

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter sp.*, agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016.

ERICK MAURICIO RAMÍREZ CORDOVA

Guatemala, octubre de 2017

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

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016.

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

POR

ERICK MAURICIO RAMÍREZ CORDOVA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

Guatemala, octubre de 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO ING. AGR.	Ing. Agr. Mario Antonio Godinez López
VOCAL PRIMERO	Dr. Tomás Antonio Padilla Cámara
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. M.Sc. César Linneo García Contreras
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. M.Sc. Erberto Raúl Alfaro Ortiz
VOCAL CUARTO	P. Agr. Walfer Yasmany Godoy Santos
VOCAL QUINTO	P. Contador. Neydi Yasmine Jucarán Morales
SECRETARIO	Ing. Agr. Juan Alberto Herrera Ardón

Guatemala, octubre de 2017

Guatemala, octubre de 2017

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: Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016, 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”

ERICK MAURICIO RAMÍREZ CORDOVA

TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A:

Dios

Por acompañarme, guiarme para la toma de decisiones y bendecir a mi familia en todo momento.

Mis padres

Juan Heberto Ramírez Suarez y Olga Leticia Córdova Méndez por su apoyo incondicional, sus palabras y consejos brindados en el transcurso de mi carrera, gracias por el sacrificio que realizaron en cada momento para culminar mi carrera.

Mis hermanos

Walter Emilio Ramírez Córdova y Mario Alejandro Ramírez Córdova por animarme y motivarme a seguir adelante.

Mi novia

Laura Cristina Xoyón Reyes por su apoyo incondicional en cada momento de mi carrera.

Mis amigos y amigas

Por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Mi casa de estudios

Universidad de San Carlos de Guatemala especialmente a la Facultad de Agronomía por brindarme las herramientas académicas necesarias.

Mi supervisor

Dr. Hugo Cardona Castillo por sus consejos de motivación y apoyo brindado.

Mi asesor

Dr. Amílcar Sánchez por sus consejos de motivación y apoyo brindado.

Al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR – MAGA.

Por darme la oportunidad de realizar el Ejercicio Profesional Supervisado -EPS-.

Dirección de Sanidad Vegetal VISAR – MAGA.

Por el apoyo para la culminación de mi trabajo de graduación.

A mis amigos del laboratorio

Lic. Andres Avalos, Ing. Rubén Estrada, Nelson García, Amílcar, Luis, Guiller, Diana, Joana, Eliot, Ing. Ana Cofiño, Mirna y Barbara, Anival, Ing. Menéndez por compartir sus conocimientos conmigo por su apoyo y acompañamiento en la realización de los análisis de laboratorio.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	IX
CAPÍTULO I	
Diagnóstico del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR), Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), Carretera al Pacífico, kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.....	1
1.1 Introducción.....	3
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Antecedentes	3
1.3.1 Ubicación.....	4
1.3.2 Misión	5
1.3.2 Visión.....	5
1.3.4 Servicios que presta el área de Análisis Molecular	5
1.3.4.1 Diagnóstico fitosanitario	5
1.3.4.2 Análisis de riesgo de enfermedades.....	6
1.3.4.3 Análisis técnico.....	6
1.3.5 Costo de analisis	6
1.3.6 Usuarios del área Análisis Molecular del LDF	6
1.3.7 Descripción del área Análisis Molecular de LDF	7
1.3.8 Flujo de muestras del área de Análisis Molecular del LDF del MAGA.....	7

//

CONTENIDO	PÁGINA
1.4	Objetivos.....8
1.5	Metodología9
1.5.1	Primera Fase.....11
1.5.1.1	Obtención de información de fuentes secundarias.....11
1,5,1.2	Observación del funcionamiento de la unidad.....11
1.5.2	Segunda Fase..... 9
1.6	Resultados10
1.6.1	Mapa mental del análisis de área de Análisis Molecular del LDF.. 11
1.6.2	Análisis FODA del área de Análisis Molecular de LDF 14
1.7	Conclusiones.....16
1.8	Recomendaciones17
1.9	Bibliografías18
CAPÍTULO II	
Detección de la bacteria <i>Candidatus liberibacter sp.</i> , agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016.....18	
2.1	Introducción21
2.2	Marco Teórico23
2.2.1	Marco Conceptual 23
2.2.1.1	Clasificación taxonómica de los cítricos 23
2.2.1.2	El Huanglongbing..... 24
2.2.1.3	Sintomatología 25
2.2.1.4	El insecto vector de <i>Candidatus liberibacter sp.</i> 26
2.2.2.4.1	Taxonomía. 27

CONTENIDO	PÁGINA
2.2.1.4.2	Huevo.....27
2.2.1.4.3	Ninfa.....28
2.2.1.4.4	Adulto.....28
2.2.1.5	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....29
2.2.1.6	Electroforesis en gel de agarosa.....31
2.2.1.7	Situación actual, regulación y estrategias para el control del HLB.....32
2.2.1.7.1	Resultados esperados de la estrategia regional establecida.....33
2.2.2	Marco Conceptual.....34
2.2.2.1	Ubicación.....34
2.2.2.2	Situación de HLB en Guatemala al año 2017.....34
2.2.3	Objetivos.....36
2.2.3.1	Objetivo General.....36
2.2.3.2	Objetivos Específicos.....36
2.2.4	Metodología.....37
2.2.4.1	Diagnóstico molecular de la bacteria.....37
2.2.4.1.1	Protocolo del ingreso de la muestra al LDF.....38
2.2.4.1.2	Método de extracción de ADN.....38
2.2.4.1.3	Preparación de gel de agarosa y electroforesis.....40
2.2.4.1.4	Electroforesis para visualizar el producto de PCR.....42
2.2.4.1.5	Tamaño de la banda amplificada.....42
2.2.4.1.6	Metodología para determinar el número de plantas infectadas.....42
2.2.4.1.7	Metodología para generar un mapa con la distribución actual.....43
2.2.5	Resultados y discusión.....44

IV

CONTENIDO	PÁGINA	
2.2.6 Conclusiones.....	53	
2.2.7 Recomendaciones	54	
2.2.8 Bibliografía	55	
2.2.9 Anexos 1 A. Cuadro de Datos de HLB	55	
CAPÍTULO III		
Servicios prestados en el área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR) del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA)		96
3.1 Introducción	97	
3.2 Marco Referencial.....	98	
3.2.1 Localización	98	
3.3 Objetivo General	99	
3.4 Servicio No. 1. Inspección del manejo Fitosanitario.....	99	
3.4.1 Objetivo General	99	
3.4.2 Metodología	100	
3.4.3 Resultados.....	101	
3.4.4 Conclusiones.....	104	
3.4.5 Recomendaciones.....	104	
3.5 Servicio 2. Protocolo de Bioseguridad del área de Análisis Molecular del LDF...105		
3.5.1 Objetivo General	105	
3.5.2 Metodología.....	106	
3.5.3 Resultado.....	107	
3.5.3.1 Protocolo de Bioseguridad elaborado por el estudiante de EPS.....	108	
3.5.4 Conclusiones.....	109	
3.5.5 Recomendaciones	109	

CONTENIDO	PÁGINA
3.6 Bibliografía.....	110
3.7 Anexos.....	111
3.7.1 Anexo 2A. Muestreo de trampa colocada en el ingreso al invernadero.....	111

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
Cuadro 1. Análisis de Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas FODA.....	14
Cuadro 2. Resumen de resultados de las muestras del tejido <i>Candidatus</i> <i>liberibacter</i> sp.....	44
Cuadro 3. Porcentaje de muestras con diagnóstico positivo o negativo de <i>Candidatus</i>	46
Cuadro 4. Distribución de frecuencia de la proveniencia de las muestras de HLB	47
Cuadro 5. Distribución de frecuencia de las muestras analizadas con presencia positiva.....	49
Cuadro 6A. Recopilados y sistematizados en los departamentos de Guatemala.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1. Mapa mental de aspectos del área de Análisis Molecular.....	11
Figura 2. Huevo de <i>Diaphorina citri</i>	27
Figura 3. Estados ninfales de <i>Diaphorina citri</i>	28
Figura 4. Estado adulto de <i>Diaphorina citri</i>	29
Figura 5. Estructura de Reacción en Cadena de la Polimerasa	31
Figura 6. Hojas de cítricos con sintomatología de HLB y nervaduras de hojas de cítrico.....	38
Figura 7. Fotografía de gel de agarosa con productos de PCR con resultado positivo.....	48
Figura 8. Distribución geográfica de <i>Candidatus liberibacter</i> en Guatemala	50
Figura 9. Localización de LDF.....	98
Figura 10. Inspección de trampas para detectar <i>Diaphorina citri</i> en el invernadero ...	101
Figura 11. Inspección fitosanitaria del invernadero del MAGA	102
Figura 12. Invernaderos de cítricos del MAGA	102
Figura 13. Ferti-riego del invernadero del MAGA	103
Figura 14. Muestreo de la presencia de <i>Candidatus liberibacter</i> sp.....	103
Figura 15A. Corredor del invernadero.....	111

RESUMEN GENERAL

Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter sp.*, agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016.

