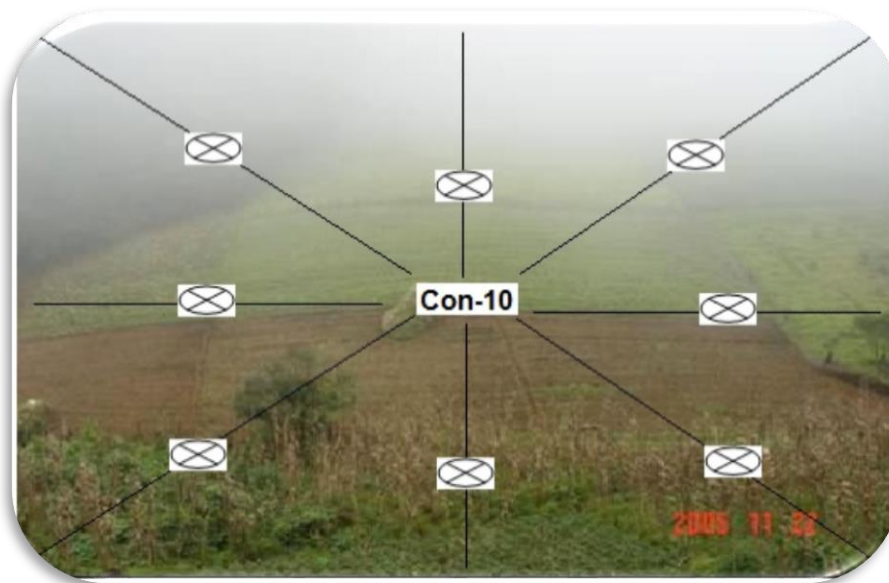


**FIGURA 12.** Toma de muestras y datos en el área de muestreo.

Fuente: El autor.

En cada punto de muestreo se extrajeron con un barreno 20 submuestras, distanciadas por cada punto a 20 mts. y la radiación, cada submuestra comprendida aproximadamente de 100 gr de suelo que fue extraída a una profundidad de 0.20 m. Estas submuestras fueron depositadas en cubetas plásticas en donde fueron homogenizadas hasta obtener la muestra representativa depositadas en bolsas de nylon e identificadas. El peso de cada muestra fue de 2 kg. Estos caminamientos se hicieron a medida de cubrir

toda el área reportada según Blanco (Blanco, L. 2004) con presencia de nematodos de quiste y terrenos aledaños, haciendo un total de 52 muestras y 52 puntos georeferenciados, Según Zukerman (Zuckerman, BM., 1981) de 20 a 100 puntos de muestreo de suelo pueden ser tomados en campos de cultivo de más de 2 hectáreas. Desde el punto georeferenciado y los terrenos aledaños se colectó un total de 104 kg. de suelo. Según Jones citado por Zukerman (Zuckerman, BM., 1981), al colectar 50 Kg. de suelo se tiene el 99% de oportunidad de encontrar uno o más quistes en el suelo.



**FIGURA 13.** Ubicación del terreno y punto de partida georeferenciado según Blanco como Con-10.

Fuente: El autor

## 7.2 Manejo de Muestras:

Para cada muestra recolectada se llevaron registros de georeferenciación de cada punto de muestreo con un GPS (Sistema de Posicionamiento Global) anotando las coordenadas en UTM, además se llevaron registros de: Referencia de Waypoint, No. De muestra, Departamento, Municipio y Aldea.



**FIGURA 14.** Obtención coordenadas con ayuda de un GPS.

Fuente: El autor.

En el Cuadro 11 se presenta los puntos de muestreo y la ubicación.

**CUADRO No. 11. Ubicación de las 52 unidades de muestreo.**

Punto waypoint.	No. Muestra	Departamento	Municipio	Código	Coordenadas UTM	
					Y	X
10	0 guia	Guatemala	Palencia	CON-10	787441	1616132
131	1	Guatemala	Palencia	Concepción	788132	1616046
132	2	Guatemala	Palencia	Concepción	787781	1615890
133	3	Guatemala	Palencia	Concepción	787796	1615885
134	4	Guatemala	Palencia	Concepción	787809	1615871
135	5	Guatemala	Palencia	Concepción	787792	1615853
136	6	Guatemala	Palencia	Concepción	787792	1615853
137	7	Guatemala	Palencia	Concepción	787791	1615841
138	8	Guatemala	Palencia	Concepción	787767	1615854

139	9	Guatemala	Palencia	Concepción	787769	1615864
140	10	Guatemala	Palencia	Concepción	787772	1615871
141	11	Guatemala	Palencia	Concepción	787773	1615880
142	12	Guatemala	Palencia	Concepción	787774	1615880
143	13	Guatemala	Palencia	Concepción	787827	1615928
144	14	Guatemala	Palencia	Concepción	787821	1615915
145	15	Guatemala	Palencia	Concepción	787819	1615909
146	16	Guatemala	Palencia	Concepción	787822	1615905
147	17	Guatemala	Palencia	Concepción	787834	1615899
148	18	Guatemala	Palencia	Concepción	787838	1615897
149	19	Guatemala	Palencia	Concepción	787846	1615894
150	20	Guatemala	Palencia	Concepción	787833	1615877
151	21	Guatemala	Palencia	Concepción	787827	1615880
152	22	Guatemala	Palencia	Concepción	787817	1615885
153	23	Guatemala	Palencia	Concepción	787813	1615889
154	24	Guatemala	Palencia	Concepción	787736	1615882
155	25	Guatemala	Palencia	Concepción	787740	1615878
156	26	Guatemala	Palencia	Concepción	787746	1615871
157	27	Guatemala	Palencia	Concepción	787753	1615868
158	28	Guatemala	Palencia	Concepción	787739	1615874
159	29	Guatemala	Palencia	Concepción	787738	1615876
160	30	Guatemala	Palencia	Concepción	787752	1615892
161	31	Guatemala	Palencia	Concepción	787753	1615893
162	32	Guatemala	Palencia	Concepción	787758	1615892
163	33	Guatemala	Palencia	Concepción	787750	1615899
164	34	Guatemala	Palencia	Concepción	787760	1615912
165	35	Guatemala	Palencia	Concepción	787761	1615925
166	36	Guatemala	Palencia	Concepción	787750	1615919
167	37	Guatemala	Palencia	Concepción	787743	1615918
168	38	Guatemala	Palencia	Concepción	787738	1615918

169	39	Guatemala	Palencia	Concepción	787726	1615911
170	40	Guatemala	Palencia	Concepción	787711	1615908
171	41	Guatemala	Palencia	Concepción	787756	1615924
172	42	Guatemala	Palencia	Concepción	787749	1615936
173	43	Guatemala	Palencia	Concepción	787767	1615931
174	44	Guatemala	Palencia	Concepción	787770	1615946
175	45	Guatemala	Palencia	Concepción	787773	1615956
176	46	Guatemala	Palencia	Concepción	787777	1615968
177	47	Guatemala	Palencia	Concepción	787778	1615974
179	49	Guatemala	Palencia	Concepción	787758	1615997
180	50	Guatemala	Palencia	Concepción	787748	1615996
181	51	Guatemala	Palencia	Concepción	787498	1615982
182	52	Guatemala	Palencia	Concepción	787502	1615974

Fuente: El Autor

## 8. FASE DE LABORATORIO

Todas las muestras se transportaron en bolsas plásticas hacia el laboratorio donde se pusieron a secar a la sombra y a temperatura ambiente por 8 días.



**FIGURA 15.** Secado de muestras de suelo en las instalaciones del Laboratorio Facultad de Agronomía USAC y el Laboratorio Diagnostico Fitosanitario UNR-MAGA Km 22. Bárcena Villa Nueva -Guatemala” del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, Guatemala.

Fuente: El Autor.



## 8.1 Extracción de Quistes:

Para la extracción y el aislamiento de los quistes se utilizó la técnica de Flotación, a través del método Fenwick, modificado con flotación en acetona. Este procedimiento se utilizó a partir de que todas las muestras ya estuvieran secas.

### 8.1.1. Método Fenwick modificado con Flotación en Acetona

La extracción de nematodos se realizó luego de deshidratar las muestras durante ocho días a la sombra a temperatura ambiente. El método utilizado fue el Fenwick con Flotación en Acetona mismo que utilizó Blanco (Blanco, L. 2004).

- Se utilizó un sistema Matraz de aproximadamente 9,100cc de capacidad, de lamina galvanizada, conformado por las siguientes partes: tamiz de 20 mesh, embudo galvanizado, un soporte para el embudo, matraz galvanizado, con rampa de reflote tamiz de 50 mesh.
- Haciendo uso de un beaker de 600 cc se tomó un volumen de agua de 300 cc, a este volumen se le agregó 300 gr de suelo de uno de los puntos de muestreo hasta el nivel del agua fuera 600 cc, con esto se analizó 300 cc de la muestra.
- Luego esta mezcla se vació dentro del tamiz de 20 mesh, en el cual se encontraba acoplado el embudo del sistema.
- Se hizo pasar una corriente a presión, para permitir el arrastre del suelo hacia el fondo del matraz, en el fondo se acumularon partículas de suelo más pesada y por la parte superior, la rampa del matraz, salió debido a su menor densidad materia orgánica del suelo.(M.O) y quistes, que se recolectaron en un tamiz de 50 mesh.
- Se colocó papel filtro dentro de un embudo plástico, luego haciendo uso de una pizeta con agua se juntó la mezcla de M.O. y quistes contenida dentro del tamiz de 50 mesh para luego ser depositada dentro del papel filtro.
- El material recolectado en el papel filtro se secó a temperatura ambiente y bajo la sombra por aproximadamente 12 horas. La muestra ya seca se vació dentro de un erlenmeyer de boca angosta de 125 ml.
- Se agregó acetona (grado industrial) hasta la mitad del erlenmeyer agitándose fuertemente, terminándose de llenar con acetona hasta la boca del recipiente.
- Se dejó reposar durante un periodo de 60 segundos.

- Toda la materia orgánica y quistes que floto en la orilla del erlenmeyer se colecto con un pincel, colocándose este material dentro de cápsulas de aluminio con agua identificadas debidamente.
- Se procedió a la observación y separación de quistes bajo el estereoscopio.

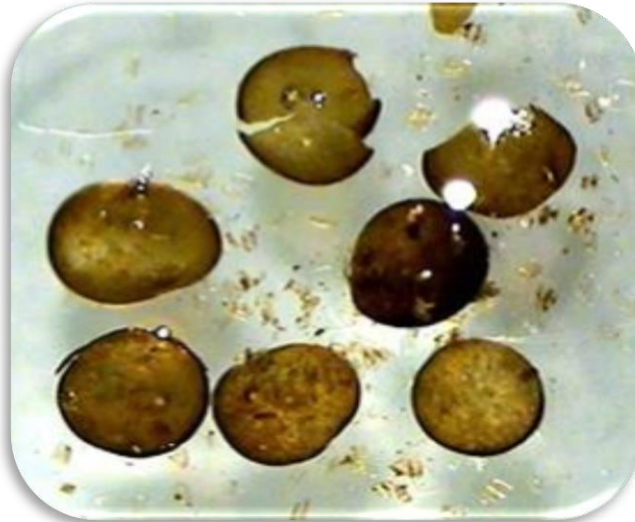


**Figura 16.** Procedimiento de extracción: Flotación de quistes a través del Método Fenwick, Modificado con Flotación en Acetona. a) Secado de muestras, cantidad a utilizar de suelo 300 gr. b) lavado del suelo en embudo –matraz y obtención de la cantidad de suelo lavado, c) Preparación de la acetona en erlenmeyer, d) flotación de los quistes, e) Extracción de los quistes para ser analizados, f) equipo utilizado para el análisis de quistes y determinación.

Fuente: El Autor

### 8.1.2. Preparación de Montajes de Fenestralias de Quistes:

Sobre una lamina porta objetos se colocaron los quistes en una gota de lactofenol claro, con hojas de afeitar se realizaron cortes perineales de los quistes conservando la mitad de la fenestra, con ayuda de las agujas de disección se limpio en interior de los cortes y se eliminaron los residuos de la parte interna (USAC, GT.2001).



**FIGURA 17.** Cortes perineales de los quistes

Fuente: El Autor.

Posteriormente se pasaron a otra gota de lactofenol claro ya limpios, luego fueron trasladados a otra gota de lactofenol claro colocándolos en una posición cóncava, se colocó el cubreobjetos para luego sellarlos con esmalte claro, con debida etiqueta de identificación.

### 8.1.3. Determinación:

Para determinar los géneros de quiste se tomaron 3 características importantes: forma del quiste, forma del cono vulval, y la constante de Granek's (distancia ano-fenestral / diámetro fenestra). Luego de haber extraído los quistes se observaron y se compararon las formas externas y cono vulval de los quistes con ayuda de los gráficos que se presentan en la clave de Tylenchida de Siddiqui, M. R. et al. (Siddiqui, MR. 1972).

#### 8.1.4. Mediciones

Para hacer las mediciones se tomaron los datos de diámetro de fenestra, y la distancia ano fenestral para obtener la constante de Granek's (medida en  $\mu\text{m}$ ).

Granek's =  $\frac{\text{Distancia ano fenestra } (\mu\text{m})}{\text{Diámetro de fenestra } (\mu\text{m})}$

$\mu\text{m}$ = micras

#### 8.1.5. Prueba de Patogenicidad

Para esta prueba se preparo un bio-ensayo donde se utilizo el suelo original de cada área muestreada y georeferenciada, con presencia del nematodo *Globodera sp*, y tubérculos de papa.

- Se extrajeron quistes de cada muestra de suelo con presencia positiva de *Globodera* de los lugares de origen para obtener la mayor cantidad de quistes y así conformar el inóculo inicial.
- Se utilizaron tubérculos de las variedades Loman y Atzimba ya germinados, luego se sembraron en recipientes de plástico transparente con el suelo de origen.
- Se colocaron por lo menos 15 quistes de la unidad de muestreo por debajo del tubérculo de la papa.
- Los recipientes se cubrieron con papel aluminio en su exterior para lograr una mejor proliferación de raíces y que la luz no las afectara en las paredes de los recipientes y observar si se desarrollaban mas quistes en las raíces.
- El bioensayo se realizo en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud, dentro del área de la unidad de Diagnostico Fitosanitario Unidad de Normas y Regulaciones –Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación ubicado en el Km. 22 carretera al Pacífico, Bárcena Villa Nueva- Guatemala.



**FIGURA 18.** Bioensayo para prueba de Patogenicidad desarrollado en las instalaciones del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario UNR-MAGA, Modulo 6.

Fuente: El autor.

- Durante 3 meses se observó el desarrollo de las raíces que crecían en las paredes de las macetas, con el fin de distinguir la presencia de quistes y los cambios de color. En caso de que trate de *G.pallida* se torna de color blanco y *G. rostochiensis* de color amarillo oro (EPPO, 2004).
- Las observaciones se hicieron a partir de que las plantas ya se encontraban en una etapa fenológica de floración, dando a lugar así a la presencia positiva de nematodos adheridos a la raíz, y reflejando una coloración amarilla en sus hojas y poco crecimiento.



**FIGURA 19.** La planta afectada por nematodos en la raíz presenta síntomas de amarillamiento, reflejados en las hojas después de 3 meses de sembrado el bioensayo.

Fuente: El autor.

- Se sacaron las plantas de las macetas al cumplir el periodo de 105 días y haciendo uso de un estereoscopio se revisaron las raíces de cada planta positiva a la adherencia de pocos quistes.



**FIGURA 20.** Adherencia de quistes obtenidos del bioensayo en las raíces de la planta de papa en vista al estereoscopio con lente 20X.

Fuente: El Autor.

- Nuevamente el suelo se procesó con el método de Fenwick con la finalidad de extraer los nuevos quistes.

#### **8.1.6. Determinación de la especie:**

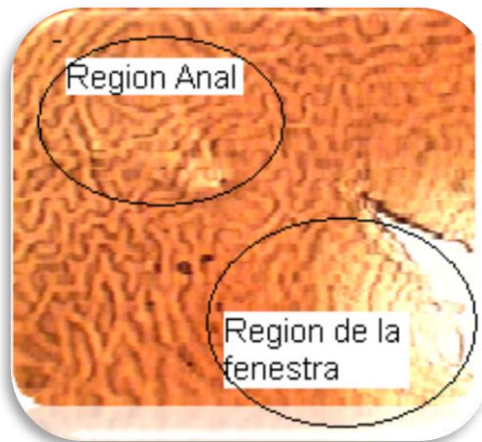
##### **8.1.6.1. Preparación de montajes de fenestralias de quistes del género *Globodera* sp.**

De cada muestra obtenida con presencia de quiste que reunieran las características del género *Globodera* se preparo montajes de fenestras, según la metodología que se describe a continuación.

- El quiste se colocó, en un portaobjeto, el cual contenía una gota de lactofenol claro.
- Con ayuda de una hoja de afeitar se realizó un corte a la mitad del quiste, conservando la mitad posterior del cuerpo.
- La parte posterior del cuerpo, fue colocada en una gota de agua oxigenada para limpiar la región interna, separando los huevos de los órganos internos, con la ayuda de agujas de disección finas, teniendo el cuidado de no rasgar la región bajo estudio.



- Se le realizaron varios cortes para eliminar el exceso de tejido circundante a la fenestra, donde quedaron visibles la fenestra, que se observa como un vacío con una circunferencia más clara y la región anal, se visualiza como una pequeña perforación con una proyección en forma de V, (Ver figura 16).
- Se colocaron sobre un portaobjetos limpio una gota de lactofenol claro, en el cual se transfirieron los cortes realizados, conteniendo aproximadamente 10 cortes. los montajes se sellaron, para su conservación y posteriormente realizar las mediciones correspondientes.
- En los casos, donde se encontraron fenestralias del género *Globodera*, se procede con la ayuda de un micrómetro a tomar los datos de diámetro de fenestra y de la distancia de ano-fenestra, para calcular la constante de Granek's, así como el numero de estrías.
- Se realizaron montajes de los quistes extraídos de las raíces obteniéndose valores morfometricos de distancia ano-fenestra, diámetro de fenestra, numero de estrías cuniculares y su relación de Granek's .Esto se hizo en observación al microscopio bajo aumentos de 10X, 20X y 40X.



**Figura 21.** Corte de región de quiste bajo estudio.

Fuente: El Autor.

- Con los datos obtenidos de la morfometría, se procede a compararlos con los datos de las tablas del cuadro de comparación. En este caso se utilizaron los

parámetros de la EPPO, por que el rango que establece abarcan los parámetros de los otros autores. (Ver cuadro No. 3).



**FIGURA 22.** Identificación de nematodos correspondientes al género *Globodera* sp obtenidos del bioensayo.

#### 8.1.6.2. Montaje de larvas estadio Juvenil (II).

Estos se obtuvieron de los quistes extraídos de las muestras a partir del bioensayo. Con la ayuda de un estereoscopio, se puede apreciar las características notorias de *Globodera*, forma y coloración del quiste. A continuación se describe la preparación de montajes de juveniles JII.

- Con el aumento del estereoscopio, se puede apreciar la presencia de la fenestra vulvar y el ano, cabe mencionar también que dentro de los quistes a partir del bioensayo también se encontró especies de *Punctodera* sp, que son muy semejantes en cuanto a la forma redondeada de los quistes, pero al momento de realizar los cortes perineales se pudo observar la fenestra anal y vulvar que es característica del genero *Globodera*.
- Al haber establecido que el quiste pertenece al género *Globodera*, se procedió a separar los tejidos del quiste, a manera de separar los huevos y las larvas J II.
- La mayor cantidad de los huevos del nematodo que se encontraban en el interior del quiste, se depositaron en una gota de formalina al 2 % en donde Las larvas quedaron expuestas para ser fijadas.



- Las larvas se colocaron en un portaobjetos cuidadosamente en una gota de lactofenol claro para luego dejar caer sobre ella un cubreobjetos, añadiendo una gota de esmalte en las esquinas se sello el montaje. Cada montaje contenía un número de 10 larvas con su número de registro de cada muestra.
- Se observó cada uno de los montajes realizados bajo el microscopio con ayuda de los objetivos 40X y 100X y con de un lente micrométrico se tomaron medidas de todas las larvas de muestras que mostraron presencia positiva al nematodo *Globodera sp.* Las medidas que se tomaron fueron las siguientes: largo del estilete, largo del cuerpo, largo de la parte hialina de la cola y largo de la cola para los estados juveniles (JII).
- Los parámetros utilizados para la determinación de las especies obtenidas fueron basadas a través del cuadro de comparación, tomando en cuenta los datos de la EPPO. Los cuales abarcan los rangos de las otras fuentes citadas.

#### **8.1.6.3. Cuadro de comparación de parámetros según varios autores.**

Los parámetros de medición utilizados para quistes y larvas se muestran en el cuadro 3, se utilizaron los datos de los cuadros de comparación de parámetros de medición según varios autores como la EPPO, CPC, CIH, Greco.

Por lo que en el caso de larvas solo utilizan dos parámetros los cuales son, largo del estilete y la forma del nódulo de la base.

Los parámetros a utilizar en este caso fueron los de la EPPO, debido a que los rangos de los parámetros de medición incluyen los rangos de las otras fuentes citadas. El cual recomienda 3 parámetros para quistes 2 aspectos para juveniles J II. Con los que determinan a la especie de *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*.

Las medidas obtenidas fueron comparadas con parámetros establecidos por diferentes autores estableciendo así que algunas medidas no encajaban con los rangos del comparador.

**Cuadro 12. Características diferenciales entre especies de *Globodera* sp, según varios autores.**

<i>Globodera rostochiensis</i>				
CARACTERÍSTICA	GR1 EPPO	GR 2 CPC	GR3 CIH	GR4 Greco
<b>Quiste</b>				
Diámetro fenestra $\mu\text{m}$	-----	$19.0 \pm 2.0$	$18.8 \pm 2$	18.8
Distancia ano-fenestra $\mu\text{m}$	37 - 77 (>55)	$66.5 \pm 10.3$	$66.5 \pm 10.3$	66.5
Relación Granek's	1.3 - 9.5 (>3)	$3.6 \pm 0.8$	$3.6 \pm 0.8$	3.6
Numero de estrías del ano a la base de la vulva	12 - 31 (> 14)	$21 \pm 3$	$21.6 \pm 3.5$	21.6
<b>Juveniles de segundo estado</b>				
Longitud del cuerpo $\mu\text{m}$	-----	$468 \pm 100$	$468 \pm 20$	
Largo del estilete $\mu\text{m}$	19 - 23 (22)	$22 \pm 0.7$	$21.8 \pm 0.7$	21.8
Forma de las protuberancias basales del estilete	R***	R	R	R
Longitud de la cola $\mu\text{m}$	-----	$44 \pm 12$	$43.9 \pm 11.6$	
Longitud del extremo hialino de la cola $\mu\text{m}$	-----	$26.5 \pm 2.0$	$26.5 \pm 1.8$	

<i>Globodera pallida</i>				
CARACTERÍSTICA	GP1 EPPO	GP2 CPC	GP3 CIH	GP4 Greco
<b>Quiste</b>				
Diámetro fenestra $\mu\text{m}$	-----	$24.5 \pm 5.0$	$24.5 \pm 5$	24.5
Distancia ano-fenestra $\mu\text{m}$	22 - 67(<50)	$50 \pm 13.4$	$49.9 \pm 13.4$	49.9
Relación Granek's	1.2 - 3.5 (< 3)	$2.2 \pm 1.0$	$2.1 \pm 0.9$	2.1
Numero de estrías del ano a la base de la vulva	8 - 20 (< 14)	$12.5 \pm 3.1$	$12.5 \pm 3.1$	12.5
<b>Juveniles de segundo estado</b>				
Longitud del cuerpo $\mu\text{m}$	-----	$486 \pm 2.8$	$486 \pm 23$	
Largo del estilete $\mu\text{m}$	22 - 24 (23.8)	$23.0 \pm 1.0$	$23.8 \pm 1.0$	23.8
Forma de las protuberancias basales del estilete	P **	P	P	P
Longitud de la cola $\mu\text{m}$	-----	$51.1 \pm 2.8$	$51.1 \pm 2.8$	
Longitud del extremo hialino de la cola $\mu\text{m}$	-----	$26.6 \pm 4.1$	$26.6 \pm 4.1$	

<i>Globodera tabacum</i> y <i>Globodera achilliae</i> y <i>G. artemisiae</i>					
CARACTERÍSTICA	GTAB 1 EPPO	GTAB 2 CPC	GACH 1 EPPO	GACH 5 Morgan	GART 1 EPPO
<b>Quiste</b>					
Diámetro fenestra $\mu\text{m}$		22 (15-28)		16 (12-18);	
Distancia ano-fenestra $\mu\text{m}$	28 - 85	35	22 - 34 (27)	27 (22-34);	25 - 42 (32)
Relación Granek's	1 - 4.2 (<2.8)	1.5-2.0.	1.3 - 1.9 (1.6)	1.6 (1.3 -1.9).	0.8 - 1.7 (1.0)
Numero de estrías del ano a la base de la vulva	10 - 14	5-10	4 - 5		5
<b>Juveniles de segundo estado</b>					
Longitud del cuerpo $\mu\text{m}$		500 (410-527)		492 (472-515);	
Largo del estilete $\mu\text{m}$	19 - 28 (23 - 24)	22 (19-4)		25 (24-25);	18 - 29 (23)
Forma de las protuberancias basales del estilete	P	P	R	R	
Longitud de la cola $\mu\text{m}$		52 (46-59)		55 (47-63)	
Longitud del extremo hialino de la cola $\mu\text{m}$		27 (23-31)		27 (20-32);	

Parámetros de comparación entre las diferentes especies de *Globodera*, tanto para larvas como para quistes, tomados de diferentes fuentes y utilizados como comparadores en la presente investigación

**Referencias:**

(1) EPPO, (2) CABI, (3) CIH, (4) Greco N. y Crozzoli R. y (5) MORGAN, G. A. and KLINDIC, O.

R\*Redondeados

### P\*\*Pontiagudos

- European and Mediterranean Plant Protection Organization Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/40(1) *Globodera rostochiensis* And *Globodera pallida*© 2004 OEPP/EPPO *EPPO Bulletin* 34, 155 -157  
[http://www.eppo.org/QUARANTINE/nematodes/Globodera\\_pallida/pm](http://www.eppo.org/QUARANTINE/nematodes/Globodera_pallida/pm)
- Carta et al., 2006; OEPP/EPPO, Diagnosis of Selected species of *Globodera* Behrens, 1975 modified from EPPO/OEEP, 2004
- CAB International (Commonwealth Agricultural Bureaux International, UK). 2005. Crop protection compendium [disco compacto]. United Kingdom. 2 CD.
- Commonwealth Institute of Helminthology, Descriptions of Plant Parasitic Nematodes 1972.
- Greco N. y Crozzoli R. NEMATODOS DEL QUISTE DE LA PAPA, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*: ASPECTOS GENERALES. <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/v082/082f010.html>.
- MORGAN, G. A. and KLINDIC, O. *Heterodera achilleae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Yarrow in Yugoslavia. *Journal of Nematology*, Vol 5, No. 3, July 1973

Cabe mencionar que las muestras extraídas del lugar de origen Concepción, Palencia presentaron una poca densidad poblacional en cuanto a quistes obtenidos, y que el clima de la región permanece con bajas temperaturas en las dos estaciones del año, invierno y verano.

Debido a la contrariedad a medidas morfométricas obtenidas hubieron datos que si encajaron a las especies de *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* pero otros no encajaron a los datos de los cuadros que se utilizados como comparadores.

Por ello se enviaron ocho muestras positivas al género *Globodera*, procedentes del bioensayo al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### 8.1.6.4. Análisis Molecular mediante la prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa-PCR- Proceso Convencional:

Se tomaron los quistes adheridos a las raíces de las plantas de papa, se colocaron en microtubos eppendorf de 0.5 microlitros en una solución de Cloruro de Sodio al 1 Molar. Las muestras fueron enviadas al laboratorio, para reconfirmar la especie por medio de análisis molecular de PCR.



**Figura 23.** Muestras de nematodos de quiste depositadas en tubos eppendorf enviadas al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía para análisis PCR-Método Convencional.

El proceso de PCR por sus siglas en inglés (**P**olymerase **C**hain **R**eaction), es una técnica de Biología Molecular, descrita en 1985 por Kary Mullís, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento (Unidad Didáctica, ES. 2001).

El análisis molecular se realizó con cebadores o Primer`s específicos para cada uno de las dos especies de nematodos que se estaban identificando en este caso *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis*. Para correr estas pruebas se utilizó un control positivo para cada una de las especies. Se realizó la extracción del ADN de las muestras, luego se agregó los cebadores, la Taq polimerasa, Cloruro de magnesio, agua de grado molecular, dNTPs, y se introdujo en el termociclador. El producto amplificado se observó en geles de agarosa, donde se comparó las bandas de las muestras con las bandas de los controles positivos y se determinó cuántos pares de bases (pb) tenía el producto comparando con un patrón de peso molecular con escala de 100 a 1000 pb. (Li, W. 2009, Porras, F. 2008).

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 9.1 Fase de campo

La aldea de Concepción que pertenece al municipio de Palencia, es una zona dedicada a la producción de hortalizas, según el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación es el tercer municipio con mayor producción de la región central. A partir del punto georeferenciado como lo cita Blanco, se recolectaron 52 muestras procedentes del lugar georeferenciado y los terrenos aledaños de dicha aldea. Se obtuvo 1 muestra por cada terreno muestreado. También se obtuvieron las coordenadas de los puntos muestreados, la procedencia y ploteo de donde se obtuvo la presencia de los nemátodos en estudio.

El número de muestras se determinó que era conveniente sacar 1 muestra de todas las áreas de cultivo reportada por cada dueño de los terrenos, utilizando el método de radiación anteriormente descrito. El objetivo del método comprendió la obtención del mayor número de muestras a partir del punto georeferenciado y sus terrenos aledaños y así establecer la distribución y presencia de los nematodos investigados.

### 9.2 Fase de laboratorio

Luego del procesamiento de las muestras se estableció que de las 52; ocho son positivas a quistes del género *Globoderay* 44 son positivas a quistes de otro género, el que más se reportó fue *Punctodera sp.* Las muestras positivas a *Globodera sp.* fueron la No. 1, 5, 6, 8, 11, 12, 17, 27.

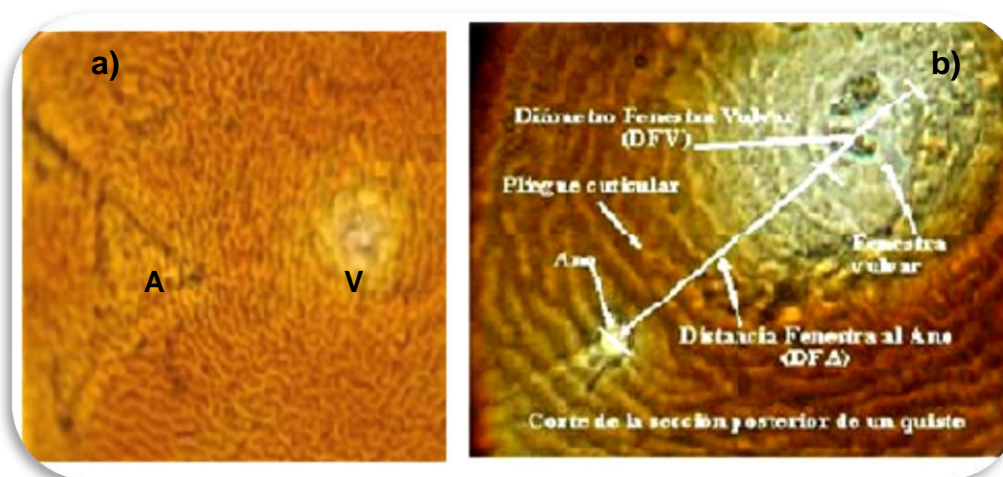
Los quistes obtenidos presentaron una forma esferoidal con una pequeña proyección cefálica sin cono terminal. La cutícula posee un patrón de encaje, siendo gruesa y de color marrón. Estas características encontradas son propias del género *Globodera*.



**FIGURA 24.** Nematodos de quiste encontrados en el punto de muestreo Con-10 y terrenos aledaños. Aldea Concepción, Palencia, Guatemala. a),b): *Globodera* sp;c),d): Otros géneros.

**Fuente:** El Autor.

Así mismo, los patrones perineales de los quistes obtenidos corresponden al género *Globodera* ya que presentan unas proyecciones en forma de “V” en la cutícula en la región anal (Figura 20).



**FIGURA 25.** a) Patrón perineal de la fenestralia de los quistes encontrados en comparación con el patrón del género *Globodera* sp (b). A (ano), V (vulva).

**Fuente:** El Autor

Con las mediciones de los quistes se calculó la relación de Granek's, obteniéndose los valores indicados en el Cuadro No. 13.

**CUADRO No. 13** Relación de Granek's (promedio) obtenida de patrones perineales de quistes de las muestras positivas al género *Globodera* encontrado:

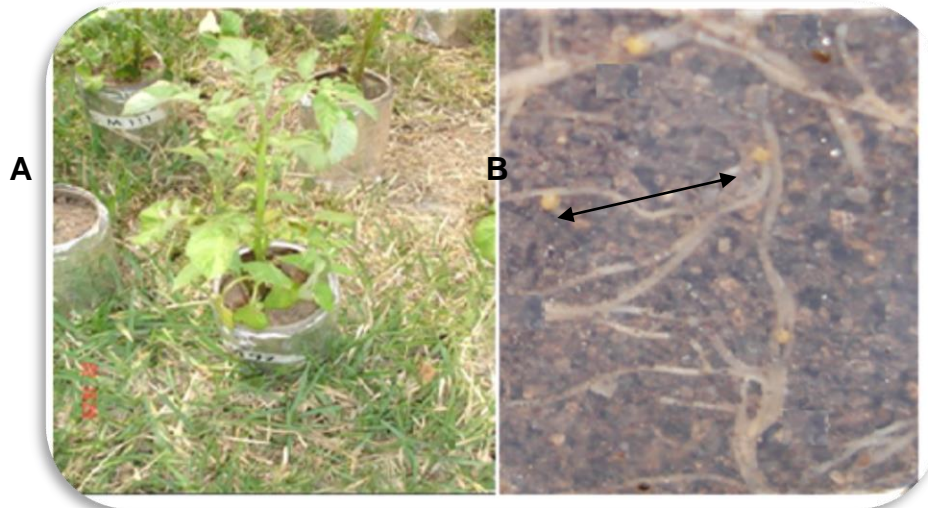
			ANO FENE $\mu\text{m}$	DIAM. FENE $\mu\text{m}$	GRANEK-S $\mu\text{m}$	#ESTRIAS
No.Muestra	Municipio	Aldea				
1	Palencia	Concepción	61	16.8	3	18.6
5	Palencia	Concepción	70.43	20.63	3.5	12.37
6	Palencia	Concepción	64.8	14.5	4.46	14.4
8	Palencia	Concepción	65	16.87	3.85	14.85
11	Palencia	Concepción	55	17.5	3.14	15.8
12	Palencia	Concepción	70	16.6	3.63	15.5
17	Palencia	Concepción	72	16.5	4.36	15.3
27	Palencia	Concepción	65	17	3.07	14.1
		PROMEDIO	65.40375	17.05	3.62625	13.74

**Nota:** se utilizó un lente micrométrico con calibración de 2.5  $\mu\text{m}$  en 40x.

Fuente: El Autor.

### 9.3. Prueba de Patogenicidad

Las plantas afectadas presentaron amarillamiento y poco crecimiento. Se observó presencia de quistes, marrones y globosos, adheridos a las raíces en sus dos repeticiones. La densidad poblacional más alta se presentó en la muestra 5, con una densidad de 20 quistes en 300 cc de suelo, las demás muestras presentaron densidad baja.



**FIGURA 26.** Estudio de Patogenicidad. **A** (plántulas afectadas a los 105 días con síntomas de amarillamiento), **B** (quistes en las raíces).

Fuente: El Autor.

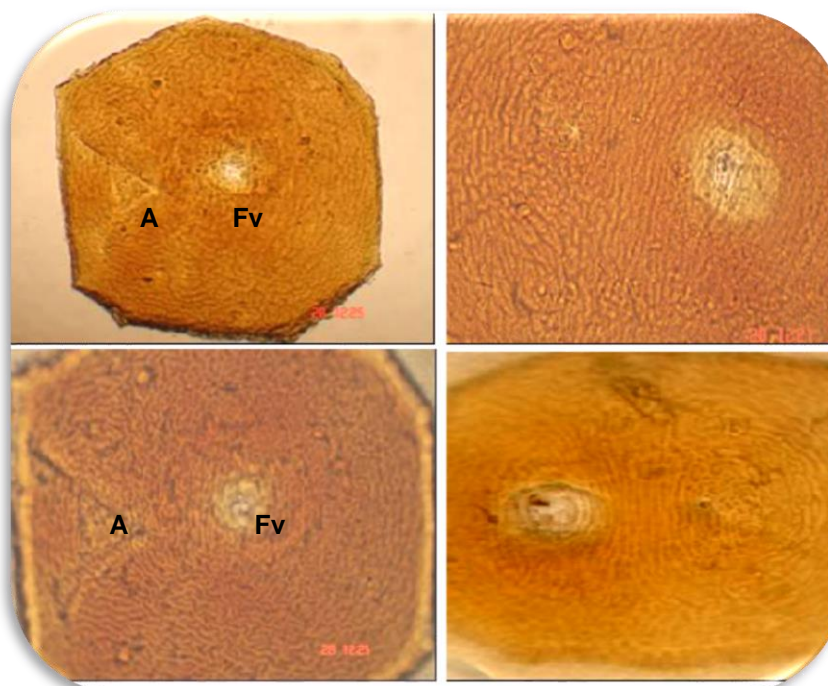




**FIGURA 27.** Quistes encontrados en raíces en el estudio de patogenicidad, adheridos a las raíces.  
**Fuente:** El Autor.