El programa de Ejercicio Profesional Supervisado de la Facultad de Agronomía, EPSA de la Universidad de San Carlos de Guatemala, FAUSAC colabora en la solución a diversas problemáticas agrícolas de gran importancia para la sociedad en guatemalteca.

Debido a que el cultivo de cítricos es de gran importancia económica como fuente generadora de empleo e ingreso de divisas para Guatemala, además de la alta demanda en el mercado nacional e internacional, se decidió efectuar el EPS en el departamento de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación para controlar la enfermedad HLB causada por *Candidatus liberibacter sp.*

La práctica profesional tiene una duración de 10 meses y se compone de tres fases, la Primera Fase es el Diagnóstico, la Segunda Fase la Investigación y la Tercera Fase los Servicios.

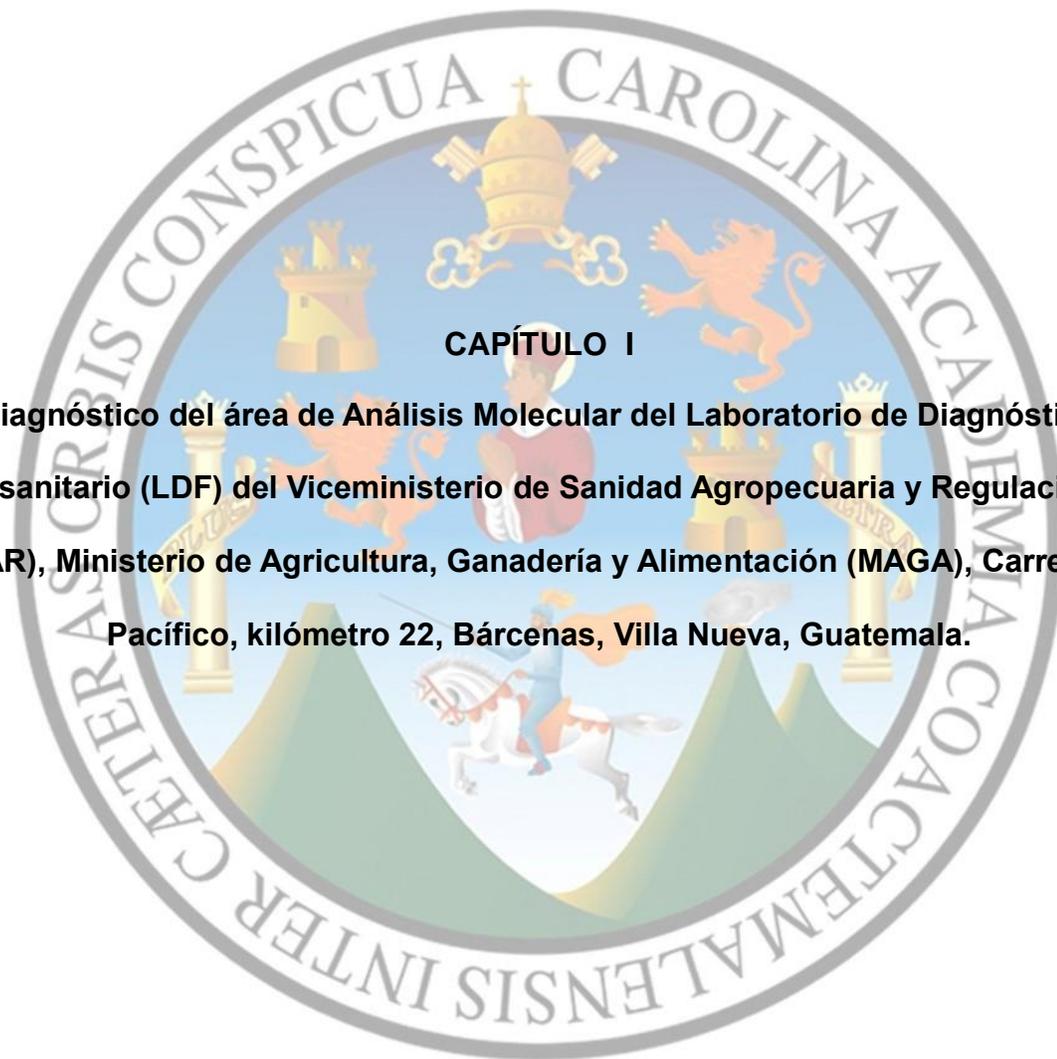
En el Capítulo I, se describe la Primera Fase que consiste en un diagnóstico del área de Análisis Molecular del Laboratorio Fitosanitario MAGA. El análisis de Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas (FODA) identificó que la problemática más importante es la falta de personal para realizar los análisis moleculares pertinentes, así como la falta de infraestructura para el desempeño laboral.

En el Capítulo II, se describe la Fase de Investigación sobre la enfermedad de HLB causada por *Candidatus liberibacter sp.*, la cual provoca pérdidas económicas, causando una reducción en las exportaciones hasta de un 25 % y puede llegar a provocar pérdidas totales de la producción, como la eliminación completa del cultivo.

De 245 muestras, que se obtuvieron, 43 fueron positivas, el 44.18% de estas fueron colectadas en el departamento de Alta Verapaz, el 25.58 % en Suchitepéquez, 16.26 % Guatemala, el 2.32 %, en Jutiapa, el 6.97 % en Escuintla, 2.32 % en Baja Verapaz y Santa Rosa con el 2.32 %.

Los resultados servirán para la toma de decisiones del programa HLB conformado por MAGA y Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), para la prevención, erradicación y control fitosanitario, coadyuvando a frenar la dispersión de la bacteria y el vector a los demás departamentos aún libres del HLB.

En el Capítulo III, se describen los diferentes servicios que se realizaron de febrero a noviembre del 2016 en los invernaderos del MAGA, kilómetro 22. En el invernadero no se detectaron plagas ni enfermedades debido a que se mantiene un buen manejo fitosanitario dentro y fuera del invernadero.



CAPÍTULO I

Diagnóstico del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR), Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), Carretera al Pacífico, kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

1.1 Introducción

El presente trabajo se realizó como parte del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) de la Facultad de Agronomía de Universidad de San Carlos de Guatemala (FAUSAC). El diagnóstico es importante para que el estudiante comprenda la condición tanto externa como interna en todos los aspectos del área del EPS. El diagnóstico tiene el propósito fundamental de conocer el área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) VISAR-MAGA y permitió conocer la situación de la Institución permitiendo generar información para que la misma sea utilizada por el Despacho Ministerial para la toma de decisiones y ejecución de la Política Agropecuaria.

1.2 Planteamiento del problema

El área de Análisis Molecular, es un área nueva en el LDF del MAGA, Kilometro 22, y no cuenta aún con personal capacitado para realizar los procesos necesarios que requiere el análisis de enfermedades a nivel molecular, así como para procesar los datos de muestras vegetales de diferentes cultivos con diferentes enfermedades epidemiológicas. El objetivo de este diagnóstico es demostrar la falta del recurso humano capacitado para la obtención de resultados seguros, ya que sin este personal se ve afectada al área de Biotecnología, y como consecuencia de ello, no se puede cumplir con la responsabilidad de generar información sobre enfermedades cuarentenarias, que son catalogadas como un problema que afecta a nuestro país.

1.3 Antecedentes

El Decreto Gubernativo número 14, del 24 de agosto de 1871, suprimió el Consulado de Comercio y estableció el Ministerio de Fomento para la protección y mejora del comercio,

agricultura, ganadería, artes, industrias, obras públicas, líneas telegráficas, caminos, puentes, puertos y otros medios de comunicación.

En 1899, con el Acuerdo Gubernativo del 1 de agosto, fue creada la Dirección General de Agricultura, la cual en ese momento se encontraba adscrita al Ministerio de Fomento. Veintiún años después con el Acuerdo Gubernativo del 2 de abril de 1920, se crea la Secretaría de Estado en el Despacho de Agricultura y Trabajo.

El Ministerio de Agricultura, fue creado a través del Decreto Legislativo No. 1042 de fecha 21 de mayo de 1920, sin embargo se le llamó Secretaria de Agricultura hasta 1933. En el Decreto Gubernativo, del año 1944, se le denominó Secretaria de Estado en el Despacho de Economía y luego Secretaria de Agricultura y Minería.

En 1945 por Decreto Legislativo No. 93 del 25 de abril se le llamo Ministerio de Agricultura, hasta diciembre 1981 cuando el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación recibió el nombre que hasta la fecha conserva, por medio del Decreto Legislativo No. 51-81.

1.3.1 Ubicación

Actualmente la sede central del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, se encuentra en la zona trece de la ciudad capital, pero el área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de Normas y Regulaciones del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- se ubica dentro de las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública en el kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala, y es en esta en la que se realiza el presente trabajo de diagnóstico (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT. 2012).

1.3.2 Misión del MAGA

Oficialmente la misión del MAGA se presenta así.

“Somos una Institución del Estado, que fomenta el desarrollo rural integral a través de la transformación y modernización del sector agropecuario, forestal e hidrobiológico, desarrollando capacidades productivas, organizativas y comerciales para lograr la seguridad y soberanía alimentaria y competitividad con normas y regulaciones claras para el manejo de productos en el mercado nacional e internacional, garantizando la sostenibilidad de los recursos naturales” (MAGA, 2016).

1.3.3 Visión del MAGA

Oficialmente el MAGA indica tener la siguiente visión.

“Ser una institución pública eficiente, eficaz y transparente que promueve el desarrollo sustentable y sostenible del sector, para que los productores agropecuarios, forestales e hidrobiológicos, obtengan un desarrollo rural integral a través del uso equitativo de los medios de producción y uso sostenible de los recursos naturales renovables, mejorando su calidad de vida, seguridad y soberanía alimentaria, y competitividad” (MAGA, 2016).

1.3.4 Servicios que presta el área de Análisis Molecular

1.3.4.1 Diagnóstico fitosanitario

- Análisis moleculares para la detección de *Huanglongbing (HLB)*
- Análisis moleculares para la detección de *Xylella fastidiosa(CVC)*.
- Análisis moleculares para la detección Citrus *Leprosis (CiLV)*.
- Análisis moleculares para la detección Tristeza de los cítricos (CTV).
- Análisis moleculares para la detección de Viroide de *exocortis* de los cítricos (CEVd)
- Análisis moleculares para la detección de Viroide de caquexia de los cítricos (CCaVd).
- Cancro cítrico Bacteriano, *Xantomonas axonopodis* pv.citri, *Xantomonas citri* subsp. Citri (Xac).

1.3.4.2 Análisis de Riesgo de Enfermedades

Análisis moleculares con importancia en cultivo de cítricos de exportación.

1.3.4.3 Análisis técnico

Análisis de muestras en tejido vegetal.

Monitoreo de plantas.

Prácticas agrícolas.

1.3.5 Costo del análisis

El costo de los análisis moleculares es de un equivalente a US \$ 9.37 por análisis efectuado, se paga conforme al cambio del día propuesto por el Banco de Guatemala.

1.3.6 Usuarios del área Análisis Molecular del LDF

1. Sistema de Vigilancia Fitosanitaria.
2. Programa Fitosanitario HLB.
3. Programa Integral de Protección Agrícola y Ambiental-PIPAA (Ornamentales, Café limón, Naranja, Papaya, plantas ornamentales).
4. Empresas agrícolas y forestales (empresas productoras de semillas, agroexportadores).
5. Cooperativas agrícolas.
6. Asociaciones de productores y gremiales de cítricos.
7. Personas individuales o empresas.

1.3.7 Descripción del área de Análisis Molecular del LDF

El área de Análisis Molecular del LDF se dedica a diagnosticar enfermedades a nivel molecular, es decir que el laboratorio recibe muestras de frutos, hojas, ramas, raíces los cuales son analizados con la técnica de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR), y estas a su vez, analizadas y observadas por el personal que integra el área de Análisis Moleculares, para luego dar un resultado de confiabilidad a la institución o persona que requiera el análisis.

El recurso humano del área de Análisis Molecular del LDF está constituido por un profesional en el campo de la Biotecnología y un técnico especializado en el área. El Profesional Técnico, a cargo del área Análisis Molecular, es actualmente jefe del LDF.

1.3.8 Flujo de muestras del área de Análisis Molecular del LDF del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación

El flujo de muestras de ingreso al laboratorio es aproximadamente de 5 a 10 muestras al día, pudiendo procesar y analizar hasta 50 muestras semanalmente.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Conocer y comprender la situación del área de Análisis Molecular del Departamento de Sanidad Vegetal en el LDF del -MAGA-VISAR- kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

1.4.2 Objetivos Específicos

1. Conocer el área de Análisis Molecular.
2. Establecer los servicios a presentar por el estudiante de EPS en el LDF.
3. Identificar los principales problemas dentro del área de Análisis Molecular.
4. Identificar un tema de investigación.

1.5 Metodología

La elaboración del diagnóstico, se realizó a partir de las siguientes fases:

1.5.1 Primera Fase

Durante esta fase se realizó la planificación para la obtención de información de fuentes primarias y secundarias, de la siguiente manera:

1.5.1.1 Obtención de información de fuentes secundarias

Se investigaron los componentes del laboratorio MAGA-VISAR, por medio de consultas de fuentes secundarias, como manuales elaborados por la unidad, documentos electrónicos y más.

1.5.1.2 Observación del funcionamiento de la unidad

Se recopiló información a través entrevistas al personal encargado de las distintas áreas LDF, tanto técnica como administrativa, se identificaron las distintas áreas que existen dentro del LDF, su funcionamiento y el aporte que ofrece la unidad.

1.5.2 Segunda Fase

Consistió en el procesamiento e interpretación de la información obtenida a través de las fuentes utilizadas; se verificaron los datos obtenidos por medio de entrevistas que se realizaron al personal del laboratorio de Diagnóstico Vegetal para garantizar la confiabilidad de los resultados que se reportaron.