### 9.3.1. Cortes Perineales de los quistes obtenidos del Bioensayo

Los quistes adheridos a las raíces de las plantas del bioensayo presentaban regiones anales con proyecciones de la cutícula en forma de “V” con diferentes distancias entre el área anal y la fenestra vulvar (Ver Figura 28).



**FIGURA 28.** Patrones perineales de fenestralias de *Globodera* obtenidos del bio-ensayo de patogenicidad, unidades de muestreo a partir de Con – 10. Fv: Fenestra vulvar; A: Ano.

**Fuente:** El Autor



### 9.3.2. Segundos estados juveniles

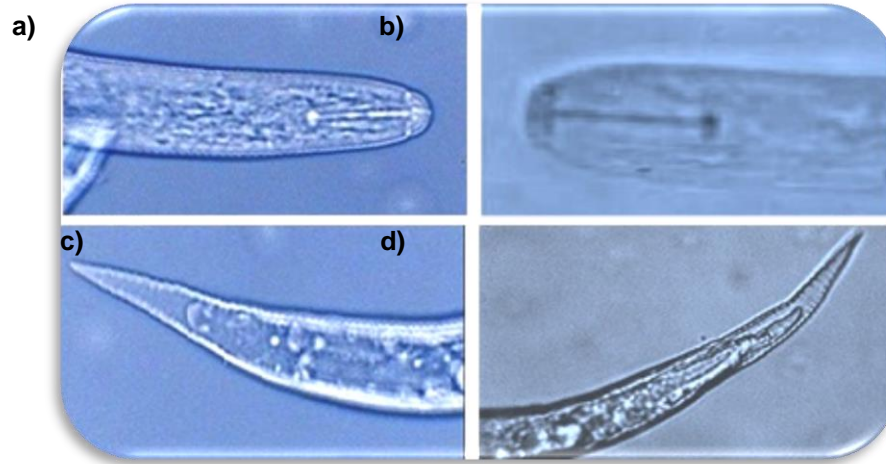
Los especímenes en el segundo estadio juvenil (JII) colectados de las muestras patógenas positivas presentaban las siguientes medidas promedio: largo del estilete 22.05  $\mu\text{m}$ , longitud del cuerpo 316.3  $\mu\text{m}$ , largo de la cola 49.43  $\mu\text{m}$  y longitud de la parte hialina 25.1  $\mu\text{m}$ .



**FIGURA 29.** Segundo estado juvenil obtenido a partir del estudio de patogenicidad.

**Fuente:** El Autor.

Se observó una proyección en forma de ancla en los nódulos del estilete y en algunas larvas una proyección redonda, dirigidos hacia la cabeza del nematodo (Ver Figura 30). Esta es una característica distintiva de la especie ***Globodera pallida*** y ***Globodera rostochiensis*** (Stone, AR. 1973). La cola de estos estados juveniles presentó una reducción uniforme terminando en una punta finamente redondeada; también se observó una regular anulación cuticular.



**FIGURA 30.** Nematodos de *Globodera* en el segundo estadio juvenil obtenidos a partir del estudio de patogenicidad del área de muestreo, **a)** Nódulos del estilete de forma redonda, **b)** Nódulos del estilete en forma puntiaguda o ancla, **c y d)** Parte de la cola en forma anillada

**Fuente:** El Autor

#### 9.4. Resultados morfo-métricos

Los datos obtenidos de las mediciones de los quistes y de los estados larvarios obtenidos del bioensayo se muestran en el Cuadro 5. Las medidas promedio fueron: distancia ano fenestra 65.4  $\mu\text{m}$  y fenestra 17.1  $\mu\text{m}$ . La constante de Granek's en promedio fue de 3.62  $\mu\text{m}$ . El número promedio de estrías entre la fenestra y la ano fenestra fue de 14.99. El largo del cuerpo corresponde a 421  $\mu\text{m}$ , estilete 22.05  $\mu\text{m}$ , forma de nódulos redondo y en forma de ancla o puntiagudos, largo de la cola 49.43  $\mu\text{m}$  y largo de parte hialina de 25.1  $\mu\text{m}$ .

Las medidas obtenidas fueron comparadas con los parámetros de la EPOO, observándose que si estaban dentro de los rangos correspondientes a *Globodera pallida* y a *Globodera rostochiensis*.

**CUADRO No. 14.** Relación de Granek's de patrones perineales de quiste, obtenidos del estudio de patogenicidad, Concepción – 10, Palencia, Guatemala.

RESULTADOS MORFOMETRICOS HQP, CONCEPCION PALENCIA						Lente micrometrico 40X-----				40X	Lente micrometrico 100X-----					
No.Muestra	Departamento	Municipio	Aldea	Coord. UTM.		AÑO FENE	□ FENE	GRANEK'S	# ESTRIAS	L CUERPO	L ESTILETE	FORMA NODULOS	L COLA	L HIA	Positivo en quistes	Positivo en larvas
				X	Y											
1	Guatemala	Palencia	Concepcion	788132	1616046	61	16.8	3	18.6	430	22.68	r	51.14	25.3		Globodera rostochiensis
5	Guatemala	Palencia	Concepcion	787792	1615853	70.43	20.63	3.5	12.37	410	21	r	48.3	25.2	Globodera pallida	
6	Guatemala	Palencia	Concepcion	707792	1615053	64.8	14.5	4.46	14.4	425	21.74	r	49.25	24.2		Globodera rostochiensis
8	Guatemala	Palencia	Concepcion	787767	1615854	65	16.87	3.85	3.85	412.5	22.57	r	48.3	24.3	Globodera pallida	Globodera rostochiensis
11	Guatemala	Palencia	Concepcion	787773	1615880	55	17.5	3.14	15.8	412.5	22.05	r	47.25	26.3	Globodera pallida	
12	Guatemala	Palencia	Concepcion	787774	1615880	70	16.6	3.63	15.5	432.5	22.89	r	51.45	24.6	Globodera rostochiensis	Globodera rostochiensis
17	Guatemala	Palencia	Concepcion	787834	1615899	72	16.5	4.36	15.3	415	22.5	r	49.35	24.9		Globodera rostochiensis
27	Guatemala	Palencia	Concepcion	787753	1615868	65	17	3.07	14.1	432.2	21	r	50.4	26		Globodera rostochiensis
factor micrometrico para lente 40X = 2,5						factor micrometrico para lente 100X = 1,05										

**Fuente:** El Autor

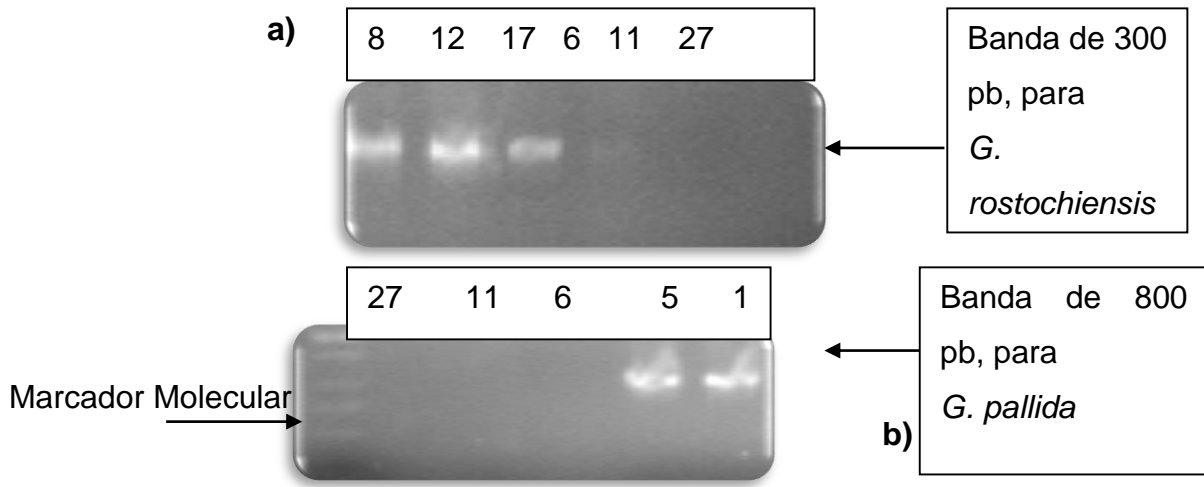
**Nota:** se utilizó un lente micrométrico con calibración de 2.5 µm en 40x

### 9.5. Análisis Reacción en Cadena de la Polimerasa-PCR Método Convencional.

Los quistes obtenidos del bioensayo que dieron como resultado positivo, fueron sometidos a una prueba de PCR para confirmar si se trataba de quistes de la especie *Globodera rostochiensis* o de la especie *Globodera pallida*. Esto fue complemento de los análisis morfométricos realizados. De las 8 muestras sometidas a la prueba de PCR, dos resultaron positivas a (*Globodera pallida*), tres resultaron positivas a (*Globodera rostochiensis*) y tres fueron negativas a ambas especies (Ver Cuadro 15), por lo que se asume de que podría tratarse de otras especies que son parasíticas al cultivo de la papa.

Sin embargo, no fue posible identificar de cuales se trataba ya que los cebadores utilizados no reaccionan con ADN de otras especies. Se amplificaron productos de 300 pb (pares de bases) para *G. rostochiensis* y productos de 800 pb para *G. pallida*. Confirmándose así la presencia de ambas especies (Figura 31).

### Amplificación Prueba de PCR



**FIGURA 31.** Bandas obtenidas después de la prueba de PCR- Convencional,  
**a)** Bandas para *Globodera rostochiensis* del área de estudio **b)** Bandas *Globodera pallida* del área de estudio, en gel de agarosa.

**Fuente:** Laboratorio de Biotecnología de la FAUSAC.

Pb= pares de bases

### CUADRO No. 15. Resultados del Análisis Molecular PCR

No. Muestra	Departamento	Municipio	Código	Coordenadas	UTM	Resultado
1	Guatemala	Palencia	Concepción	788132	1616046	<i>Globodera pallida</i>
5	Guatemala	Palencia	Concepción	787792	1615853	<i>Globodera pallida</i>
6	Guatemala	Palencia	Concepción	787792	1615853	Negativo a ambas especies
8	Guatemala	Palencia	Concepción	787767	1615854	<i>Globodera rostochiensis</i>
11	Guatemala	Palencia	Concepción	787773	1615880	Negativo a ambas especies
12	Guatemala	Palencia	Concepción	787774	1615880	<i>Globodera rostochiensis</i>
17	Guatemala	Palencia	Concepción	787834	1615899	<i>Globodera rostochiensis</i>
27	Guatemala	Palencia	Concepción	787753	1615868	Negativa a ambas especies

**Fuente:** El Autor

A partir del muestreo realizado por el método de radiaciones, se obtuvieron 52 muestras representativas del punto georeferenciado y de sus áreas aledañas, de las cuales 8 resultaron positivas a nematodos de quiste del género *Globodera*. Se determinó que estas

muestras eran positivas debido a que los quistes encontrados presentaban características morfológicas que coinciden con las descritas por Skarbilovich, 1959 (Luc, .1988).

Los quistes colectados sirvieron para realizar un estudio de patogenicidad, con el cual se confirmó que las ocho unidades de muestreo positivas de Concepción desarrollaron quistes adheridos a las raíces, con lo que se tiene un resultado positivo de patogenicidad en planta de papa var. Loman y Atzimba. El estudio reveló un aumento en la población de quistes encontrados en el suelo: 20 quistes / 300 cc. de suelo en cada repetición; es decir que de una población inicial de 12 quistes esta aumento aunque en poca densidad. Cabe mencionar que la incidencia poblacional de los quistes influye mucho en el daño que le provoca a la planta por tal motivo para este estudio el daño no era tan significativo, por la poca población que existió en el área. Sin embargo, las plantas mostraron un leve amarillamiento y poco desarrollo vegetativo, síntomas reportados con anterioridad por la CABI (CABI, .UK. 2000).

Durante la fase de campo, se pudo constatar que los agricultores de la región han observado una disminución en los rendimientos del cultivo, teniendo que trasladar sus áreas de siembra acostumbradas hacia nuevos terrenos o bien tratar de implementar otros cultivos, lo que confirma el daño observado en el estudio de patogenicidad.

Del estudio de patogenicidad se recuperaron segundos estadios juveniles, estos se procesaron para obtener montajes permanentes y hacer las mediciones de las larvas. Los valores promedio de: largo del cuerpo, largo del estilete, largo de la cola, y largo de la parte hialina de la cola, se encuentran dentro del rango de valores que Stone brinda sobre una población tipo de (*Globodera pallida*) y de (*Globodea rostochiensis*).

Teniendo varios factores evaluados positivos, tales como: la prueba de patogenicidad positiva; la relación de Granek's de los patrones perineales de los quistes obtenidos del estudio de patogenicidad similares a los datos que Schots (1987) y Schulten (1976), así como el número de estrías cuticulares; aumento del inoculo inicial en el estudio de patogenicidad (de 12 a 20 quistes); nódulos basales del estilete en el segundo estadio

juvenil con una proyección en forma de ancla dirigidas sus puntas hacia la cabeza del nematodo y nódulos basales en forma redonda; valores de largo del estilete y longitud de cuerpo dentro del rango de una población tipo de *Globodera pallida*; y una última prueba realizada en el laboratorio de Biotecnología de la FAUSAC, mediante a la prueba de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) donde se detectó el ADN de los quistes y se confirmó que 2 muestras eran positivas a *Globodera pallida*, 3 muestras positivas a *Globodera rostochiensis* y 3 muestras no presentaron ninguna de las bandas de las dos especies; con esta información se puede concluir que los quistes encontrados en el área de muestreo, Concepción, del municipio de Palencia son pertenecientes al nematodo blanco de la papa (*Globodera pallida*) y al nematodo dorado (*Globodera rostochiensis*).

En la investigación de García (1980), realizada sobre los nematodos de quiste presentes en Guatemala, en las regiones de San Marcos, Totonicapán, Quetzaltenango, Chimaltenango y Sololá, determinó la presencia de nematodos de quiste en esas regiones pertenecientes a los géneros *Globodera* y *Heterodera*, siendo el primero de estos el que presento mayor población; también se lograron identificar los géneros *Punctodera punctata*, *Globodera virginiae*, así como *Globodera pallida*.

En investigaciones efectuadas en diversos países, se ha evidenciado que *Globodera pallida* es menos frecuente que *Globodera rostochiensis*. En Holanda, *Globodera pallida* está presente en el 20% de los terrenos infestados; en Noruega en un 5% y en el Reino Unido en un 50%. Esta situación se revierte en algunos países de América Latina, en Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia y Venezuela, la distribución de *Globodera pallida* es mayor que la de *Globodera rostochiensis*. En Chile, la distribución geográfica de *Globodera pallida* está restringida a sólo una región del país (Schluter, K. 1976). Como ya se mencionó, en el presente estudio se encontraron ambas especies.

Con relación a las pérdidas ocasionadas por *G. pallida* patotipo 3 (Pa3), experimentos efectuados en microparcels en Italia han evidenciado un límite de tolerancia de 1.7 huevos y larvas/g de suelo. A nivel mundial han sido identificados seis patotipos de *Globodera pallida*: tres en Europa (Pa1, Pa2 y Pa3) y tres en la zona andina

(P4A, P5A y P6A), siendo este ultimo patotipo recientemente determinado como una nueva raza de *Globodera pallida* en el Perú. Por otro lado, el uso de cultivares de papa resistentes a *Globodera rostochiensis* en campos donde existe mezcla de poblaciones con *Globodera pallida*, puede incrementar peligrosamente el desarrollo de razas de *Globodera rostochiensis*. *Globodera pallida* es poligénica, en cambio, *Globodera rostochiensis* es monogénica (Schots, A .1987).

Por tal motivo se hace la aclaración que se debe analizar la raza, patotipo, del nematodo encontrado presente en Guatemala y en específico para el área de la aldea Concepción para así establecer si provoca daño significativo o no a al cultivo y a su productor de papa en esta región.

Haciendo uso de cultivares resistentes y/o tolerantes, la rotación con cultivos no hospedantes, el uso racional de variedades resistentes, complementando con otras alternativas de manejo como la remoción de suelo, sanidad de los tubérculos-semilla, la eliminación de plantas voluntarias, la aplicación de enmiendas agrícolas y productos químicos, se podrá fundamentar el manejo integrado del nematodo blanco de la papa *Globodera pallida* y es posible también aprender el manejo del nematodo dorado *Globodera rostochiensis* (Franco, J . 1989, Mugniery, D. 1978).

## 10. CONCLUSIONES

1. Se confirma la presencia del nematodo *Globodera pallida* (Stone) Behrens en la aldea Aldea Concepción, Palencia.
2. En la aldea Concepción, área productora de papa existe también la presencia del nematodo de la papa *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens con poca población.
3. La distribución del nematodo de quiste encontrado se encuentra en el mismo terreno del punto identificado como CON-10 y en terrenos aledaños.
4. De los 52 sitios de muestreo, en ocho de ellos se detectaron nematodos del complejo nematodos de quiste de la papa.
5. De los ocho puntos positivos para nematodos de quiste de la papa, en cinco de ellos se confirma la presencia de *Globodera pallida* (Stone) Behrens y *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens, de los otros tres puntos no se pudo establecer la especie del nematodo, esto quiere decir que hay otra especie de nematodo del genero *Globodera* sp.