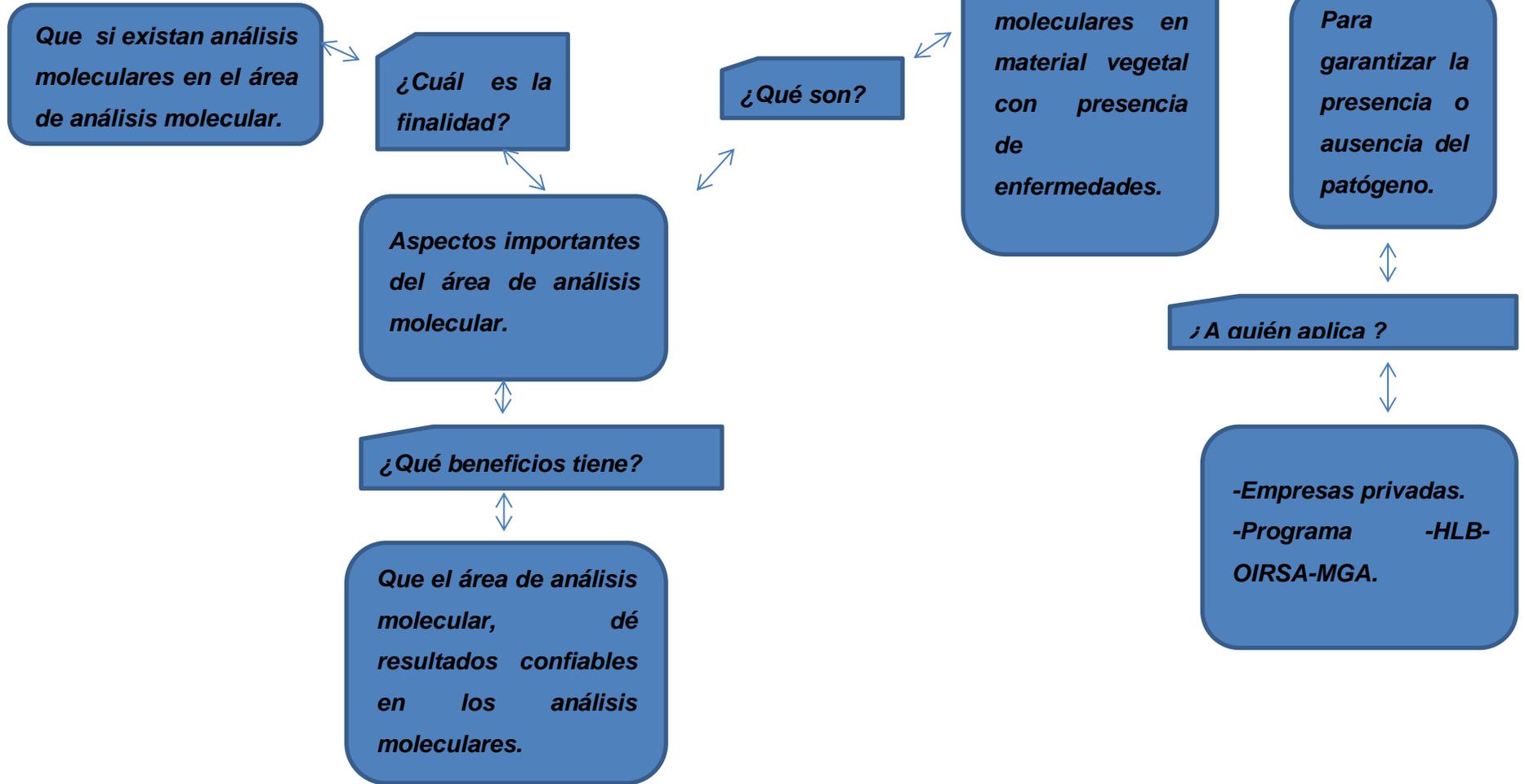
1.6 Resultados

Mediante el diagnóstico realizado en el área de Análisis Molecular del LDF, se confirmó que este es el único laboratorio que desempeña esta actividad en análisis moleculares de las tres laboratorios que se ubican en Villa Nueva, Peten y Quetzaltenango de la dirección de Sanidad Vegetal que tiene el Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR).

Se detectó que se realizan los Análisis Moleculares necesarios en muestras vegetales de las organizaciones y/o empresas que lo solicitaron, basándose en las normativas nacionales al momento de exportar e importar sus productos.

Se realizó un mapa mental que indica los puntos de importancia para la propia comprensión en la realización de análisis moleculares dentro del área específica del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, el cual se presenta en la figura 1.

1.6.1 Mapa mental: área de Análisis Molecular del LDF.



Fuente Elaboran propia, 2016.

Figura 1. Mapa mental de aspectos críticos de evaluación en los análisis moleculares del área de Análisis Molecular.

1.6.2 Análisis de las características propias del área de Análisis Molecular de LDF -FODA-.

Con el apoyo de los profesionales del área de Análisis Molecular se procedió a realizar el análisis FODA, cuyos resultados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Análisis de Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas -FODA- del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario MAGA.

FORTALEZAS	OPORTUNIDADES
<ol style="list-style-type: none"> 1. El recurso humano con el que cuenta el Área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario es eficiente y calificado para la ejecución de las funciones asignadas. 2. Se cuenta con equipo recién donado por el gobierno de Taiwán para diagnóstico molecular. 3. Resultados confiables y oportunos. 4. Se tiene la confianza, credibilidad y respaldo de los resultados de diagnóstico elaborados. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. La globalización exigirá que el laboratorio trabaje bajo estándares de calidad exigidos por el mercado para mantenerse en funciones en análisis moleculares. 2. Se puede llegar a tener un crecimiento de servicios y volumen de trabajo. 3. Puede haber crecimiento en reconocimiento internacional dado que se cuenta con capacidad de análisis molecular. 4. Se puede apoyar a las actividades del área del Laboratorio con capacitaciones a los profesionales encargados del Diagnóstico Molecular,

DEBILIDADES	AMENAZAS
<ol style="list-style-type: none"> 1. Falta de personal para el análisis molecular en el área de Biotecnología. 2. Infraestructura inadecuada para el funcionamiento del área de Análisis Molecular del -LDF-. 3. La estructura de informática que se utiliza para el funcionamiento del área no es óptimo para cubrir las demandas de los usuarios. 4. No se cuenta con servicio de Internet propio, ya que este es dado por el Laboratorio de Salud y no es competente. 5. El personal profesional a cargo, no tiene un salario competitivo en base a nivel académico, actualmente los profesionales cuentan con un salario de personal técnico. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. La infraestructura que cuenta el área de Biotecnología del -LDF- y algunos equipos lo que podría limitar el que hacer del laboratorio. 2. El personal Profesional por ser de renglón de contrato 029 pierde oportunidades en Programas Internacionales de Maestrías y Doctorados.

Fuente: Elaboración propia, 2016

1.7 Conclusiones

1. El área de Análisis Molecular de LDF, pertenece a la Dirección de Sanidad Vegetal que es una de las cinco direcciones que tiene el Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones -VISAR-, al mismo tiempo es uno de los cuatro viceministerios que posee el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación -MAGA-, el cual es el encargado de dar a conocer la información de plagas y enfermedades de cuarentena que afectan a la producción de cultivos en el país y que sean productos de exportación e importación y estén libres de plagas o enfermedades.
2. El área de Análisis Molecular cuenta con dos profesionales capacitados siendo el Jefe el que verifica los análisis moleculares y la confiabilidad de cada diagnóstico, el cual es entregado en hojas membretadas, con lo que da respaldo e identifica que el producto analizado si cuenta con las condiciones pertinentes requeridas en las fronteras para su exportación e importación.
3. Se interpretó y se analizó la información con un Análisis de Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas (FODA) pudiendo observar de forma clara los aspectos que pueden hacer ineficiente el laboratorio considerando que la falta de personal para realizar los Análisis Moleculares pertinentes, puede ser el factor más importante.

1.8 Recomendaciones

1. Es recomendable gestionar ante la Dirección de Sanidad Vegetal y ante el VISAR sobre los aspectos que afectan el buen desempeño del área de Análisis Molecular para que sean tomados en cuenta.
2. Se recomienda la contratación de más personal en el área, para que el desempeño del trabajo en los análisis moleculares sea de mayor confiabilidad y evitar el retraso de la entrega de resultados a los usuarios que requieran los servicios del área del Laboratorio de Diagnóstico Molecular.

1.9 Bibliografía

1. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala). 2009. Manual de organización, normas y regulaciones (en línea). Consultado 10 set. 2016. Disponible en http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_unr/QUIENES%20SOMOS1
2. _____. 2010. Quiénes somos (en línea). Guatemala. Consultado 10 set. 2016. Consultado en http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/informacion_publica1/docs/manual_UNR_2009.pdf
3. _____. 2012. MAGA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (en línea). Guatemala. Consultado 20 mar. 2016. Disponible en http://visar.maga.gob.gt/?page_id=1045
4. _____. 2014. MAGA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (en línea). Guatemala. Consultado 20 set. 2016. Disponible en <http://web.maga.gob.gt/historia/>
5. _____. 2016. MAGA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (en línea). Guatemala. Consultado 31 oct. 2016. Disponible en <http://web.maga.gob.gt/historia/>

TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACION
FAUSAC
REVISIÓN

Polando Barrías



CAPÍTULO II

Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016.

2.1 Introducción

La producción de cítricos en todo el mundo está amenazada por la expansión de la enfermedad conocida como “Huanglongbing” (HLB) o Greening, cuyo organismo causal es la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., HLB que provoca daños destructivos en el cultivo de cítricos, con síntomas característicos como el deterioro de hojas y frutos, la disminución de la producción y la muerte progresiva de la planta.

El cultivo de cítricos es de gran importancia económica como fuente generadora de empleo e ingreso de divisas para Guatemala. Además los frutos de cítricos tienen una alta demanda en el mercado nacional y la producción para el mercado internacional es de aproximadamente 700 Toneladas Métricas (TM) por año (OIRSA, 2009).

La enfermedad causada por *Candidatus liberibacter* sp., es perjudicial para la producción y provoca pérdidas económicas; causando una reducción considerable en las exportaciones hasta de un 25 % (Central America Data 2013). También puede llegar a provocar pérdidas totales de la producción como la eliminación completa del cultivo. Por estas razones es considerada una enfermedad de importancia económica en la citricultura de Centro América.

Para el control es importante el desarrollo de programas que incluyan la detección temprana del vector, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) y la bacteria causante, *Candidatus liberibacter* sp., orientado al manejo integrado de estas plagas. Un diagnóstico en las primeras etapas de la enfermedad de HLB de los cítricos puede ayudar a tomar acciones que permitan la erradicación inmediata de las plantas contaminadas y evitar la dispersión del patógeno, permitiendo de esta forma el planteamiento y la ejecución de un programa de manejo integrado de *Candidatus liberibacter* sp. y su vector *Diphorina citri*.

La técnica de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR), es una técnica molecular que permite identificar el ácido desoxirribonucleico (ADN) aun en pequeñas cantidades de un organismo de cualquier especie.

El procedimiento de PCR es el recomendado para identificar el material genético de un organismo fitopatológico determinado. En el proceso de la investigación fue necesario utilizar esta técnica molecular para determinar la presencia de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp. detectadas por los técnicos del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación.

En este documento se reportan los resultados de las pruebas moleculares en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) en muestras de tejido de cítricos, utilizando la técnica de PCR. La conclusión obtenida indica que se detectó la presencia de *Candidatus liberibacter* sp., con los resultados siguientes: El total de muestras analizadas fueron 245, de las cuales 43 fueron positivas para la presencia de *Candidatus liberibacter* sp., de estas 43 muestras el 44.18 % fueron colectadas en el departamento de Alta Verapaz, el 25.58 % en Suchitepéquez, 16.26 % Guatemala, el 2.32 %, en Jutiapa, el 6.97 % en Escuintla, 2.32 % en Baja Verapaz y Santa Rosa con el 2.32 %.

Los departamentos en los que no se tienen resultados del LDF, se debe a que los técnicos responsables de monitorear las áreas, realizan pruebas rápidas usando el Método de la Reacción con Yodo (RI) para diagnosticar HLB en campo, si la prueba rápida es positiva, los técnicos responsables del monitoreo de cada departamento envían muestras al LDF del MAGA, para su verificación y obtener un resultado de mayor confiabilidad de la detección de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp.

Los resultados de la investigación nos servirán en la toma de decisiones del programa HLB conformado por MAGA y Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), para la prevención, erradicación y control fitosanitario coadyuvando a frenar la dispersión de la bacteria y el vector a los demás departamentos aún libres del HLB de los cítricos.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Marco Conceptual

El cultivo de cítricos es muy importante en muchas regiones de climas tropicales y subtropicales del mundo. En Guatemala, este cultivo es generador de ingresos económicos en los diferentes eslabones de su cadena productiva de la economía nacional al generar el ingreso de divisas y empleo de mano de obra a través de pequeños y grandes productores.

La producción nacional reporta cosechas de 136,363 TM/año (OIRSA, 2009), de las que 700 TM/año son destinadas al mercado internacional y el resto para el mercado interno. Sin embargo este cultivo tiene pérdidas de importancia económica por causa de presencia de plagas endémicas y plagas exóticas que se han introducido al país, entre ellas una de la más recientes descubiertas en el ámbito nacional y considerada la más importante a nivel global por su agresividad es la Huanglongbing (Graça, 1991 y OIRSA, 2009).

2.2.1.1 Clasificación taxonómica de los cítricos

Los cítricos tienen una gran variedad de especies que pertenecen a la clasificación taxonómica:

Clase	Angiospermae
Subclase	Dicotiledónea
Orden	Rutae
Familia	Rutaceae
Género	Citrus

Los cítricos cuentan con más de 145 especies, entre las que se destacan: naranja; *Citrus sinensis*; mandarina, *Citrus reticulata*; limón, *Citrus limón*; lima, *Citrus aurantifolia*; toronja *Citrus paradisi* (Graça, 1991).

Estas especies provienen de una vasta zona asiática que se extiende desde las estribaciones del Himalaya al noreste de la India hasta la China centro septentrional y las islas Filipinas por el este y Birmania, Tailandia, Indonesia y Nueva Caledonia por el sureste (Graça, 1991).

2.2.1.2 El Huanglongbing

Es una enfermedad que puede ser causada por cualquiera de las tres diferentes especies de bacterias *Candidatus liberibacter* sp. que daña el floema de la planta hospedera, clasificadas como gram negativas, las tres especies son:

- a) *Candidatus liberibacter africanus*
- b) *Candidatus liberibacter americanus*
- c) *Candidatus liberibacter asiaticus*

La bacteria *Candidatus liberibacter asiaticus* se encuentra en Asia distribuida en la península arábiga y en América en Brasil, Estados Unidos y Guatemala (Jagoueix et al., 1996 y OIRSA, 2009). El HLB de los cítricos fue detectada por primera vez en el año 2004 en el estado de San Pablo Brasil de donde se expandió a Minas Gerais y Paraná en 2007; también ha proliferado en otros países del continente como en México, Belice, y Jamaica en el año 2009 (OIRSA, 2009).

Dos especies de psílicos pueden ser vectores de HLB; *Diaphorina citri*, es el vector que transmite las bacterias de *Candidatus liberibacter asiaticus* y *Candidatus liberibacter americanus* y el psílido *Trioza erytreae* (Hemiptera:Triozidae) es el vector transmisor de *Candidatus liberibacter africanus*. Estos vectores son responsables de la propagación del HLB en Asia, América y África respectivamente (Donovan et al., 2012 y Borbón et al., 2013). En China, el psílido *Cacopsylla citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae) ha sido identificado

como un nuevo vector trasmisor de las bacteria *Candidatus liberibacter* sp. (Chung et al., 2005).

2.2.1.3 Sintomatología

Los síntomas iniciales de HLB son evidentes en plantas jóvenes y adultas, en las que se desarrolla un color amarillento denominado clorosis en las hojas, que con el tiempo llega a extenderse a través de toda la copa del árbol a medida que avanza la plaga fitopatológica. Estos síntomas llegan a confundirse con deficiencia de micronutrientes esenciales en la planta. Las hojas tienen un aspecto moteado, con colores que consisten en muchos tonos de color verde claro, verde oscuro y amarillo (Alvarez et al., 2004).

HLB produce frutos pequeños, defectuosos y con diferente asimetría, con la coloración externa irregular, y pueden mostrar deficiencia en su maduración y llegan a ser de diversos tamaños. Internamente HLB puede llegar a abortar la semilla antes de que el fruto alcance su desarrollo fenológico (Bove et al., 2006).

Existe una variedad de síntomas que son comunes para otras enfermedades por lo que la detección visual no es segura, siendo necesario recurrir al análisis del laboratorio para su determinación por el método de PCR. En Guatemala existen instituciones donde existen laboratorios de diagnóstico como Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Asociación Nacional del Café (ANACAFE), Facultad de Veterinaria (FMVZ), Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Cañas de Azúcar (CENGICANÁ), Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) y MAGA. Entre los laboratorios que cuentan con las instalaciones para el análisis de *Candidatus liberibacter* sp., están los de la Universidad del Valle (UVG) y el laboratorio del MAGA que se ubica en el kilómetro 22 de la ruta hacia el Pacífico.

Los síntomas pueden ser variables y pueden imitar otras condiciones fisiológicas aunque no siempre facilitan su detección temprana, los resultados son evidentes como la muerte de la raíz. Sin embargo esta parte de la planta actúa como una fuente de inóculo del vector *Diaphorina citri* (Johanson et al., 2014).

Las deficiencias nutricionales de nitrógeno, fósforo, magnesio, potasio y azufre pueden ser otra fuente de confusión en la detección visual de esta enfermedad por lo cual se puede llegar a un diagnóstico erróneo durante el periodo de incubación del patógeno. Otra fuente de variación para la detección de HLB es el período entre la incubación del patógeno que ha logrado incubarse en el hospedero y la aparición de los primeros síntomas, el hospedero no presenta síntomas pero está infectado (Gottwald et al., 2010).

El desarrollo del diagnóstico molecular PCR ha facilitado enormemente la detección de la enfermedad, ya que es imposible poder cultivar dicha bacteria en medios de cultivo in vitro a nivel de laboratorio de cultivo de tejidos (Johson et al., 2014 y Gottwald et al., 2010).