## 11. RECOMENDACIONES

1. Realizar un muestreo de mayor intensidad en el municipio de Palencia, con el fin de determinar si existe la presencia de *Globodera pallida* en otras aldeas del municipio.
2. Realizar estudios más profundos utilizando técnicas más precisas para determinar el o los patotipos (test de clones diferenciales) presentes del nematodo blanco *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* en la región, ya que la resistencia que poseen algunos cultivares de papa son distintas según el patotipo del nematodo que se encuentre presente, así también ejecutar un programa de control.
3. Efectuar monitoreo de todo material de propagación (semilla) que se produzca en el municipio, y que se lleve de otros departamentos que sea destinado para mercado interior y exterior del país para evitar la diseminación de estos nematodos, garantizando así la sanidad de los tubérculos-semilla.
4. Coordinar e impulsar entre organizaciones, productores, instituciones gubernamentales, de investigación, municipalidad e instituciones estatales, que estén plenamente involucradas en el cultivo de papa, a realizar actividades de monitoreo y control del nematodo blanco *Globodera pallida* y nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis*.
5. Efectuar monitoreos de todas las áreas de Palencia que estén en producción de papa, o en donde se haya establecido este cultivo por lo menos desde 5 años hacia atrás, para así declarar áreas libres del nematodo blanco y el nematodo dorado, de la papa.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, GN. 1998. Fitopatología. Trad. por Manuel Guzmán. 2 ed. México, Limusa. 838 p.
2. Álvarez, VM. 1988. Tamaño de muestra: procedimientos usuales para su determinación. Chapingo, México, Colegio de Postgraduados. 161 p.
3. Crozzoli, R. 1995. Nematodos del quiste de la papa, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*: aspectos generales. Fitopatología Venezolana 8(2). Consultado 25 jun 2005. Disponible en [www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/v082/082f010.html](http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/v082/082f010.html)
4. Blanco, L. 2004. Determinación de la presencia del nematodo dorado *Globodera rostochiensis* Woll. y otros nematodos de quiste de la sub-familia Heteroderinae, en las áreas de producción de papa *Solanum tuberosum* L. de Palencia, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 83 p.
5. CAB Internacional, UK. 2000. Crop protection compendium (disco compacto). United Kingdom. 1 CD.
6. \_\_\_\_\_. 2005. Crop protection compendium [disco compacto]. United Kingdom. 2 CD.
7. \_\_\_\_\_. 2006. Crop protection compendium [disco compacto]. United Kingdom. 2 CD.
8. Christiansen, JA; Vargas, R. 1980. La papa: su utilización. Guatemala, ICTA / PREDECODEPA. 50 p.
9. Cronquist, A. 1981. An integrated system of flowering plants. New York, US, Columbia University Press, Botanical Garden. 1262 p.
10. Cruz S, JR De la. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
11. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization, GB) 2004. Diagnostic protocols for regulated pests, *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. EPPO Bulletin 34:309–314. Consultado 20 nov 2005. Disponible en [www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2586493](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2586493)
12. Franco, J; Gonzáles, A; Matos, A; Torres, H. 1989. *Beauveria bassiana*: provisor biocontrolador del nematodo de quiste de la papa, *Globodera pallida*. Fitopatologia 24(1):23-28.

13. García, M. 1980. Estudio analítico taxonómico de los nematodos de quiste (*Heterodera* spp.) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 38 p.
14. Guzman, V. 2005. Sistema de vigilancia fitosanitaria (comunicación personal). Guatemala, Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Unidad Fitosanitaria.
15. Henkes, R; Duna, N. 1981. Aumenta el consumo de papa con nuevas variedades y nuevos métodos de producción, el cultivo de papa puede extenderse un número mayor en regiones. El Surco no. 3:1-11.
16. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 1980. Diccionario geográfico de Guatemala. Guatemala, v. 4, 699 p.
17. Infoagro.com 2006. El cultivo de la patata (en línea). España. Consultado en Agosto 2006. Disponible en <http://www.infoagro.com/hortalizas/patata.htm>
18. Interciencia. 1993. Nematode problems affecting potato production in subtropical climate. Neotropica 23:213-220.
19. Jensen, AJ; Armstrong, J; Jatala, P. 1979. Annotated bibliography of nematode pests of potato. Lima, Peru, CIP. 315 p.
20. Karssen, G; Hoenselaar Van, T; Verkekrk-Bakker, B; Janssen, R. 1995. Species identification of cyst and root-knot nematodes from potato by electrophoresis of individual females. Electrophoresis 16:105-109.
21. Li, W. 2009. National plant germoplasm and biotechnology laboratory (entrevista). Beltsville, MD, US, USDA / APHIS / PPQ / CPHST / BARC / EAST.
22. Luc, M; Maggenti, AR; Fortuner, R. 1988. A reappraisal of *Tylenchida* (Nematoda); 9 the family Heterodinae Filip`ev & Schuumansstekhopven, 1941. Revue Nematology 11(2):59-176. Consultado 25 jun 2005. Disponible en [www.bondy.ird.fr/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_5/pt5menato/27697.pdf](http://www.bondy.ird.fr/pleins_textes/pleins_textes_5/pt5menato/27697.pdf)
23. Luján Claire, L. 1995. Historia de la papa (en línea). Madrid, España. Consultado en Diciembre de 2006. Disponible en [http://www.geomundos.com/sociedad/almorzadero/historia-de-la-papa\\_doc\\_1594.html](http://www.geomundos.com/sociedad/almorzadero/historia-de-la-papa_doc_1594.html)
24. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Unidad de Normas y Regulaciones, GT). 2000. Ley de sanidad vegetal y animal y su reglamento; documento 1, serie normativa. 2 ed. Guatemala. 45 p.

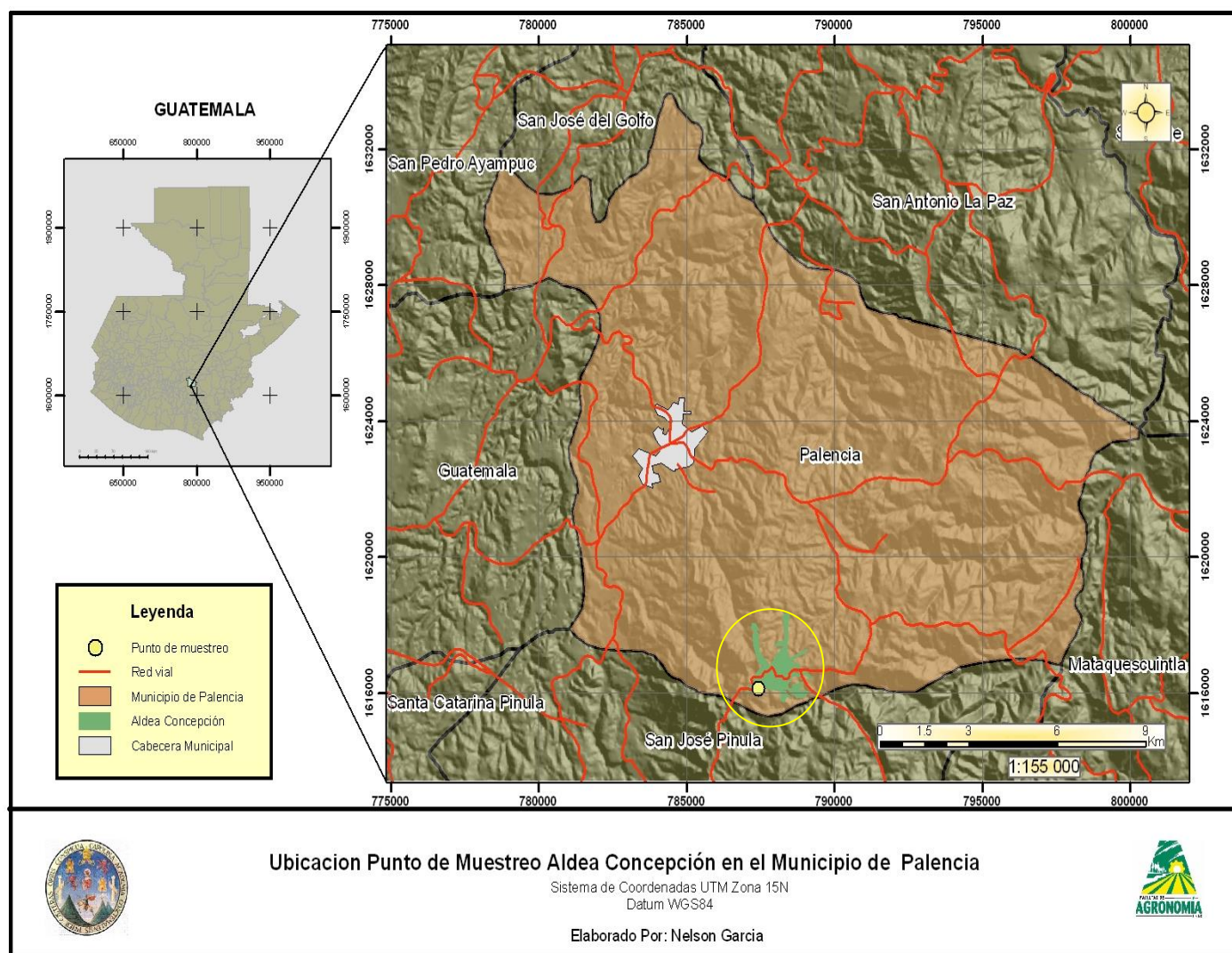
25. Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, USAC, GT. 2001. Manual de prácticas de laboratorio del curso de nematodos fitopatógenos. Guatemala. 20 p.
26. Mugniery, D. 1978. Vitesse de developent, en foction de la temperatute de *Globodera rostochiensis* et. *Globodera pallida* (Nematodo: Heteroderinae). Revue Nematology 1:3-12.
27. Maza, M. 2002. Medida hondureña no afecta al país. Prensa Libre, Guatemala, Guatemala, abr 3:4.
28. Países centroamericanos cierran mercados de papa. 2001. Diario al Día, Guatemala, GT, dic 5:7.
29. Protecnet.go.cr. 2001. Nematodo dorado *Globodera rostochiensis* y nematodo blanco de la papa *Globodera pallida*; ficha técnica para análisis de riesgo. Costa Rica. Consultado 15 jun 2006. Disponible en [www.protecnet.go.cr/cuarentena/globodera.htm](http://www.protecnet.go.cr/cuarentena/globodera.htm)
30. Argenpapa.com.ar. 2007. Noticias al día: nematodo dorado se encontró en Quebec: encontrado un parásito de la papa en una granja de Quebec y pusieron la propiedad bajo cuarentena (en línea). Argentina. Consultado en Julio de 2007. Disponible en [www.argenpapa.com.ar](http://www.argenpapa.com.ar)
31. Porras, F. 2008. Laboratorio de diagnostico fitozoosanitario (entrevista). Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala, ENCA, Área Serología.
32. Salguero, ML. 2003. Determinación de la presencia de nematodos de quiste asociados al cultivo de papa *Solanum tuberosum* L. en el municipio de Patzicia, Chimaltenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 84 p.
33. Schluter, K. 1976. The potato cyst eelworm *Heterodera rostochiensis* Woll. In Morocco: it's distribution and economic importance. Journal of Plant Disease and Plant Protection 83:401-405.
34. Schots, A; Bakker, J; Gommers, FJ; Bouwman-Smits, L. 1987. Serological differentiation of the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*: partial purification of species-specific proteins. Parasitology 95:421-428.
35. Siddiqi, MR et al. 1972. Descriptions of plant-parasitic nematodes. UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. s.p.
36. \_\_\_\_\_. 2000. The order *Tylenchida*. 2 ed. UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. 322 p.

37. Simmons, C; Tárano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación a nivel de reconocimiento de suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José De Pineda Ibarra. 1000 p.
38. Stone, AR. 1973a. *Heterodera rostochiensis*; descriptions of plant parasitic nematodos. Wallinford, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. 4 p. (set 2, no. 16).
39. \_\_\_\_\_. 1973b. *Heterodera pallida*: descriptions of plant parasitic nematodos. Wallinford, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. 4 p. (set 2, no. 17).
40. Tarte, R. 1968. First record or the ocurrente of *Heterodera rostochiensis* in Panama. Plant Disease Reporter 58(8):587.
41. Unidad Didáctica: las herramientas de la ingeniería genética, ES. 2001. Técnica reacción de la polimerasa PCR. 2006. España. Consultado en Abril de 2007. Disponible en [www.arrakis.es/~ibrabida/vigpcr.html](http://www.arrakis.es/~ibrabida/vigpcr.html)
42. USDA, US; ARS (Agricultural Research Service, US). 2007. ARS scientists and cooperators identify pale potato cyst nematode in eastern Idaho. Consultado junio 2007. Disponible en [www.seedquest.com/News/releases/2007/june/19651.htm](http://www.seedquest.com/News/releases/2007/june/19651.htm)
43. Zuckerman, BM; Mai, WF; Rhode, RA. 1981. Plant parasitic nematodes. New York, US, Academic Press. v.1, 345 p.


 Vc Bo. Rolando Barros.

### 13. ANEXOS

#### Ubicación punto de muestreo referenciado como Con-10.







**Ubicación y distribución de los puntos georeferenciados positivos a los géneros *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* encontrados.**



Hoja de resultados del análisis PCR-Convencional realizado a las muestras positivas del genero *Globodera* sp.

 **UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA** 

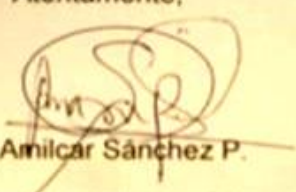
Guatemala, 9 de abril de 2007.

Estudiante:  
Nelson Javier García.

Por medio de la presente le informo del resultado del análisis de PCR realizado a las muestras de quistes de nemátodos. El análisis de PCR se realizó utilizando cebadores para las especies *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*. Los resultados se resumen en el cuadro siguiente:

Muestras positivas para <i>Globodera pallida</i>	Muestras positivas para <i>Globodera rostochiensis</i>	Muestras negativas para <i>G. rostochiensis</i> y <i>G. pallida</i> .
1 y 5	8, 12 y 17.	6, 11 y 27.

Atentamente,

  
Ing. Amílcar Sánchez P.  
Laboratorio de Biotecnología.  
Facultad de Agronomía, USAC.

10 4 2007





### **CAPÍTULO III.**

**Servicios realizados en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la Unidad de  
Normas y Regulaciones, Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación  
UNR-MAGA.**

## **1. Presentación**

Durante la ejecución del diagnóstico del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala, realizado durante el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), que se llevó a cabo en esta institución; como primer servicio se estableció la realización de los manuales de procedimientos, para cada actividad y diferentes tipos de diagnóstico, los cuales los establece las normas COGUANOR NGR-COPANT- ISO-IEC 17025. Las cuales abarcan el funcionamiento de los laboratorios de diagnósticos y así poder ser reconocido y avalado nacional e internacionalmente.

En el se describen las actividades a realizar para la recepción, determinación de los diagnósticos del área de Fitopatología y emisión de los resultados obtenidos, los cuales son establecidos por las normas ISO 17025. Dicho manual brinda al personal técnico del laboratorio una guía que permita realizar el proceso de diagnóstico de hongos, el cual establece los pasos necesarios para su ejecución. Lo que contribuye con el proceso de acreditación para cumplir los estándares de calidad requeridos.

A Partir del Huracán Stan, el MAGA bajo la dirección de la UNR y el Sistema de Vigilancia Fitosanitaria contrató personal que conformaron las brigadas especiales, el cual tuvo a su cargo los monitoreos de las principales plagas y enfermedades que pudieran ingresar al país, por medio de dicho huracán se crea una base de datos que contiene la información recopilada a través de los monitoreos realizados durante el periodo de Octubre a Diciembre del 2005. Otro de los objetivos del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del M.A.G.A. es crear una base de todas las principales plagas y enfermedades que afectan a los diferentes cultivos de la región. Por lo que se monitoreó las distintas zonas del país para establecer las distintas plagas y enfermedades de plantas ornamentales y los demás cultivos del país.

Dentro del programa de EPS también se dio el apoyo al Laboratorio Nacional de Salud (LNS), contando con el personal del mismo ente, para establecer la producción de cultivos hortícolas. Para ello se estableció el tercer servicio, el cual consistió en practcias agrícolas en la producción del Cultivo de Chile jalapeño en las instalaciones del LNS.

## **2. Servicio 1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA RECEPCION E IDENTIFICACION DE HONGOS**

### **2.1 Objetivo**

#### **General:**

- Establecer metodologías estandarizadas en los procesos de recepción, ingreso de muestras y entrega de resultados e identificación de plagas y enfermedades. Para el Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala.

#### **Específicos:**

- Disponer de la información sobre los procesos utilizados en el diagnóstico de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos.
- Realizar diagnósticos certeros a través del uso de manuales de procedimientos estandarizados con otros laboratorios, los cuales describen la metodología a utilizar para realizar determinado tipo de diagnostico.

### **2.2 Metodología**

La elaboración de este manual de procedimientos se originó al realizar el diagnostico del laboratorio, basándose en los estándares de calidad establecidas por las normas ISO 17025.

Para la elaboración de este manual, se recopiló información de diferentes fuentes, con las cuales se redactó el presente manual de procedimientos para recepción, ingreso de muestras, identificación de enfermedades ocasionados por hongos.

### **2.3 Resultado**

Como resultado del diagnostico realizado en el Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario de la Unidad de Normas y Regulaciones, del MAGA- Guatemala. Se realizó el presente Manual de procedimientos para la recepción, ingreso de muestras, e identificación de enfermedades ocasionados por hongos. Cabe mencionar que este manual esta sujeto a constante revisión y actualización por parte del personal competente.

## **2.3.1 Manual de procedimientos para las muestras de hongos**

### **2.3.1.1 Guía procedimiento**

- El usuario presenta la muestra al receptor quien podrá atenderlo en el área de recepción de muestras, del Laboratorio Fitosanitario de la UNR-MAGA, Guatemala ubicado en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud Km.22.
- El receptor revisa la muestra para determinar si es viable para proceder al análisis.
- El usuario deberá especificar la información de condiciones de muestreo, empaque y transporte. Deberá considerarse la representatividad de la muestra para un diagnóstico certero, por el contrario la muestra será rechazada.
- El encargado(a) de la recepción de muestra entrega al usuario la boleta de “Ingreso de muestras para el diagnostico fitosanitario y le brinda asistencia con el llenado de la misma.
- El usuario precede a llenar la boleta en forma clara y ordenada. Una vez concluido el proceso de llenado, el usuario entrega la boleta al receptor.
- El receptor indicará el tiempo aproximado para la entrega del resultado, según el análisis requerido, el tiempo puede variar entre 3 y 10 días.
- El receptor procede a identificar en la boleta el destino de la misma: Fitopatología, Entomología, Bacteriología, Nematología Identificación de Malezas .El receptor consigna la información pertinente en el Libro de Registros, asignando un número y código correlativo al reciente ingreso. El receptor identifica en el apartado superior derecho de la boleta, la fecha de ingreso y anota el número correlativo asignado.
- Cuando se trate de una muestra proveniente de algún programa que se trabaje en convenio con la UNR-MAGA. Además de los datos mencionados, se le asigna también un código correspondiente.
- El receptor procede a rotular la muestra con el número de serie asignado y procede a trasladarla al analista, juntamente con la boleta de solicitud (Ver anexo).
- El analista procede a realizar el análisis solicitado por el usuario.

- Se realiza una observación directa en el estereomicroscopio para determinar el agente patógeno si así lo fuese o por el contrario no viniera desarrollado el agente causal se lava la muestra con agua potable hasta eliminar cualquier resto extraño a la planta o parte afectada, se deja secar a temperatura ambiente para luego implementar el proceso de cámara húmeda y después la realización de los montajes del agente patógeno.
- Una vez determinado el agente causal del problema, se informa al Jefe Inmediato del área del laboratorio para que sea revisado por el mismo y otorgado el visto bueno.
- Concluido este proceso, el resultado es llevado a la persona encargada de redactar y emitir el informe final de la muestra analizada en el Laboratorio.
- Redactado el informe final de resultados, nuevamente el Jefe del área de Diagnostico Fitosanitario procede a la revisión del mismo para emitir las observaciones respectivas.
- Procede a imprimirse dos copias del informe, ambas hojas están debidamente membretadas, incluyendo la firma de la persona responsable del diagnostico y la firma del Jefe del área de Diagnostico Fitopatológico del Laboratorio.
- El usuario recibe el resultado o informe final en papel membretado y la copia queda para el archivo del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario, misma que deberá llevar impresa la firma del usuario como constancia de entrega de sus resultados.

Este procedimiento comprende la identificación de Ascomycetes, Basidiomycetes, Oomycetes, Zygomycetes, Coelomycetes, Hongos Anamórfos y Bacterias.

#### **2.3.1.2 Materiales**

- Estereomicroscopio
- Microscopio
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Agujas de disección

- Hojas de Gillette o bisturí
- Gotero con lactofenol azul
- Gotero con lactofenol claro
- Gotero con agua destilada o desmineralizada
- Cajas plásticas
- Cajas petri de vidrio o de plástico
- Bolsas de polietileno transparentes de diferente tamaño 10, 15, 25 Lbs.
- Papel mayordomo
- Agua destilada o desmineralizada
- Hipoclorito de Sodio al 1 %
- Alcohol al 95%
- Cámara fotográfica
- Guantes de latex
- Bata manga larga color blanco.
- Marcadores, tijeras, maskin tape, tape transparente.
- Mechero de Bunsen.

### **Determinación**

Después de observar las estructuras de los hongos, se procederá a la selección de claves de la que se escogerá la más adecuada para su identificación.

### **Claves recomendadas**

- Agrios, GN. 1998. Fitopatología. Trad. por Manuel Guzmán. 2 ed. México, Limusa. 838 p.
- Barnett, H.L.; Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera Of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society. 218 p.
- Cummins, G.B; Hiratsuka, Y. 2003. Illustrate genera of rust fungi. Third ed. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. APS Press, St. Paul, MN. 225 p.
- Halin, R.T. 1992. Illustrated Genera Of Ascomycetes. American Phytopathological Society. 263 p
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes Vol. I, II. Commonwealth Mycological Institute New, Surrey. 696 p.

### **2.3.1.3 Procedimiento**

#### **a. Observación visual directa.**

Observar directamente la muestra, órganos afectados, presencia de síntomas.

La sintomatología se clasifica de acuerdo a:

#### **Su distribución en el hospedero**

- General
- Local

#### **La acción del patógeno**

- Primario
- Secundario

#### **Tamaño en la planta**

- Microscópico
- Macroscópico
  - Complejo
  - Hipertrófico
  - Atrófico
  - Necrótico
  - Pre-necrótico

#### **b. Observación del patógeno con microscopio estereoscópico.**

Realizar preparaciones microscópicas de tejido vegetal para observar estructuras o signos. El signo del patógeno puede observarse como: micelio, exudaciones, rhizomorfos, esclerocios, esporas, conidias, basidiocarpos, acérvulos, picnidios, peritecios, cleistotecios y apotecios.



**Raspados**

Al observarse cuerpos fructíferos sobre la superficie del tejido, realizar raspados con agujas de disección bajo el microscopio estereoscopio. Agregar una gota lactofenol claro o lactofenol azul sobre una lamina de portaobjetos, colocar una porción del cuerpo del patógeno, cubrir con cubreobjetos y observar al microscopio.

**Cortes**

Bajo el microscopio estereoscopio, realizar cortes de material vegetal y cuerpo del agente causal de forma longitudinal o transversal para obtener estructuras contenidas dentro del tejido. Utilizar bisturí u hoja de afeitar para segmentar finas porciones de tejido vegetal. Depositar los cortes en un portaobjetos y teñirlo con lactofenol azul si es un ascomiceto o agregar lactofenol claro si se trata de otro organismo. Observar al microscopio.

Cuando no se observan signos del patógeno, se preparan las muestras para introducirlas a cámara húmeda.

**c. Preparación de la cámara húmeda**

Preparar la cámara húmeda según el material vegetal a analizar. Los tipos comunes de cámaras húmedas son: cajas plásticas, cajas petri de vidrio o plástico, bolsas de polietileno de diferente tamaño. Cada cámara deberá llevar una porción de humedad dentro de la misma por ejemplo papel húmedo, algodón húmedo etc.

**Desinfección:**

Al utilizar cajas petri de plástico o de vidrio, desinfectar con Hipoclorito de Sodio al 1% y/o alcohol al 95%, de la misma forma si se utilizan cajas plásticas, desinfectar también. Al utilizar bolsas de polietileno, cerciorarse que sean nuevas.

A continuación se puede apreciar los diferentes tipos de cámaras húmedas, las cuales son utilizadas para favorecer la aparición y el desarrollo de estructuras patógenas, y con ello poder facilitar la determinación del patógeno causante de los síntomas presentados.



**Figura 32.** Diferentes tipos de cámaras húmedas.

**Fuente:** El Autor.

### **Lavado del material**

Lavar el material vegetal con agua corriente para eliminar restos de suelo, residuos de productos químicos y/o tejidos diferentes a los que se desea observar. Si se trata de cajas petri, añadir agua destilada y agregar tozos del material vegetal, mismos que deben ser aproximadamente de 1 cm. De diámetro. Si son cajas de camisa, agregar en el recipiente agua estéril, la suficiente para mantener una buena humedad. Colocar la rejilla a manera de evitar el contacto directo de la muestra con el agua.

Ubicar la muestra sobre la rejilla. En el caso de utilizar bolsas de polietileno, colocar una toalla de pape húmeda dentro de la bolsa y ubicar el material vegetal dentro de la misma. Llenar la bolsa de aire y cerrarla completamente. Estas cámaras húmedas deben ubicarse a temperatura ambiente. Es recomendable realizar tantas cámaras húmedas por muestra como sea posible, para realizar un mayor número de observaciones.

Al cabo de 24 horas, debe revisarse la muestra, para ver presencia de signos, siguiendo la metodología descrita. Nota: si el patógeno responsable de la enfermedad no fuera un hongo, proceder de la siguiente manera, con el objetivo de descartar un posible patógeno.

### **d. Prueba de flujo bacteriano (PFB)**

#### **Procedimiento**

- Desinfectar el material sumergiéndolo por 3 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 2%. Enjuagar tres veces con agua destilada.

- Cortar con un bisturí estéril en forma vertical a la zona afectada y obtener trozos pequeños de la zona en transición (tratar de abarcar tejido sano y tejido enfermo).
- Con una pinza, tomar un trozo de tejido y sumergirlo en una columna de agua contenida en un tubo de ensayo o vaso alto de cristal (probeta, beaker o erlenmeyer).
- Casi inmediatamente o a veces después de 5-10 minutos, comienza a fluir hacia abajo un hilo continuo en forma de humo. Son células bacterianas de uno o más vasos vasculares que luego se disipan en una nube lechosa. Si se observa con claridad, existe la posibilidad de que el agente causal del síntoma sea una bacteria fitopatógena. La tinción y la observación microscópica son esenciales para comprobar la presencia de éstas.

#### **e. Aislamiento de bacterias en medios de cultivo:**

Después de la preparación previa dada a los tejidos enfermos el análisis, cualquiera que fuere el órgano a analizar (hojas, tallos, raíces, frutos, semillas, etc.). Se deben de cortar pequeños trozos que contengan un 50% de la parte de la lesión y el otro 50% de tejido sano, macerar y sembrar la dilución o la parte de tejido en el medio de cultivo seleccionado. La siembra deberá realizar en un medio limpio y esterilizado, de preferencia en la campana y aislamiento con el fin de evitar contaminaciones.

Antes de efectuar la siembra de la dilución o los trozos de material vegetal deberán de pasar por una batería de desinfección. Para trabajar en el diagnóstico de las enfermedades de las plantas, se deben tomar algunas medidas previas a la aplicación de las técnicas propiamente dichas, siendo las condiciones en que se debe de trabajar las siguientes:

- Determinar el lugar exclusivo para solo ese análisis.
- Ambiente con la menor contaminación posible.
- Evitar las corrientes de aire.
- Hacer una desinfección previa de las mesas de trabajo y lugares a utilizar para el análisis.
- Realizar una esterilización de cristalería e instrumental a utilizar.
- Tener a la mano solo el material que se este analizando.
- Tener luz en el lugar determinado.

El éxito del análisis dependerá de nuestro ambiente de trabajo sea lo más estéril posible.

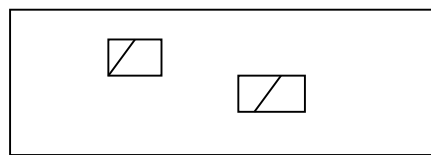
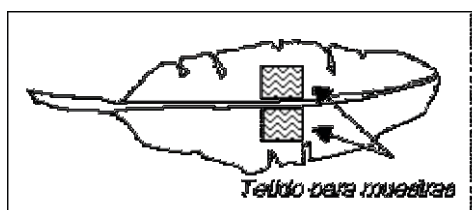
#### f. Esterilización del los materiales

Los materiales de vidrio; tubos de ensayo, cajas petri, vidrio de reloj, etc., y materiales de papel (papel filtro o periódico), algodón, aceite mineral etc.; se colocan al horno seco por un periodo de dos horas y a una temperatura de 160°C.

La esterilización de agua, medio de cultivo, materiales de plástico, materiales de metal, materiales de hule etc. Se esterilizan utilizando el autoclave, colocando los materiales durante 20 minutos a una temperatura de 121°C.

#### g. Desinfección y siembra de material vegetal

Se toma la muestra en donde se presente la sintomatología y se identifican los puntos en que estén iniciando los síntomas, se cortan con un bisturí o una hoja de afeitar, pequeños trozos de tejido de más o menos 0.5 cm<sup>2</sup>, con proporciones de tejido sano y tejido dañado, colocándolos en un porta objetos, mientras se procede con la batería de desinfección



Se colocan los segmentos seleccionados en un porta objetos.

**Figura 33.** Esquema de material vegetal para siembra en medio de cultivo

Antes de empezara atrabajar en la campana de flujo laminar deben de ser desinfectados los materiales a usar y la campana misma previamente con alcohol al 70% para luego pasar a los materiales también o prender la luz ultravioleta para esterilizar el área y materiales por lo menos de 20 a 30 minutos antes de empezar a trabajar en el interior de la campana, cabe mencionar que durante este la luz ultravioleta encendida ninguna persona permanece dentro del área de trabajo por medida de bioseguridad.

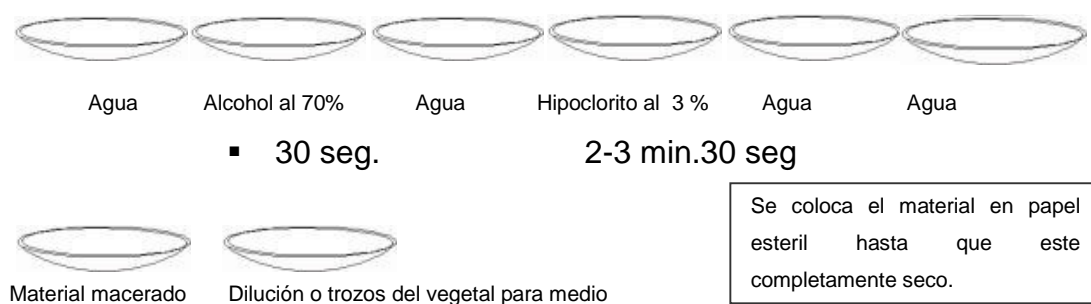
Al ya estar esterelizada el área y material de trabajo con la luz ultravioleta se apaga luego se prende un mechero el cual deberá de permanecer así durante el desarrollo de la desinfección y siembra del material que se esta trabajando. Es importante al trabajar en esta etapa, utilizar cristalería, agua e instrumental debidamente esterilizado así como también a continuación se presentan en el estado que debe de trabajarse en la cámara de flujo laminar:

- Se debe de encender la cámara de 5 a 10 minutos antes de trabajar, el técnico debe de observar que la camara trabaje bien de lo contrario no se puede trabajar y hacer las consultas correspondientes.



**Figura 34.** Camara de flujo laminar encendida.

- Los otros elementos que usamos con más frecuencia son pinzas de puntas finas, bisturís y agujas histológicas. Todos deben ser flameados en la llama del mechero Bunsen antes de ser usados, si se realizan series de análisis en un mismo periodo de tiempo.
- La batería de desinfección que se utiliza consiste en pasar los trozos de material por los siguientes compuestos y tiempos especificados en el diagrama:



**Figura 35.** Esquematización de la batería de desinfección.

- Luego de pasar el material por la batería de desinfección se procede a la siembra del mismo, con ayuda de un aza se estría en el medio de cultivo el cual se utiliza el medio AN (agar nutritivo), en donde se puede hacer crecer la bacteria para despues realizar el aislamiento en medios específicos como B de King o YDC, etc.
- Una vez se aísla el material, se debe de colocar en una incubadora a 28-30°C durante un periodo de 24 a 72 hrs, en algunos casos las colonias se desarrollan hasta los 4 días despues de la siembra.



**Figura 36.** Incubadora para medios de cultivo.

- Después de que la bacteria desarrolle se debe de establecer las distintas colonias que se presenten, el número de ellas ,el tamaño, la forma,coloración, para luego purificarlas y empezar a realizar el diagnostico con ayuda de la técnica de tinción de Gram si se desea o efectuar la determinación del patógeno utilizar claves dicotómicas mas las pruebas bioquímicas.

## 2.4. Evaluación

Se cumplió con los objetivos de estandarizar las metodologías utilizadas para el procedimiento de recepción, ingreso e identificación de agentes causales de enfermedades responsables de daños causados en los cultivos.

## 2.5 Referencias bibliográficas

1. Agrios, GN. 1989. Fitopatología, enfermedades de plantas. Trad. Manuel Guzmán. México, LIMUSA. 756 p.
2. Cabezas, O. 2004. Diagnostico de enfermedades en plantas (en línea). Perú, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Agronomía. Consultado 27 ene 2008. Disponible en [http://www.senasa.gob.pe/servicios/intranet/capacitacion/cursos/curso\\_tingo\\_maria/diagnostico\\_enfermedades\\_plantas.pdf](http://www.senasa.gob.pe/servicios/intranet/capacitacion/cursos/curso_tingo_maria/diagnostico_enfermedades_plantas.pdf)
3. Montealegre A, JR. 2002. Aislamientos y cultivos puros de bacterias y hongos, laboratorio no. 4. Departamento de Sanidad Vegetal.3 p. Facultad de Ciencias Agronómicas, Chile, Universidad de Chile. Consultado 18 oct 2006. Disponible en [http://agronomia.uchile.cl/webcursos/microbiologiagral/pagina%20microbiologia1/word/Guia\\_Lab\\_04.doc](http://agronomia.uchile.cl/webcursos/microbiologiagral/pagina%20microbiologia1/word/Guia_Lab_04.doc).
4. Politécnica de Valencia, Facultad de Agronomía, UY. 2006. Reconocimiento de síntoma y signos, (en línea). Uruguay. Consultado 23 oct 2006. Disponible en [www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/docs/Gu%EDas/Guia\\_SintDiag.pdf](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/docs/Gu%EDas/Guia_SintDiag.pdf)
5. Rincón del vago.com. 2006. Mildiu (en línea). Argentina. Consultado 20 de mayo 2006. Disponible en [html.rinconelvago.com/ mildius.html](http://html.rinconelvago.com/mildius.html).
6. Yeves, AM; Arias, DM; Bello, PA; Borruel, OM; Fisac, PR; Lacasa, PA; López, GM; Nombela, BG; Noval, AC; Rey, AJ; Tello, MJ; Valdeolevas, HA; Vares, MF. 1991. Manual de laboratorio de diagnostico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. Madrid, España, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 485 p.

## 2.6 Anexo

## Boleta de solicitud de Diagnóstico



MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION  
UNIDA DE NORMAS Y REGULACIONES  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO FITOSANITARIO  
Km. 22 Carretera al Pacifico, Barcena, Villa Nueva  
Teléfono: 66440599 Ext. 209



Página 1 de 1

**FORMULARIO PARA INGRESO DE MUESTRAS AL LABORATORIO PARA DIAGNOSTICO  
FITOSANITARIO.**

MUESTRA No. \_\_\_\_\_

FECHA

--	--	--

1. USUARIO O EMPRESA \_\_\_\_\_ TEL: \_\_\_\_\_ CORREO ELECTRONICO \_\_\_\_\_

2. PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA : \_\_\_\_\_ TEL: \_\_\_\_\_ CORREO ELECTRONICO \_\_\_\_\_

3. PROCEDENCIA DE LA MUESTRA, (Dpto.): \_\_\_\_\_ Municipio: \_\_\_\_\_

4. CORDENADAS X \_\_\_\_\_ Y \_\_\_\_\_ Cultivo: \_\_\_\_\_ Cultivo Anterior: \_\_\_\_\_

5. FASE FENEOLÓGICA (al tomar la muestra): \_\_\_\_\_

6. COMPORTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD O PLAGA: \_\_\_\_\_

En el Cultivo. Uniforme: \_\_\_\_\_ Manchones o Parches: \_\_\_\_\_ Plantas Aisladas: \_\_\_\_\_

7. PARTE AFECTADA: Raíz \_\_\_\_\_ Tallo \_\_\_\_\_ Ramas \_\_\_\_\_ Hojas \_\_\_\_\_ Yemas \_\_\_\_\_ Flores \_\_\_\_\_ Frutos \_\_\_\_\_ Semilla \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

8. SINTOMATOLOGIA: Acolochamiento \_\_\_\_\_ Marchites \_\_\_\_\_ Clorosis \_\_\_\_\_ Necrosis \_\_\_\_\_ Achaparramiento \_\_\_\_\_ Pudricion \_\_\_\_\_

Moteado \_\_\_\_\_ Mancha Foliar \_\_\_\_\_ Nódulos Radiculares \_\_\_\_\_ Agallas \_\_\_\_\_ Minas \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

Especifique: \_\_\_\_\_

9. Tipo de análisis: Entomológico: \_\_\_\_\_ Nematológico: \_\_\_\_\_ Fitopatológico: \_\_\_\_\_ Bacteriológico: \_\_\_\_\_

Acarológico: \_\_\_\_\_ Maleza: \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

10. OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

Nombre de Receptor

Nombre Enterante

FTS-03-R-002



### **3. Servicio 2. DETERMINACION PICTÓRICA DE LAS ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LAS PLANTAS ORNAMENTALES Y LOS DIFERENTES CULTIVOS DE GUATEMALA.**

#### **3.1 Objetivos**

##### **General**

- Realizar diagnósticos e identificación en forma pictográfica de las principales enfermedades producidas por agentes fitopatógenos en las plantas ornamentales y otros cultivos.