Para evitar diagnósticos laboriosos los investigadores realizan diversas técnicas moleculares con cebadores (primers) específicos para la detección y cuantificación del agente etiológico de HLB (Hartung et al., 2009 y López et al., 2009). Esta técnica PCR para la detección de la bacteria ha mejorado con el fin de obtener diagnósticos más precisos y con la cuantificación de la enfermedad ha ayudado con ello a obtener un mejor resultado para la detección de la plaga y el monitoreo del desarrollo de la epidemia que ayudará a implementar estrategias de control químico y biológico a fin de erradicar el HLB (Alvarez et al., 2004 y Bach et al., 2002).

2.2.1.4 El insecto vector de *Candidatus liberibacter* sp.

Diaphorina citri es considerado el vector específico transmisor de la enfermedad fitopatológica *Candidatus liberibacter asiaticus*, *Candidatus liberibacter americanus*. El hemiptero está presente en el follaje y puede transmitir la bacteria. La caracterización de las poblaciones de *Candidatus liberibacter asiaticus* proporciona una valiosa información para conocer el comportamiento del vector *Diaphorina citri* (Hernández et al., 2012 y Coletta-Filho et al., 2010)

2.2.1.4.1 Taxonomía:

Domio	Eukaryota
Reino:	Metazoa
Phylum:	Arthropoda
Subphylum:	Uniramia
Clase:	Insecta
Orden:	Hemiptera
Suborden:	Sternorrhyncha
Familia:	Psyllidae
Subfamilia:	Psylloidea
Género:	Diaphorina
Especie:	<i>Diaphorina citri</i> (Chien CC, 1992).

2.2.1.4.2 Huevo

Presenta una forma alargada y ovoide, con una prolongación en uno de los extremos. Cuando recién son ovipositados tienen un color amarillo claro al inicio y luego se tornan a un anaranjado brillante, su tamaño es de aproximadamente 0.31mm de largo y 0.14 mm de ancho (Tsai et al., 2002).



Figura 2.Huevo de *Diaphorina citri*

Fuente: Holl, 2015.

2.2.1.4.3 Ninfa

Las 5 etapas fenológicas de las ninfas de *Diaphorina citri* se alimentan de los tallos de las hojas jóvenes, estas son de color anaranjado-amarillento y algunas pueden ser de color verde opaco. Presentan pequeños paquetes alares, con un par de ojos rojos compuestos y antenas setiformes de color negro; también tienen filamentos a lo largo del abdomen y continuamente secretan grandes cantidades de cera (mielecilla) la cual tiene funciones de protección contra depredadores y su modo de expulsión es por el ano (Hall, 2008).



Figura 3.Estados ninfales de *Diaphorina citri*.

Fuente: Holl, 2015.

2.2.1.4.4 Adulto

El psílido adulto llega a medir de 2.7 a 3.4 mm. El tamaño promedio de las hembras es de 3.3 mm de largo y 1.0 mm de ancho, con el abdomen terminado en una punta bien marcada. Los machos son ligeramente más pequeños que las hembras (2.7 mm de largo y 0.8 mm de ancho) y tienen la punta del abdomen capitada (GarcíaPérez et al., 2010).



Figura 4. Estado adulto de *Diaphorina citri*.

Fuente: Holl, 2015.

Este insecto produce un daño directo con la extracción de savia y la producción de mielecilla que puede extenderse a toda la planta ya que su propagación es determinada por la especie *Diaphorina citri*; el daño indirecto que es el mayor porcentaje de severidad en el cultivo, debido a su transporte sistémico.

En California se determinó que *Candidatus liberibacter asiaticus* presenta síntomas bacterianos más bajos en comparación con *Candidatus liberibacter africanus* y *Candidatus liberibacter americanus* (Coletta-Filho et al., 2010).

2.2.1.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa, PCR por sus siglas en inglés, es una técnica utilizada para diferentes pruebas bacterianas que no se pueden sintetizar, debido a que esta no puede ser cultivada en medios de cultivo in-vitro. En la técnica de PCR se realiza la fragmentación de Ácido desoxirribonucleico (ADN) para la detección de bacterias con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés específico del genoma de un individuo específico. Esta tecnología se ha utilizado con éxito desde 1985 y se ha empleado en diferentes campos del conocimiento, tales como la medicina, taxonomía,

biología, agronomía, área forense y criminalística principalmente (Valadez et al., 2000 y Bach et al., 2002).

Tiene diversos requerimientos específicos entre los cuales se encuentran: un molde de ADN, las moléculas iniciadoras llamadas “primers” (cebadores), una enzima ADN polimerasa resistente a fluctuaciones de temperatura, una mezcla de desoxirribonucleótidos trifosfato (dATP, dCTP, dGTP y dTTP) un amortiguador apropiado y equipo llamado “termocilador” que tiene la capacidad de cambiar las temperaturas dependiendo el ciclo programado y requerido por el analista (Valadez et al., 2000).

El proceso de PCR consiste en tres pasos esenciales: El primero es la desnaturalización y sirve para separar mediante temperatura (94 °C) la molécula doble de ADN a cadenas sencillas, que servirán como moldes para la síntesis de los fragmentos respectivos (Valadez et al., 2000).

En el segundo paso, la temperatura se reduce para permitir el alineamiento y reconocimiento de los cebadores a secuencia del ADN molde (Valadez et. al. 2000). Los cebadores pueden variar el tamaño de longitud, composición de bases nitrogenadas y especificidad para parearse con la secuencia en blanco y dependiendo de la temperatura de alineamiento puede variar desde 25 °C a 65 °C (Tatineni et al., 2008).

En el tercero, se lleva a cabo el alargamiento o extensión de la molécula, iniciadora mediante la enzima ADN polimerasa a 72 °C. Lo más recomendable es que la ADN polimerasa seleccionada tolere la temperatura de desnaturalización y se mantenga activa durante el número de ciclos que se requieran; por ejemplo, en muchas investigaciones se utiliza la ADN polimerasa Taq, proveniente de la bacteria termófila *Termus aquaticus*, debido a que tolera la temperatura de desnaturalización sin alterar su función de polimerización (Valadez et al., 2000 y Bach et al., 2002).

El termociclado se divide en 3 pasos (ciclos) que se repiten permitiendo obtener de manera exponencial el fragmento o fragmentos discretos sintetizados a partir del molde de

ADN. Por ejemplo, en una reacción de 30 a 35 ciclos, se acumularan alrededor de 10^6 a 10^8 moléculas de ADN (ver Figura 5), estas secuencias amplificadas (sintetizadas), pueden ser visualizadas en un gel de agarosa con técnicas de tinción convencionales (Valadez et al., 2000).

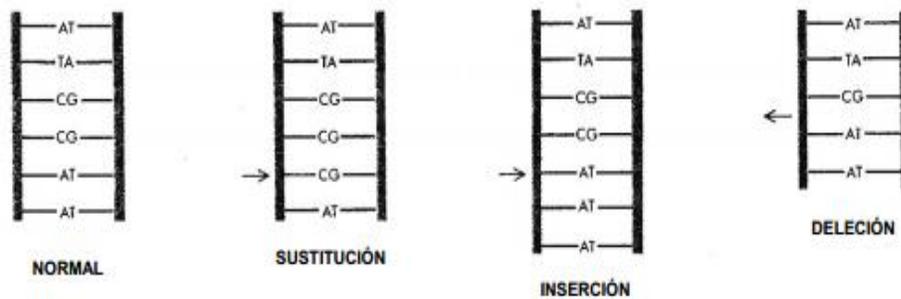


Figura 5. Estructura de reacción en cadena de la polimerasa es capaz de leer la hebra de ADN de 5' a 3'. Luego la ARN de cada hebra va en sentido opuesto al de la hebra 3' a 5'.

Fuente: Watson et al., 1986.

2.2.1.6 Electroforesis en gel de agarosa

La electroforesis se refiere al movimiento de partículas activadas por medio de una carga eléctrica positiva y negativa, esta técnica en gel de agarosa es una técnica muy utilizada para separar moléculas o fragmentos de ácidos nucleicos.