##### **Específico**

- Identificar los géneros de los agentes fitopatógenos que estén provocando el daño principal de la enfermedad en los cultivos del país.

#### **3.2 Metodología**

##### **3.2.1 Muestreo**

La recolección de las muestras fue realizada por los usuarios del laboratorio fitosanitario, inspectores del programa PIPAA y miembros del sistema de vigilancia fitosanitaria. Realizando para cada una de ellas, observación y colecta de muestras de los cultivos o plantas que presentaron algún tipo de sintomatología ocasionado por algún agente fitopatológico. Las muestras al momento de ser colectadas, se colocaron en bolsas plásticas debidamente identificadas, con el nombre del cultivo y lugar de muestreo, tomándose muestras de suelo, raíces, hojas, tallos y flores según se presentó la sintomatología, las muestras se transportaron al Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de Guatemala ubicado en el kilómetro 22 Carretera al Pacífico Bárcena Villa Nueva-Guatemala.

### 3.2.2 Materiales

- Estereoscopio con cámara integrada
- Microscopio con cámara integrada
- Cámara digital
- Aguja de disección
- Pinzas
- Papel filtro
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Lactofenol claro, azul, rojo
- Esmalte para sellar montajes
- Cuaderno de apuntes
- Bolsas de polietileno
- Marcadores para identificación de muestra
- Fondos para fotografía (cartulinas de color y láminas de foamy).
- Papel mayordomo
- Alcohol al 70% y 95%
- Agua destilada
- Pizetas
- Lapiceros
- Etiquetas

### Claves para identificación

Illustrated Genera of Ascomycetes de Richard T. Hanling.

Illustrated Genera of Imperfect Fungi H.L. Barnett & Barry B. Hunter.

Dematiaceous Hyphomycetes de M.B Ellis.

The Coelomycetes Sutton B.C

Illustrated Genera of Rust Fungi Geroge B. Cummins and Yasuyuki Hiratsuka.

Hongos Fitopatogenos .del Dr. Sebastian Romero Cova.

### **Otros libros de referencia:**

M.A.G. Enfermedades en los cultivos de Costa Rica. De Ing. Villalobos José y Ing. Cárdenas Franklin.

Compendium of Ornamental Foliage Plant Diseases. A.R. Chase

M.A.G.A-U.N.R. Inventario de Plagas y Enfermedades de Plantas Ornamentales de Exportación. Edil Rodríguez.

The Diagnosis of Plant Diseases. Dr. Rubert B. Streets,  
Plant Pathology. George N. Agrios.

### **Referencias digital**

Crop Protection Compendium. CAP Internacional 2005.

Crop Protection Compendium. CAP internacional 2003.

P.Q.R. EPPO. Plants Quarentine Data Retivieal Sistem. 2005.

Internet.

### **3.2.3 Diagnóstico**




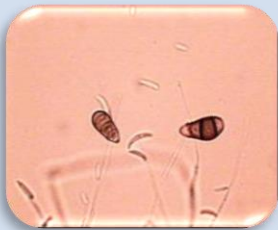
- Se ingresaron las muestras a un libro de control, anotando el tipo de cultivo, lugar de colecta, y numero correspondiente a la muestra.
- Se procedió a realizar una descripción de la sintomatología, que presentan las plantas, y se tomaron fotografías.
- Se observaron las muestras con ayuda del estereomicroscopio, se observó si había presencia de síntomas y signos de algún agente fitopatógeno en las muestras, así como la realización de cortes de tejido, para la obtención de montajes en los casos que se requirieran.
- Se observaron los montajes en el microscopio, para su posterior determinación con las claves dicotómicas.
- Cuando no se observó presencia de signos en las muestras, se procedió a colocar las muestras en cámara húmeda, para que desarrollaran las estructuras de los hongos.
- Una vez desarrollada la estructura se procedió a realizar los montajes en lactofenol para determinar el agente causal corriendo las siguientes claves en función del hongo que se presentara.


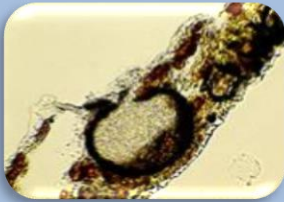

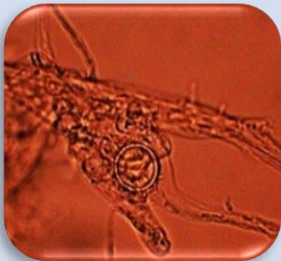


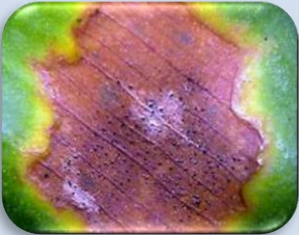
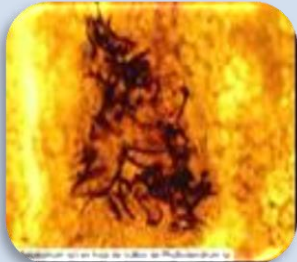
De las muestras trabajadas, se digitalizó los resultados correspondientes, se realizó una breve descripción de la sintomatología presentada, el nombre del cultivo, la procedencia de la muestra, el agente causal de la enfermedad y observaciones correspondientes. Ya con el resultado obtenido se imprimía en una hoja debidamente membretada, firmada y sellada, tanto como el responsable de diagnostico y el Vo.Bo. del Jefe del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario, para entregárselo al usuario.




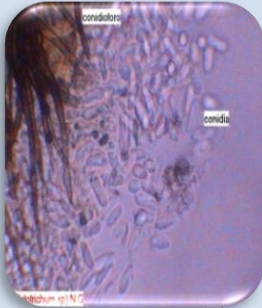



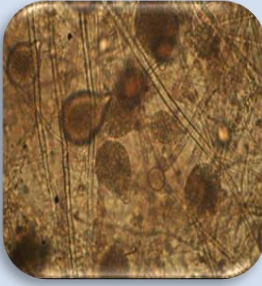
### 3.3 Resultado

En el siguiente cuadro contiene la información obtenida de las muestras analizadas, las cuales fueron colectadas por los integrantes de las brigadas especiales bajo la dirección de la UNR-MAGA, Vigilancia Fitosanitaria e inspectores PIPAA.

**Cuadro 16. Enfermedades que afectan a los diferentes cultivos de Guatemala.**

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Aglaonema</b> 	Masagua, Escuintla	Se observa en las hojas de la planta unos puntos translucidos que abarcan el area foliar. A medida que avanza se van poniendo necroticos de un color café. La forma del punto es circular a veces irregular. Se observa en el haz y envez de la hoja	<b><i>Colletotrichum</i> sp</b> 
<b>Sanseveria</b> 	Retalhuleu	Se observan en las hojas unas manchas acuosas de una coloración café.	<b><i>Curvularia</i> sp</b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Maranta</b> 	Colomba, Quetzaltenango	Manchas o puntos de forma circular en la hoja de color café algunas veces rodeadas de un halo amarillo	<b>Phoma sp</b> 
<b>Izote</b> 	San Cristóbal, El Progreso	En el tallo se puede observar que existe una pudricion en el centro que marca una coloracion café oscura en el tejido en forma ascendente	<b>Pythium sp</b> 
<b>Crisantemo</b> 	San Andrés Semetabaj, Chimaltenango	En las hojas del cultivo se pueden observar unas manchas de coloración negra a grises de una forma circular irregular	<b>Leptosphaeria sp</b> 
<b>Phyllodendrum</b> 	Sanarate, Progreso	En las hojas se puede observar unas manchas necroticas de un color café y un halo amarillo que lo rodea en el interior hay unos puntos negros.	<b>Colletotrichum sp.</b> 



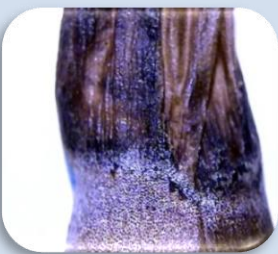
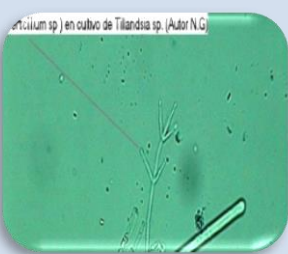



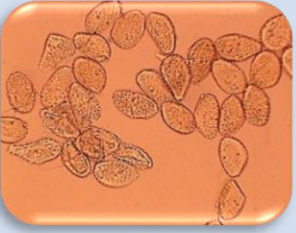
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Peperomia</b> 	Palencia, Guatemala	Se puede observar que el tallo esta de un color negro y las raices tambien las hojas se ponen de un color amarillo a medida que va avanzando se va observando un color café oalido en la superficie de la hoja.	<b><i>Dañó bacterial</i></b> 
<b>Begonia sp</b> 	San Jose Armenia, Palencia	En la hoja se puede observar una necrosidad que esta creciendo a medida que avanza la enfermedad en la necrosidad tiene una forma alargada. Visto al esteroscopio se observan unos puntos negros que salen del tejido vegetal.	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 
<b>Hiedra</b> 	Santa Cruz, Alta Verapaz	En la hoja se pueden obsrvar unas manchas que estan en el envez y haz de la hoja La mancha es de una forma circular qu4e se distribuye en el area de la hoja, color negro	<b><i>Alternaria</i></b> 
<b>Peperomia sp</b> 	Santa Cruz Alta Verapaz,	La planta tiene una pudrición que va empezando desde el tallo hasta llegar a las hojas que se van pudriendo a medida que avanza la enfermedad. La coloracioin de la pudricion empieza a notarse una colaracion café hasta llegar a un color vistoso negro o café oscuro.	<b><i>Phytophthora sp</i></b> 




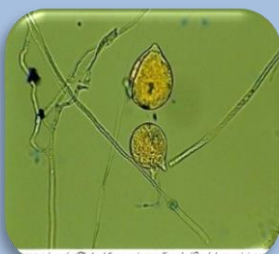

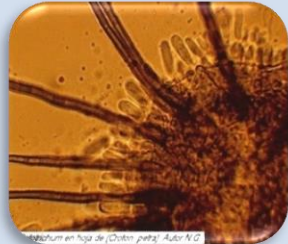

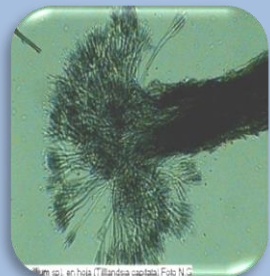

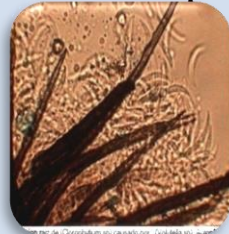
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Dracaena sanderiana</b> 	Escuintla	En las hojas de la planta de puede observar una mancha de forma circular a veces esta alargada que esta distribuida en el haz y envez de la hoja . tiene en el centro una coloracion gris en ella se pueden observar unos puntos negros, al exterior un halo café que la rodea	<b>Macrophoma sp</b> 
<b>Heliconia</b> 	Escuintla	Mancha necrotica circularrodeada de un halo café oscuro y en su interior café claro.esta distribuida en toda el area foliar de la planta. En el interior se ven puntos color negro.	<b>Leptosphaeria sp.</b> 
<b>Tillandsia</b> 	San Lucas Sacatepequez	En las hojas se puede observar unas manchas de un color lila que a medida que avanza la va formando una mancha necrotica bien marcada y en su interior hay puntos negros.	<b>Colletotrichum sp</b> 
<b>Peperomia obtusifolia</b> 	Escuintla	Mancha en forma circular en forma de anillo sobre la hoja de color negro	<b>Coletotrichum sp</b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Peperomia</b> 	Santa Lucia Milpas Altas Sacatepequez	En la hoja se observa una pudrición que abarca la hoja con una coloración negra.	<b><i>Phytophthora spp</i></b> 
<b>Raíces de Schefflera</b> 	Palencia, Guatemala	Las raíces de la planta presentan una pudrición de una coloración café.	<b><i>Phytophthora sp</i></b> 
<b>Maranta roja</b> 	Santa lucia Milpas Altas, Sacatepequez	En la hoja se observa una mancha de forma redonda de color café y en su interior unos puntos negros.	<b><i>Phoma spp</i></b> 
<b>Tillandsia</b> 	Gualan Zacapa	En la base de la planta se observa una pudrición y en ella se ve unos puntos negros.	<b><i>Pestalotia sp.</i></b> 




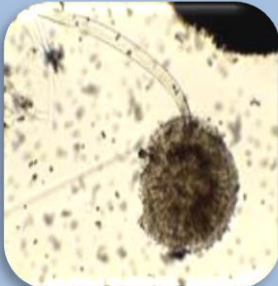

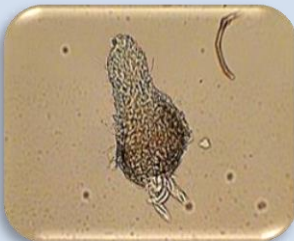

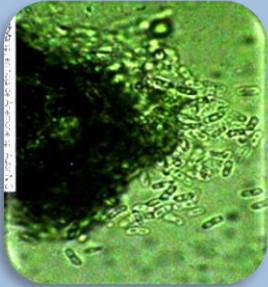

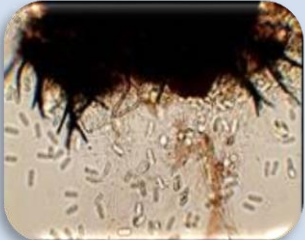
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Rosa Classy</b> 	San Miguel Dueñas, Sacatepequez	En la hoja de la planta se observa unas manchas de color blanco en el haz y envés de la hoja en forma de polvo.	<b><i>Oidium sp.</i></b> 
<b>Tillandsia</b> 	El Rancho , Progreso	Pudrición en el ápice de la planta el ápice se de un color café oscuro,. Sobre de el hay un micelio blanco.	<b><i>Verticillium sp</i></b> 
<b>Raiz Hedera helix</b> 	San José Pinula Guatemala	En las raíces de la planta se observa un micelio negro que esta encima de la misma. Y la raíz esta necrotica.	<b><i>Volutella sp.</i></b> 
<b>Tillandsia Melanocrater</b> 	Barberena Santa Rosa,	Se logran observar pústulas en las hojas de la planta de un color amarillo y café claro. de forma circular distribuidas en el área infectada	<b><i>Puccinia sp.</i></b> 


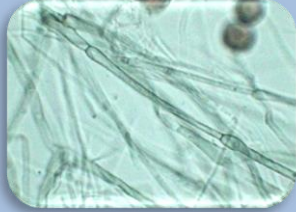





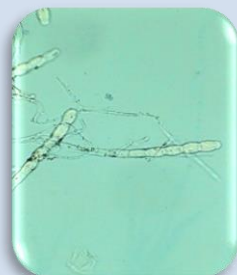
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Tillandsia bayleivii</b> 	Barberena Santa Rosa,	Se puede observar una mancha circular necrotica rodeada de un halo púrpura en las hojas	<b><i>Phoma sp.</i></b> 
<b>Ave del paraiso</b> 	Villa Canales, Guatemala	En la hoja se puede observar una clorosis en la hoja después se necrosa u en el necrosamiento va formando unas manchas blancas alargadas en donde se observan abultamientos de un color negro.	<b><i>Gloesporium sp</i></b> 
<b>Tillandsia brachylaurus</b> 	Barberena Sta Rosa,	En la hoja se observa una mancha alargada de forma elipsoide que en su interior esta necrotico de color blanco y alli hay puntos negros, y que la rodea un halo negro a purpura.	<b><i>Pestalotia sp</i></b> 
<b>Areca sp.</b> 	Puerto Barrios, Izabal	Se observan manchas al principio de una forma circular necroticas rodeadas de un halo amarillo. A medida que avanza se va alargando hasta cubrir el área de la hoja la mancha es de color café necrótico	<b><i>Phomopsis sp</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Cordelyne</b> 	Asunción Mita, Jutiapa	Se observa un micelio de color blanco que es muy delgado en la mancha que esta en la hoja y en la mancha necrotica.distribuido en areas de la hoja.	<b><i>Phytohthora sp</i></b> 
<b>Croton</b> 	Patulul, Suchitepequez	Se pueden observar areas necroticas distribuidas en el area foliar de la hojade una coloracion café oscuro. La mancha es de forma circular irregular	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 
<b>Tillandsia sp</b> 	Nueva Comcepcion, Escuintla	Se puede observar una mancha en la hoja de tillandsia, la mancha es necrotica, en su interior es de color blanquisco, su forma alargada alipsoide. Se puede observar una estructura que sale del tejidoen forma de arbolitos	<b><i>Penicillium sp</i></b> 
<b>Clorophytium sp.</b> 	Masagua, Escuintla	Se puede observar en la guia o tallo de la planta una pudricion de color negro en ella se puede observar estructuras que salen del tejido	<b><i>Volutella sp</i></b> 




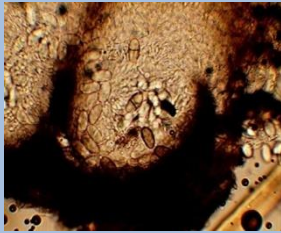

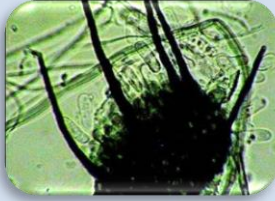




CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Hiedra mint colibrí</b> 	Lo De Dieguez, Fraijanes, Guatemala	Se puede observar una pudrición de raíces en la planta tornándose de un color café oscuro en las raíces.	<b><i>Rhizoctonia sp</i></b> 
<b>Rosal</b> 	Parramos Chimaltenango	Se puede observar en el haz de la hoja que hay puntos amarillos en forma localizada en toda el área de la hoja. En el envés de la hoja se pueden observar colonias de ácaros que están al lado de la nervadura central de la hoja y toda el área.	<b><i>(Tetranychus urticae).</i></b> 
<b>Cyca</b> 	Sta. Bárbara Suchitepeques	Se pueden observar en las hojas unas manchas de forma circular que en el exterior están rodeadas por un halo amarillo y en su interior están necróticas de un color café.	<b><i>Phoma sp</i></b> 
<b>Croton Sony Star</b> 	Patulul, Suchitepequez.	Se pueden observar manchas en la hoja de forma circular rodeadas por un halo color café. En el interior de la hoja está necrótica de color grisáceo. La mancha está distribuida en toda el área de la hoja.	<b><i>Volutella sp</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Pony</b> 	Chicacao, Suchitepequez	En la planta hay una muerte descendente, en la parte central del esqueje se ve una coloracion negra que se desplaza hasta la base del esqueje.	<b><i>Aspergillus sp</i></b> 
<b>Nandina sp</b> 	Sanarate, Progreso	En la hoja se puede observar una mancha de forma circular a veces irregular de color café necrotico, rodeada de un halo marron.	<b><i>Glomerella sp</i></b> 
<b>Anemone sp</b> 	San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos	Se observan manchas necroticas en el interior y bordes de la hoja de una coloracion café oscura .	<b><i>Ascochyta sp</i></b> 
<b>Tillandsia ionantha</b> 	San Cristóbal, Alta Verapaz	En las hojas se ve una necrosidad que esta en las puntas y que avanza en forma descendente en las hojas	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 









CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Leather leaf</b> 	Purulha, Baja Verapaz	En el rizoma se encuentra un micelio de color café qu esta encima del mismo. Esta esta por dentro.	<b><i>Rosellinia necratix</i></b> 
<b>Aphelandra squarosa</b> 	Pueblo Nuevo Viñas, Sacatepequez	En la hoja se puede observar una mancha necrotica que esta en la nervadura principal media .que la quiebra a medida que avanza	<b><i>Verticilium sp</i></b> 
<b>Dracaena sanderiana</b> 	Asuncion Mita, Jutiapa	En las hojas se puede observar una mancha necrotica de forma alargada semicircular y sobre ella unos puntos negros que rodean la mancha.	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 
<b>Cissus sp</b> 	San Cristóbal, Coban, Alta Verapaz	En las hojas se pueden observar una cenicilla de color blanco que esta distribuida en cima de las hojas de la planta.	<b><i>Oidium sp.</i></b> 


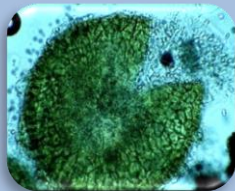
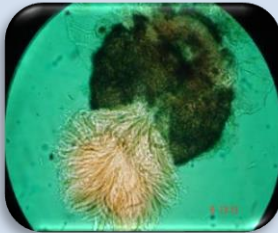

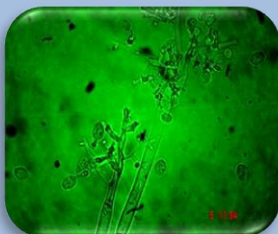

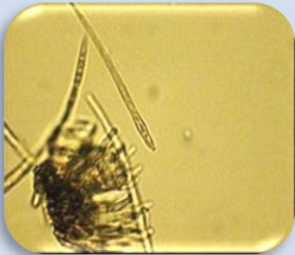








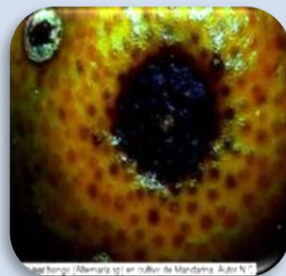

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Pothos hawaiian</b> 	Sanarate, Progreso	En las hojas de la planta se observa una mancha gris de forma circular alargada que estan en el haz de la hoja.	<b><i>Alternaria sp.</i></b> 
<b>Ave del Paraíso</b> 	Antigua, Sacatepequez	En las flores de la planta presentan una mancha gris en la punta. A medida que avanza se va necrosando.	<b><i>Leptosphaerulina sp.</i></b> 
<b>Tallo de Portulaca sp</b> 	San Miguel Dueñas, Sacatepequez	En la base del tallo se observa un ahogamiento de la planta y una pudrición.	<b><i>Pythium sp</i></b> 
<b>Areca sp</b> 	Puerto Barrios, Izabal	En las hojas se puede observar unas manchas de color gris de forma elíptica irregular rodeada de un halo café oscuro.	<b><i>Colletotrichum sp.</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Aralia sp</b> 	Masagua, Escuintla	En los tallos se observa una erupciones de un color negro que están sobre la corteza del tallo de la planta	<b><i>Botryodiplodia sp.</i></b> 
<b>Anthurium</b> 	Santa Lucia Cotzumalguapa, Escuintla	Manchas concentricas de forma irregular necroticas alargada rodeada de un halo amarillo	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 
<b>Sanseveria</b> 	Escuintla	En las hojas se observa una mancha alargada de color gris y sobre ella unas ropturas de la epidermis	<b><i>Botriyodiplodia sp</i></b> 
<b>Pothos</b> 	Salama, Baja Verapaz	Pudricion acuosa de color negro en los bordes de la hoja y partes medias.	<b><i>Phytophthora spp.</i></b> 




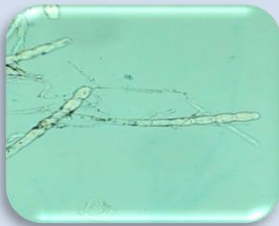



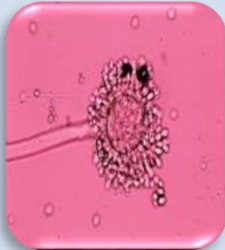









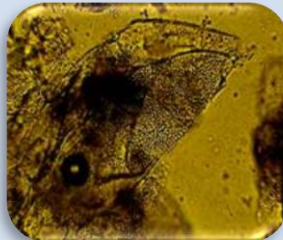
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Impatiens</b> 	San José Pinula, Guatemala	En las hojas se puede observar una mancha de color café en forma anillada	<b><i>Cercospora sp</i></b> 
<b>Orquideas</b> 	Coban, Alta Verapaz	En las hojas se aprecia la antracnosis de los ápices de una coloración café.	<b><i>Colletotrichum sp.</i></b> 
<b>Aralia</b> 	Coban, Alta Verapaz	En las hojas se puede observar una mancha concéntrica de color café en forma de anillo rodeada por un halo amarillo	<b><i>Alternaria sp</i></b> 
<b>Impatiens</b> 	San José Pinula Guatemala	En la planta se observa una pudrición del tallo y las raíces, la pudrición se observa de color negro que abarca desde el tallo hasta la raíz.	<b><i>Pythium sp.</i></b> 


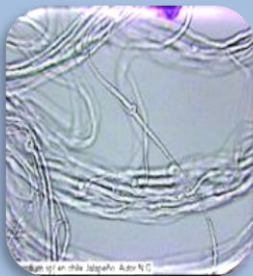
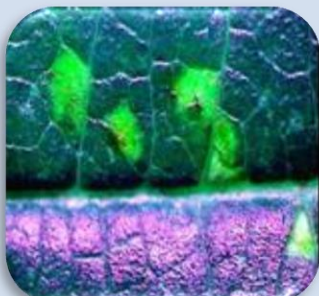

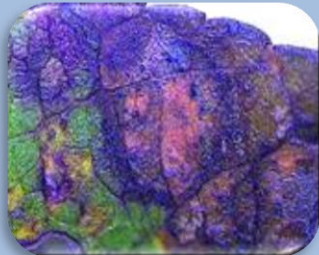
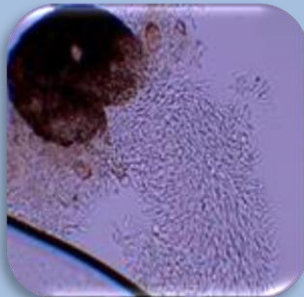

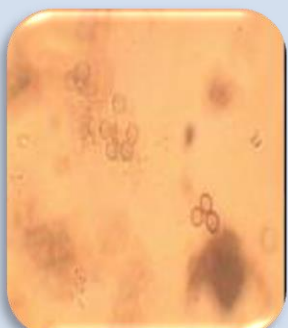
CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Peperomia</b> 	Zaragoza, Chimaltenango	En las hojas de la planta se puede observar una mancha concentrica de color café en el rodeada de un halo negro.	<b><i>Phoma sp</i></b> 
<b>Orquideas</b> 	Coban, Alta Verapaz	En las hojas se aprecia la antracnosis de los ápices de una coloración café.	<b><i>Glomerella sp.</i></b> 
<b>Cissus</b> 	Villa Canales Guatemala	En las hojas se puede observar una decoloracion de hoja y encima de ella una cenicilla de color blanco	<b><i>Plasmopara sp</i></b> 
<b>Achiote</b> 	San José Pinula Guatemala	En las hojas se observa manchas concéntricas de color café de forma redonda irregular rodeadas de un halo amarillo.	<b><i>Cercospora sp.</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Pepino</b> 	Laguna Retana, Jutiapa	En las hojas se puede observar manchas de color negro, las manchas tienen forma rectangular, angular algunas veces. se observa cenicilla de color negro.	<b><i>Pseudoperonospora</i> sp.</b> 
<b>Zanahoria</b> 	Patzicia, Chimaltenango	En las hojas del cultivo se puede observar una cenicilla de un color blanco sobre las hojas, esta cenicilla cubre toda el área foliar de las hojas	<b><i>Oidium</i> sp.</b> 
<b>Mandarina</b> 	Jutiapa, Jutiapa	En el fruto se pueden observar unos canchros en la cáscara del fruto de mandarina distribuidos en toda el área del mismo.	<b><i>Xanthomonas</i> sp.</b> 
<b>Mandarina</b> 	Jutiapa, Jutiapa	En el fruto se observan manchas negras circulares rodeadas de un halo amarillo en la cáscara del frutodistribuidas en todo el fruto.	<b><i>Alternaria</i> sp</b> 


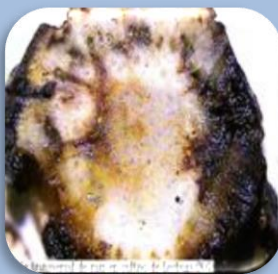

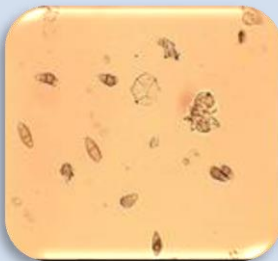











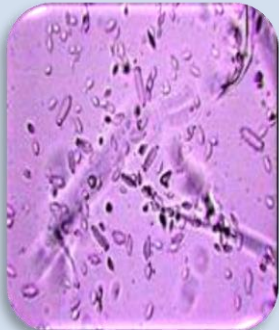

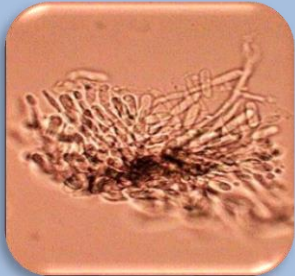


CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Café</b> 	San Pedro la Laguna, Solola	En las hojas del cultivo se puede observar unas manchas de colocación blanca algunas veces tienen un color marrón encima de ella.	<b>(Alga).</b> <b><i>Cephaleurus sp.</i></b> 
<b>Limon</b> 	Sta. Lucia Milpas Altas. Sacatepequez	En las hojas de los árboles se puede observar una cenicilla que esta distribuida en las hojas de una coloración blanca de forma esponjosa.	<b><i>Oidium sp.</i></b> 
<b>Naranja</b> 	Guanagazapa, Escuintla	Manchas localizadas en la hoja de forma circular de un color amarillo pálido en el interior un color café claro.	<b><i>Brevipalpus sp.</i></b> <b>(Vector del Virus de la Leprosis de los Citricos)</b> 
<b>Maíz</b> 	San Andrés Semetabaj, Solola	Pudrición de la mazorca , en los granos se puede observar un micelio de color blanco que crece encima de los mismos.	<b><i>Aspergillus sp</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Hoja de Papaya</b> 	La Gomera, Escuintla	Manchas de forma circular irregular con una coloración blanca distribuida en toda la hoja.	<b><i>Corynespora sp.</i></b> 
<b>Café</b> 	San Lucas Toliman, Solola	En las hojas se puede observar unas manchas circulares de un color necrotico y en el interior una coloración café pero mas pálida en esta hay unos puntos negros.	<b><i>Mycena sp.</i></b> 
<b>MORA</b> 	Comalapa, Chimaltenango	En el fruto de la mora se puede observar que hay una pudrición y a veces los frutos están negros.	<b><i>Botrytis sp.</i></b> 
<b>Brócoli</b> 	San Andres Semetabaj, Solola	En el cultivo se observan en las raíces unos tumores elongados y también deformaciones en las mismas.	<b><i>Plasmodiophora sp.</i></b> <b>(hernia de las coles)</b> 









CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Chile Pimiento</b> 	Tiquisate, Escuintla	La planta presenta en el cuello y en el tallo un micelio de color blanco de una forma esponjosa alrededor del tallo.	<b><i>Sclerotium sp.</i></b> 
<b>Durazno</b> 	Chimaltenango	En la hoja se pueden observar pústulas de una coloración café que estan cubriendo todo en área del foliolo de las plantas. que están rodeadas de un halo amarillo.	<b><i>Puccinia sp</i></b> 
<b>Durazno</b> 	Chimaltenango	Se puede observar que la hoja esta necrotica y allí se observan puntos negros de una forma circular que están saliendo del tejido.	<b><i>Diplodina sp</i></b> 
<b>Maiz</b> 	Playa Grande, Quiche	En las inflorescencias de la planta se observa que todas tienen encima una especie de ceniza de un color negro o gris.	<b><i>Ustilago sp.</i></b> 


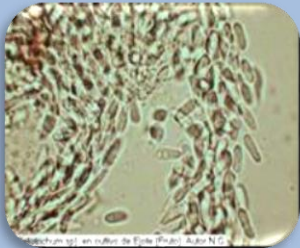

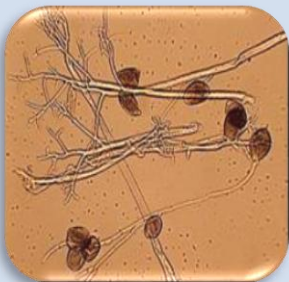



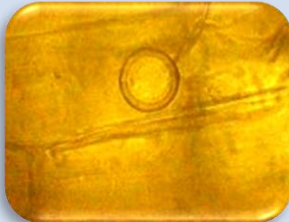



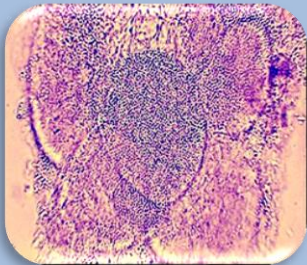

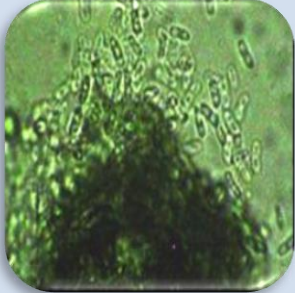

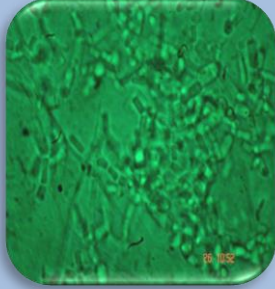


CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Lechuga</b> 	Chirijuyu, Chimaltenango	Se puede observar la pudrición de las hojas en una forma ascendente .pero en la base de la raíz hay pudrición también.	<b><i>Pseudomonas sp.</i></b> 
<b>Pasto estrella</b> 	San Lorenzo, Suchitepequez	Mancha en de color café oscuro en las hojas del pasto estrella que produce necrosis.	<b><i>Curvularia sp</i></b> 
<b>Maíz</b> 	Olopa, Chiquimula	En la hoja se puede observar una mancha necrótica de forma elipsoide en donde el interior s de color blanco y que esta rodeada de un halo café. Cabe mencionar que en el interior de la mancha hay un punto negro al centro de la mancha.	<b><i>Phyllachora sp</i></b> 
<b>Cebolla</b> 	Concepción, Solola,	Se observan que la planta esta amarillenta y el tallo se pueden apreciar una coloración negra que esta en forma localizada en la planta.	<b><i>Stemphylium sp.</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Tomate</b>  	Taxisco, Santa Rosa	En la hoja se observa cuando empieza la enfermedad unos puntos o manchas de color amarillo, a medida que avanza la enfermedad se va necrosando la hoja	<b><i>Cladosporium sp</i></b> 
<b>Calabacanes</b>  	Estanzuela, Zacapa	En el fruto se pueden observar lesiones en forma de galerías de un color blanco que cubren el fruto	<b><i>Cladosporium sp</i></b> 
<b>Rambutan</b> 	Coatepeque	El fruto presenta necrosidad de color café hasta abarcarlo todo.	<b><i>Colletotrichum sp.</i></b> 
<b>Orquideas</b> 	Coban, Alta Verapaz	En las hojas se presenta una necrosidad en forma circular que se distribuye en el haz y envez de las hojas	<b><i>Colletotrichum sp</i></b> 



CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Zucchini</b> 	Santiago, Sacatepequez	En el fruto se observa una mancha y un hundimiento de color café de forma circular	<b><i>Cladosporium sp</i></b> 
<b>Zucchini</b> 	Santiago, Sacatepequez	En el fruto se observa una marchitez aguanosa, al mismo tiempo se percibe un mal olor del fruto en la parte afectada.	<b><i>Erwinia sp.</i></b> 
<b>Tomate</b> 	Huehuetenango	En las hojas se observa una cenicilla en el haz y envés de la hoja de color grisácea	<b><i>Phytophthora sp.</i></b> 
<b>Chile Pimiento</b> 	Chimaltenango	En las hojas hay unas manchas circulares amarillas(haz) y en el envés una cenicilla color blanco	<b><i>Leveillula sp.</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Ejote</b> 	Chimaltenango	En las espigas se observan manchas concéntricas necroticas distribuidas en toda el área de la espiga	<b><i>Colletotrichum sp.</i></b> 
<b>Guicoy</b> 	Santiago, Sácate peques	En las hojas se puede observar pequenas manchas de forma irregular de coloracion grisasea o seca que se ve en el haz y envez de la hoja	<b><i>Pseudoperonospora sp.</i></b> 
<b>Guayaba</b> 	Mazatenango	Se observan manchas de forma redonda de una coloración marrón distribuidas en todo el haz de la hoja	<b><i>Alga Cephaleurus sp</i></b> 
<b>Clavel</b> 	Sumpango,	En la planta se observa un ahogamiento en la base de la misma sus raíces dañadas.	<b><i>Pythium sp</i></b> 

CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Repollo</b> 	Patzicia, Chimaltenango	En la planta se observa que hay una deformación en las raíces principal y laterales, se observan nódulos grandes y pequeños	<b><i>Plasmidiophora sp.</i></b> 
<b>Arveja china</b> 	Zaragoza, Chimaltenango	En las hojas se pueden observar manchas concéntricas distribuidas en toda el área foliar.	<b><i>Ascochyta sp</i></b> 
<b>Tomate</b> 	Taxisco, Santa Rosa.	En el fruto de tomate se observa una pudricion, al mismo tiempo se percibe un mal olor, sobre el tomate se observa un micelio de color blanco.	<b><i>Syncitrium sp</i></b> 
<b>Nispero</b> 	San Lucas Sacatepequez	En los frutos se observan unas manchas de color café de forma circular a veces se puede apreciar tambien en forma de costra.	<b><i>Fusicladium sp</i></b> 



CULTIVO	PROCEDENCIA	SINTOMATOLOGIA	FIGURA: AGENTE CAUSAL
<b>Papaya</b> 	Santa Lucia Cotzulmalguapa Escuintla	En el fruto se puede observar unos puntos de una coloración café que están sobre la epidermis del fruto	<b><i>Cladosporium sp.</i></b> 
<b>Cardamomo</b> 	Coban, Alta Verapaz	En los frutos se observa deformación de las mismas y pequeñas costras sobre él de color grisácea.	<b><i>Sphaceloma sp</i></b> 
<b>Pimiento</b> 	Taxisco, Santa Rosa.	En el fruto se observa que la maduración tiene cambios de color en algunas partes del fruto de amarillo a verde.	<b><i>Daño fisiológico por luz</i></b> 
<b>Arveja China</b> 	San Lucas Sacatepequez	En los frutos se observan unas manchas concéntricas de forma redonda y a la vez existe pudrición sobre ella. También se ve un micelio de color blanco sobre la lesión	<b><i>Sclerotium sp</i></b> 

FUENTE: Autor.