Los materiales más comunes para separar estas moléculas son polímeros como la poliacrilamida y el gel de agarosa (Padilla, 2006). La agarosa es un polisacárido natural purificado de algas, cuyas disoluciones (típicamente de 0.5 % a 2 %) en cierto volumen de un amortiguador específico poseen la propiedad de permanecer líquidas por encima de 50 °C y formar un gel semisólido al enfriarse. La estructura tridimensional del gel de agarosa se sostiene por enlaces de hidrógeno. Debido a que no existen enlaces covalentes en esta estructura, el gel puede ser roto por calentamiento (Padilla, 2006).

Los geles de agarosa se colocan de forma horizontal en la cámara de electroforesis, para realizar un sistema eléctrico termodinámico. Consiste en un compartimiento dividido en dos sectores por medio de una plataforma en el centro. El gel se coloca sobre la base y se agregan diferentes amortiguadores, con un pH alrededor de 7-8. La cámara posee electrodos en cada compartimento de cargas positivo y negativo. De esta manera recibe energía de una fuente de poder específica y libera energía en forma de calor. Las moléculas de ADN son sometidas a electroforesis y se desplazan al polo positivo, ya que a pH superiores a 5 poseen carga negativa (Padilla, 2006).

2.2.1.7 Situación actual, regulación y estrategias para el control del Huanglongbing HLB, en la región OIRSA.

OIRSA tiene como función principal el apoyo a los países para implementar acciones de prevención de la bacteria con diferentes métodos de control y erradicación de plagas en los cultivos de cítricos. OIRSA en el año 2009 indicó que se han obtenido resultados positivos de HLB en República Dominicana, Belize, México, Guatemala, Honduras y Nicaragua representando éstos el 66 % de los países de la región donde el vector está distribuido en varios sectores de cada república (OIRSA, 2009).

Se ha impulsado un programa regional en Guatemala de manera auto sostenible para el control biológico del vector del HLB, con la participación del sector privado y comunidad civil para desarrollar proyectos libres en traspatio, plantaciones abandonadas y la certificación fitosanitaria de viveros de cítricos para evitar la transmisión de la bacteria a los injertos. El programa apoyó a los países para la adquisición de yemas de cítricos certificadas para bancos de germoplasma o de multiplicación que garanticen fitosanidad como elemento fundamental para la sustitución de árboles eliminados (OIRSA, 2009).

2.2.1.7.1 Resultados esperados de la estrategia regional establecida

Los resultados que se obtuvieron en la detección de la plaga fitopatológica de empresas privadas y citricultores interesados en plantas sanas y libres de HLB tienen el compromiso de eliminar los árboles infestados del vector, realizar el control del vector utilizando métodos de químicos y/o biológicos; presentarse en las capacitaciones del programa HLB, MAGA, OIRSA y con alianzas entre instituciones públicas y empresas privadas controlar los efectos de HLB en la región.

2.2.2 Marco referencial

Guatemala por su posición geográfica cuenta con diversas zonas fronterizas donde tiene lugar el intercambio de materia prima de los productos alimenticios de la comercialización de productos como frutas, verduras y otros entre nuestro país con México, Salvador, Honduras, Belice. Estos países son considerados como zonas de ingreso de plagas entomológicas y fitopatologías de tipo cuarentenario. Una de las principales funciones del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) consiste en la detección temprana de infecciones en cultivos agrícolas. Para ello el LDF realiza las detecciones de plagas entomológicas y enfermedades fitopatológicas en cultivos del país, de tipo de cuarentena endémico y exótico (OIRSA, 2009).

2.2.2.1 Ubicación

El departamento de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA), cuenta con el área de Laboratorio Diagnóstico Fitosanitario (LDF) que se encuentra en el kilómetro 22 carretera al pacifico, ubicado dentro de las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud pública, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala (MAGA, 2016).

2.2.2.2 Situación de HLB en Guatemala al año 2017

La presencia de la enfermedad de HLB es ratificada por OIRSA en junio de 2010 al presentar resultados positivos de la bacteria en muestras colectadas en tres departamentos: Petén, Izabal y Baja Verapaz. La enfermedad se localizó en 27 lugares, especialmente en una plantación comercial de cítricos y de traspatio. En Guatemala se ha declarado estado de emergencia en diferentes áreas específicas, donde se toman medidas de seguridad como puestos de cuarentena internos y la prohibición del comercio

de plantas de viveros según Acuerdo Ministerial 0126-2010 del 23 de junio de 2010 (OIRSA, 2009).

Los huracanes, las tormentas y depresiones tropicales del Caribe están contribuyendo a la dispersión del vector *Diaphorina citri.*, trasmisor de la bacteria *Candidatus liberibacter sp.*, lo cual incrementa los riesgos en plantas de traspatio. Los Ministros y Secretarios de Agricultura de la Región aprobaron la necesidad de determinar la presencia o ausencia del HLB en plantas cítricas a nivel de traspatios en el litoral del Atlántico (OIRSA, 2009).

2.2.3 OBJETIVOS

2.2.3.1 Objetivo General

Diagnosticar por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa la presencia de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., causante de la enfermedad de Huanglongbing de los cítricos, en Guatemala durante el año 2016.

2.2.3.2 Objetivos Específicos

1. Diagnosticar la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., en muestras de tejidos de cítricos colectadas en diferentes departamentos de Guatemala en el año 2016.
2. Determinar el porcentaje de muestras infectadas por la bacteria *Candidatus liberibacter* sp.
3. Georreferenciar en un mapa con el detalle de los departamentos de la República de Guatemala, los puntos de muestreo con resultados positivos de *Candidatus liberibacter* sp., en el año 2016.

2.2.4 METODOLOGÍA

2.2.4.1 Diagnóstico molecular de la bacteria.

El muestreo utilizado en la detección del HLB en campo es un muestreo por conveniencia donde se tomaron muestras vegetales (hojas, frutos) a criterio del técnico responsable de realizar el muestreo en los departamentos de la República de Guatemala. Se colectaron muestras que presentaban sospecha positiva de la enfermedad tipificada por síntomas moteados o clorosis, los más importantes en la prospección de la enfermedad (OIRSA e ICDF, 2014).

El moteado o clorosis consiste en manchas de formas irregulares, verdes-claras o amarillas mezclado con un verde normal sin una clara división entre sí. Los técnicos deben hacer una inspección detallada de los cítricos, reportando síntomas sospechosos, en base a la sintomatología en el uso de la prueba de RI. Al ser positiva la prueba se realizó el procedimiento de colecta del material vegetal (hojas, frutos) con sospecha de síntomas. Se realizó el procedimiento de colecta de 3 ramas diferentes de la planta por muestra dando un total de 16 a 32 hojas con pecíolo, que se colocaron en cámara húmeda y fueron enviadas al LDF para el análisis molecular (OIRSA e ICDF, 2014).

Las muestras que se utilizaron en la presente investigación fueron colectadas por el personal del programa HLB, MAGA, OIRSA, y llevadas al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del MAGA.

2.2.4.1.1 Protocolo del ingreso de la muestra al LDF del kilómetro 22, carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala VISAR, MAGA.

El técnico responsable de la recepción de las muestras verifica cada uno de los formularios ingresados por los usuarios al laboratorio, los cuales deben contener la información requerida para iniciar el proceso de diagnóstico de la muestra.

El formulario para el ingreso de la muestra al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario puede adquirirse de forma gratuita en el sitio web del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación¹, en la Sección del Viceministro de Sanidad Agropecuaria y Regulación VISAR, MAGA, o bien en la ventanilla única del LDF, en donde se indica la información que se requiere para iniciar el trámite de análisis de la muestra.

2.2.4.1.2 Método de extracción de ADN

Se recibieron un total de 245 muestras de tejido vegetal para el diagnóstico de la detección de *Candidatus liberibacter* sp. Estas muestras mostraban síntomas de HLB como se presenta en la Figura 6.



Figura 6. Hojas de cítricos con sintomatología de HLB y nervaduras de hojas de cítricos utilizados para extraer ADN..

Fuente: Elaboración propia, 2016.

¹ <http://www.maga.gob.gt>. Visitado 01 /02/2017

El método que se utilizó para la extracción de ADN, fue propuesto por OIRSA (2016).

Inmediatamente después de obtener el material vegetal se extrajo el tejido vegetal representado por nervadura central de las hojas. Se colocó el tejido en un motero, 50 g de material vegetal, que se agregó a los tubos eppendorf rotulados. Seguidamente se agregaron 2.5 ml del buffer de extracción HLB y 370 μ l de Sarkosyl; se maceró y se extrajeron 1000 μ l a un tubo eppendorf 1.5 ml. (OIRSA e ICDF, 2014).