### 3.4 Evaluación

Se cumplió con los objetivos de realizar una colección pictográfica de las principales enfermedades que se encuentran afectando a los cultivos del país. El cual puede ser utilizado como una herramienta para la determinación e identificación de los diferentes agentes fitopatógenos, esta describe una porción de los diferentes cultivos, así como de las distintas enfermedades que afectan a la agricultura del país.

### 3.5 Revisión bibliográfica

1. Agrios, GN. 1989. Fitopatología, enfermedades de plantas. Trad. Manuel Guzmán. México, LIMUSA. 756 p.
2. Ainsworth, GC. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Surrey, Kew, UK, Commonwealth Mycological Institute New. 608 p.
3. Barnett, HL; Hunter, BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Minneapolis, USA, Burgess Publish. 241 p.
4. CAB International, UK. 2003. Crop protection compendium. United Kingdom. 3 CD.
5. Ellis, MB. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Surrey, Kew, UK, Commonwealth Mycological Institute New, 608 p.
6. Halin, RT. 1992. Illustrated genera of ascomycetes. US, American Phytopathological Society. 263 p.
7. Joseph, CH. 1962. Manual of the rust in United States and Canada. New York, US, Hafner Publishine. 437 p.
8. Sutton, BC. 1980. The coelomycetes. Surrey, Kew, UK, Commonwealth Mycological Institute New. 2v, 696 p.

#### **4. Servicio 3. PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN EL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD, LABORATORIO DE DIAGNOSTICO FITOSANITARIO, UNR-MAGA, DE GUATEMALA.**

##### **4.1 Objetivos**

- **General**
- Que el personal del Laboratorio aprenda la importancia y los procedimientos básicos en las prácticas agrícolas.
- **Específico**
- Que el personal conozca las principales técnicas y procedimientos para la implementación y producción del cultivo de chile jalapeño.

##### **4.2 Metodología**

Durante la ejecución del EPS en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, se planeó la ejecución de las prácticas agrícolas en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS).

Siendo esta una de las prácticas que no se había implementado al personal, ya que las personas carecían de los conocimientos de cada uno de los procesos para obtener la materia prima de un cultivo ya sea para su propio consumo o para beneficio económico.

Como primer paso se pidió una audiencia al jefe del Laboratorio Nacional de Salud que estaba a cargo, siendo este el Lic. Ismael Mansilla en donde se le planteó el motivo para dar dicha práctica ya que los terrenos del laboratorio se encontraban en un abandono y las áreas verdes del mismo se encontraban en el mismo perfil ya que solo existe una persona en este caso que es el jardinero no podía cubrir a recuperar toda el área del laboratorio por falta de su tiempo asignado. Satisfactoriamente se dio su positiva aprobación para impartir las prácticas y se mandó una circular a todo el personal en donde especificaba que las personas que tuvieran el interés y tiempo de asistir a las prácticas lo podían hacer.

**a) Tiempo requerido para las prácticas:**

El personal que estaba interesado en recibir las prácticas agrícolas se acercó a las instalaciones del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario para saber de cuanto iba a comprender el tiempo de las prácticas. Satisfactoriamente se pudo lograr que le dieran al personal un tiempo de 40 minutos 2 veces a la semana durante el todo ciclo del cultivo establecido y la recuperación del las áreas verdes. El cultivo a establecido fue de Chile Jalapeño.

**b) Personal:**

El personal que estaba interesado en recibir la práctica estaba constituido por 11 personas que las constituyeron las diferentes unidades como: Medicamentos, Contaminantes, Virologia, Diagnostico Humano, Salud, y el personal técnico del Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario.



**Figura 37.** Personal del Laboratorio Nacional de Salud que recibió las Practicas Agrícolas.

**c) Establecimiento del terreno:**

Para la realización de las prácticas agrícolas fue asignada toda el área de los límites del Laboratorio Nacional de Salud al menos aquella que estuviera apta para el cultivo. Cabe mencionar que no se utilizó todas las áreas, ya que en áreas de los límites

existe infraestructura del laboratorio. Aproximadamente para el primer ensayo se dispuso de un terreno que media 75 metros cuadrados. El total de ensayos fue de 3 por el escaso personal interesado.



**Figura 38.** Área del terreno asignado

#### **d) Importancia del Cultivo establecido:**

Además de haber logrado obtener el tiempo del personal se les repartió unos folletos sobre la importancia de la agricultura y del cultivo implementado en este caso el personal prefirió que se sembrara en determinada área el cultivo de chile jalapeño. En base a un consenso de todas las personas que conformaban el grupo de trabajo se llegó a una conclusión en el cual se determinó el cultivo que más les pareció sembrar en el área específica.

#### **e) Procedimiento para la compra de pilones del cultivo:**

Para establecer el cultivo de chile jalapeño se tuvo disposición a hacer las respectivas cotizaciones del costo de las plántulas de determinado cultivo. Para ello se tuvo a disposición y a la vista las cotizaciones de Pilones de Antigua, Pegón Piloncito, y por último una cotización de la escuela de Agricultura ENCA.



Todo el trámite se realizó por medio de visitas a páginas virtuales por medio de Internet y llamadas telefónicas a dichas empresas. Teniendo como resultado a la mejor selección de la cotización de precios de pilones de Chile Jalapeño a Pegón Piloncito.

#### **f) Compra de pilones:**

Para la compra de pilones del cultivo se trasladó hasta la empresa de Pegón Piloncito más cercana, en un vehículo dado por el Laboratorio Nacional de Salud ya que la empresa está ubicada en Aldea el Jocotillo, Villa Canales en donde se hizo la compra de 500 plántulas del cultivo. A un costo total de Q. 300.00, que fueron colectados por el grupo de trabajo.

### **4.3 Resultados**

En colaboración del grupo de trabajo se pudo establecer a diferentes grupos de 3 personas para hacer determinadas tareas asignadas para limpieza, fertilización y control sanitario del cultivo y la cosecha del cultivo.

#### **4.3.1. Limpia del terreno:**

Ya establecido el área de trabajo se hizo la primera práctica agrícola, en este caso se limpió toda el área de terreno, ya que existía bastante maleza en toda el área, con la utilización del siguiente material:

**Cuadro 17. Material utilizado para limpiar el área para el cultivo.**

<b>Material</b>	<b>Cantidad</b>
Azadones	4
Rastrillos	3
Costales de plástico	10
Azadines	3



**Figura 39.** Limpia del área para el cultivo.

#### **4.3.2. Implementación de la técnica realización de camellones para la siembra del cultivo y uso de Materia Orgánica:**

Ya limpio el terreno se implemento la realización de camellones del suelo a una altura de 20 centímetros, con un total de 6 camellones. Como bien se sabe que la agricultura orgánica es de gran beneficio para cada uno de los cultivos, es por ello que también se implemento esta practica. Se hizo contacto con el Departamento de Agricultura Orgánica del MAGA- edificio la Ceiba ubicado en el Km. 22, donde se nos proporciono material como lo es el Lombricompost el cual se obtuvo de aboneras que estaban a un costado del Laboratorio Nacional de Salud. Este lombricompost se homogenizo con el suelo donde estuvieron los surcos del cultivo, el total de lombricompost donado fue de de 3 quintales este fue aplicado a cada ensayo del cultivo.



**Figura 40.** Realización de camellones y aplicación de Lombricompost.

#### 4.3.3. Siembra del cultivo en el área específica:

Esta práctica fue realizada por el personal femenino de los grupos de trabajo siendo este supervisado por el personal del técnico del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario.



**Figura 41.** Siembra del cultivo

#### 4.3.4. Densidad de Población del cultivo:

Distanciamiento entre plantas de 20 cm y 30, 60 cm entre surcos a hilera sencilla, dando una población de 150 plantas por ensayo.



**Figura 42.** Establecimiento de la densidad del cultivo.

#### 4.3.5. Fertilización:

La primera fertilización se hizo al momento del transplante, una segunda a los 15 días del cultivo establecido y de allí a cada 15 días durante el ciclo del cultivo fue requiriendo. Para la fertilización se hizo uso de varios fertilizantes granulados y foliares en el cual se utilizaron Nitrógeno (urea al 46 %), con 2 aplicaciones, al momento de transplantar los pilones y a mitad del ciclo cultivo. Triple 15 (N, P, K), con 2 aplicaciones a los 15 días de haber hecho el transplante y a mitad del ciclo del cultivo. Aplicaciones de fertilizantes de K para el amarre de frutos.

Cabe mencionar que para las aplicaciones de fertilizantes se pudo establecer en cantidades pequeñas por que el área donde estaba establecido el cultivo.



**Figura 43.** Fertilización del cultivo y su floración.

#### 4.3.6. Tutorado

Esta práctica fue imprescindible para mantener la planta erguida, ya que los tallos del cultivo se partieron al principio con mucha facilidad.

Para esto se considero la modalidad de:

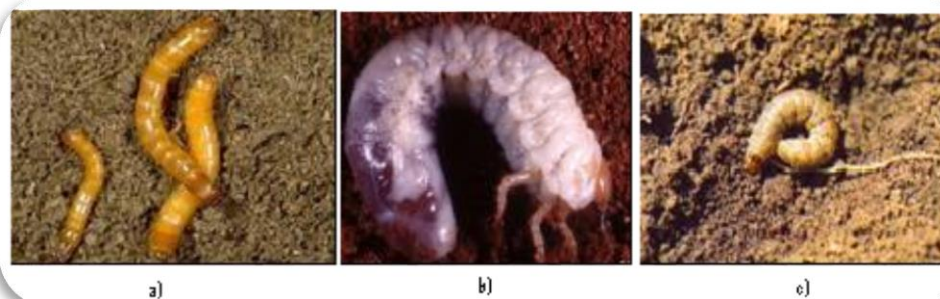
##### 4.3.6.1 Tutorado tradicional:

Consistió en colocar hilos de polipropileno (rafia) y palos en los extremos de las líneas de cultivo de forma vertical, que se unen entre si mediante hilos horizontales pareados dispuestos a una distinta altura que sujetaron a las plantas entre ellos.



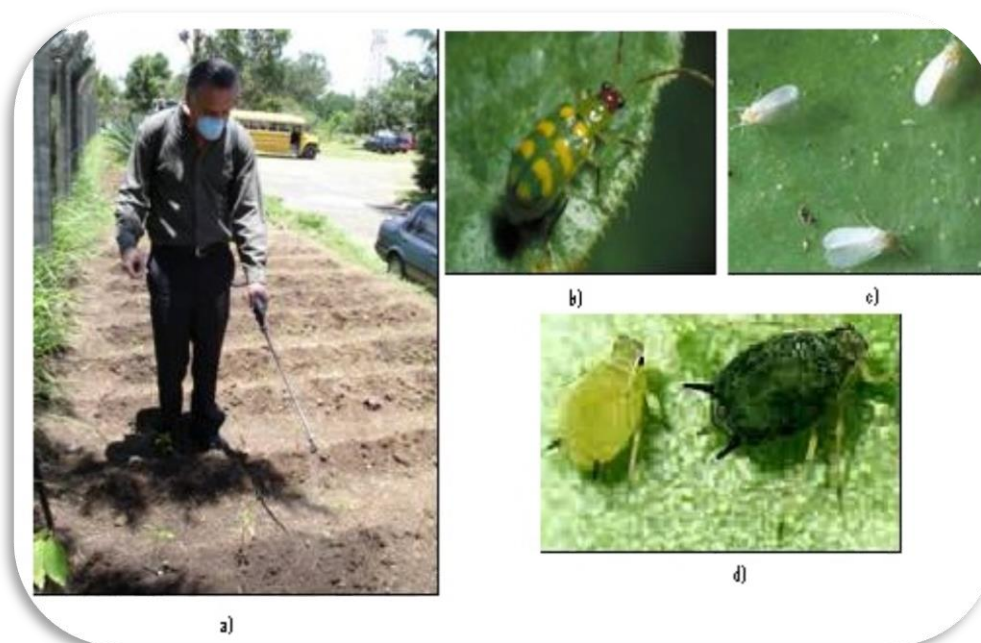
#### 4.3.7. Manejo fitosanitario para plagas y enfermedades del cultivo:

En el tema fitosanitario se llevo a cabo desde el transplante del cultivo, ya que las condiciones ambientales favorecían a la incidencia de plagas y enfermedades por ser una época lluviosa (época de invierno). Se determinaron plagas del suelo como: gusano alambre, gallina ciega, gusano nochera, en el cual se aplico Mocap 10 GR.



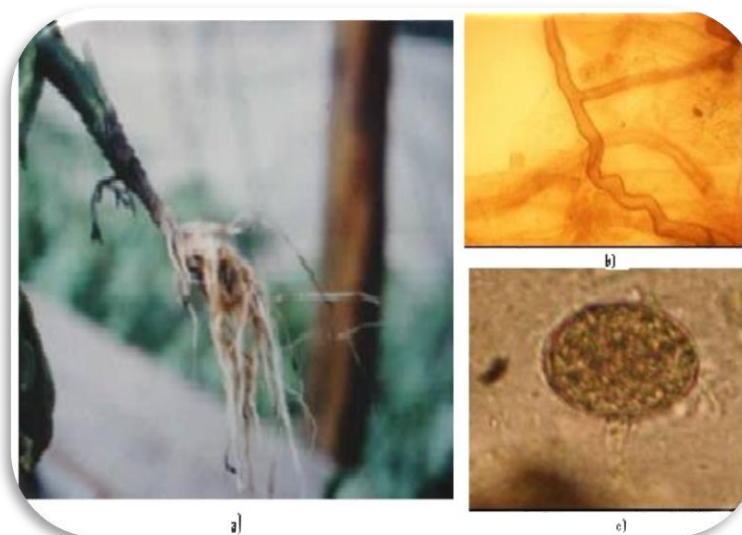
**Figura 44.** Plagas de suelo encontradas en el área del cultivo a) *Agriotes* sp, b) *Phyllophaga* sp, c) *Agrotis* sp.

También se determinaron insectos de follaje, para tal tema se tuvo la incidencia de *Diabrotica* spp, mosca blanca y pulgones, para la protección del follaje se hizo uso de los insecticidas como Confidor 70 WG y Monarca.



**Figura 45.** a). Aspersión de insecticidas contra plagas b). *Diabrotica* sp. c). *Trialeurodes* sp, d). *Aphis* sp

Las enfermedades encontradas del suelo y cultivo, como mal del talluelo, provocado por *Rhizoctonia* sp y *Pythium* sp para lo cual se aplicó el Fungicida de nombre comercial Previcur N 72 SL.



**Figura 46.** Daño por *Rhizoctonia* y *Pythium* sp en tallo de chile jalapeño.

Enfermedades foliares como *Alternaria* y *Cercospora* spp para el cual se aplico el fungicida de nombre comercial Flint 50 WG.



**Figura 47.** Mancha en la hoja ocasionada por el hongo *Cercospora* sp

#### 4.3.8. Cosecha.

Para cosechar el cultivo se tomo el criterio de varias características del producto como la buena forma del fruto, tamaño, color, frutos uniformes.



**Figura 48.** Fructificación del cultivo de chile jalapeño en el Laboratorio Nacional de Salud.

## 5. Evaluación

El personal del Laboratorio Nacional de Salud aprendió, conoció, las técnicas y procedimientos para la producción del cultivo de Chile Jalapeño quedando satisfechos por los resultados obtenidos, en este caso se obtuvo la materia prima del cultivo para su propio consumo.

## 6. Revisión bibliográfica

- Kindersley, D. 1983, Un jardín dentro de casa. México, Reader's Digest. 480p
- Mölzer, V. 1978. Plantas de jardín. Madrid, España, Ediciones Artia. 312p.
- [www.maine.gov/.../veg/EWW\\_agriotes-sp01.jpg](http://www.maine.gov/.../veg/EWW_agriotes-sp01.jpg)
- [www.redepapa.org/agrotis.jpg](http://www.redepapa.org/agrotis.jpg)
- [www.texasento.net/balteata.htm](http://www.texasento.net/balteata.htm)
- [www.ceaecuador.org/.../mosca\\_blanca.jpg](http://www.ceaecuador.org/.../mosca_blanca.jpg)
- [www.forestryimages.org/images/192x128/5224011.jpg](http://www.forestryimages.org/images/192x128/5224011.jpg)