Se colocaron los tubos eppendorf de nuevo en la incubadora a una temperatura de 55 °C por 60 minutos. Este paso es importante para la hidratación de los ácidos nucleicos. (OIRSA e ICDF, 2014).

Los tubos fueron colocados en el centrifugador a 4 000 g (6 000rpm) por 5 minutos (suficiente tiempo para producir un sobrenadante claro). Se usó una puntilla de pipeta desechable, con la que cuidadosamente se removieron 800 μ l de la capa superior y se transfirió a un tubo eppendorf nuevo (se evitó tomar material de la interface, en este caso la capa de tejido vegetal formado). Se agregaron 100 μ l NaCl 5M y CTAB al 10 %; se mezcló uniformemente, y seguidamente se colocaron en la incubadora por 10 minutos (OIRSA e ICDF, 2014).

Se agregaron 600 μ l de cloroformo-alcohol isoamyl (24:1) a cada uno de los tubos de eppendorf que contenía las muestras, y se mezclaron por inversión (OIRSA e ICDF, 2014). Se centrifugaron a 10000g (11 000 rpm) por 5 minutos, se extrajeron 800 μ l cuidadosamente de la capa superior a un tubo limpio y rotulado se evitó tocar cualquier interface del material proteínico después de su extracción final, siempre es mejor dejar algo de la interface para evitar la contaminación de proteínas (OIRSA e ICDF, 2014).

Se agregaron 500 μ l isopropanol frío y 120 μ l de Acetato de sodio 2.5 M, se cerró y se almacenó a una temperatura de - 20 °C, luego, se centrifugaron las muestras a 11 000rpm a 4 °C por 10 minutos. Esto debe desprender muchas otras moléculas además del ADN, se colocó el precipitado en la centrifugadora por 5 minutos. (OIRSA e ICDF, 2014).

Después se centrifugó y se descartó el alcohol sobrenadante y se lavó el precipitado (pastilla de ADN) con 100 µl de EtOH 70 % frío. Se removió el alcohol y se secó el precipitado, se centrifugó por 5 minutos y se decantó el sobrenadante, se eliminó el precipitado en una incubadora a 55 °C, se agregaron 100 µl buffer TE y almacenó a una temperatura de - 4 °C (OIRSA e ICDF, 2014).

2.2.4.1.3 Preparación de gel de agarosa y electroforesis.

Para este proceso se siguió la metodología propuesta por OIRSA (2016).

Se preparó el gel de agarosa 1 % o 1.5 %: Se pesaron 0.45 g de agarosa se agregaron 30 ml de TAE 2X (OIRSA e ICDF, 2014).

Se mezclaron ambos en un vaso de precipitado (erlermeyer) y se calentó por intervalos de tiempo de segundos en el microondas, esto para lograr una mejor homogenización de la solución. Se enfrió la solución a ± 30 °C y se agregó la cantidad necesaria 2 µl de Bromuro de Etidio al 10 %. (OIRSA e ICDF, 2014).

Se vertió la solución de agarosa en la cámara de electroforesis y posteriormente se agregó un peine, se esperó hasta que se solidificara, seguidamente se agregó el TAE 2X suficiente hasta cubrir completamente el gel de agarosa. Se extrajo el peine para que se rellenen de TAE 2X los espacios dejados por los dientes (OIRSA e ICDF, 2014).

Se extrajeron los tubos eppendorf del congelador y descongelaron, tratando de homogenizar la muestra de ADN y cargar 2 µl de la misma con 3 µl de azul de cada una de las cepas, esto se colocó sobre un pedazo de papel parafilm, luego se introdujo cuidadosamente al gel de agarosa (OIRSA e ICDF, 2014).

En los espacios dejados por los dientes del peine extraídos, tratando de no romper el gel de agarosa, y para comprobar la corrida de ADN se colocó un comparador de 2 µl de azul (OIRSA e ICDF, 2014). Se colocó la tapa de la celda de electroforesis con su respectiva carga eléctrica (+ y -) y se dejó funcionando a 100 Voltios por 60 minutos (OIRSA e ICDF, 2014).

Las extracciones de ADN se caracterizan por la presencia de una banda larga de ADN distintiva de alto peso molecular con poco o nada de evidencia de productos de degradación de bajo peso molecular. Esto se puede comprobar extrayendo el gel de agarosa conjuntamente con la cámara de sostén del mismo y colocando solamente el gel en el transluminador de rayos ultravioleta (UV) (cámara de visualización de electroforesis) en donde se podrá observar dicha banda de ADN, la temperatura del PCR se realizó en condiciones de tiempo convencional (OIRSA e ICDF, 2014).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR se llevó a cabo en el termociclador MJ DNA Engine PT200 Thermocycler^{TM2}, con los parámetros reportados por OIRSA, los cuales son los siguientes: primer ciclo con temperatura de 94 °C durante 3 minutos, el segundo ciclo ocurre en tres fases, primera a 94 °C durante 1 minuto, la segunda fase del ciclo que ocurre a una temperatura de 60 °C durante 1 minuto, la tercera fase ocurre a una temperatura de 72 °C durante 2 minutos, luego las condiciones del segundo ciclo se repiten por 30 veces, y para finalizar a 72 °C durante 10 minutos, (OIRSA e ICDF, 2014).

La secuencia de cebadores de inicio de 5' a 3' Hung F5'-CAC CGA AGA TAT GGA CAA CA-3', (Hung, et al.), el cebador específico de inicia 3' a 5' Hung R3'-GAG GTT CTT GTG GTT TTT CTG-5'. El tamaño del segmento de ADN que se amplificó representa una capacidad de banda 226 pares de bases (OIRSA e ICDF. 2014).

² *MJ Research Inc., Waltham MA*

2.2.4.1.4 Electroforesis para visualizar el producto de PCR.

Se preparó el gel de agarosa con la concentración de 1.5 % regulando el voltaje a 100V se dejó transcurrir la electroforesis 30 – 60 minutos al teñir el gel con tinte (lavar el gel con EtBr por 4 minutos y luego se colocó el gel en agua por 10 minutos) y se visualizó el tamaño de banda (OIRSA e ICDF, 2014).

2.2.4.1.5 Tamaño de la banda amplificada.

Para este proceso se continuó la metodología propuesta por OIRSA (2016).

El tamaño de la banda que se observa en la cámara de visualización de electroforesis es de 226 pb, para las muestras positivas, y ninguna banda para las muestras negativas (OIRSA e ICDF, 2014).

2.2.4.1.6 Metodología para determinar el número de plantas infectadas de *Candidatus liberibacter* sp. en el año 2016.

Se tomó el dato total de muestras positivas por departamento de Guatemala analizadas en el LDF en el año 2016, para luego dividirlo entre el total de muestras extraídas, seguidamente se multiplicó por 100, para obtener el porcentaje de muestras positivas de *Candidatus liberibacter* sp., desde donde de acuerdo al departamento enviaron muestras vegetales al LDF del MAGA kilómetro 22, para el diagnóstico molecular.

Los datos totales en porcentaje se resumieron en cuadros en formato de Microsoft de Excel ® 2010 versión 10.0 para observar el comportamiento e incidencia de la bacteria en los meses que se analizó el tejido vegetal en el LDF, MAGA.

2.2.4.1.7 Metodología para generar un mapa con la distribución actual de *Candidatus liberibacter sp.*

Para la elaboración del mapa de esta enfermedad se siguieron las siguientes actividades.

a) Registros de las colectas

Las muestras obtenidas en las zonas productoras de cítricos a nivel nacional fueron sistematizados en una base de datos desarrollada en Microsoft Access ® 2010 versión 10.0, conteniendo las variables.

- No. de muestra
- Fecha de ingreso
- Código LDF
- Usuario y/o Empresa
- Tipo de empresa
- Inspector
- Cultivo
- Descripción de Muestra
- Análisis requerido
- Coordenadas de ubicación
- Resultado.

Con fecha 12 de octubre del año 2016 se registraron 245 muestras ingresadas por el analista.

b) Gráfica de puntos Geográficos

Se usó un sistema sexagesimal mediante el Software ArcGIS ® versión 10.2 disponible en el laboratorio de la Unidad de Sistemas de Información Geográfica (USIG) de la Facultad de Agronomía, en la Universidad San Carlos de Guatemala (FAUSAC) para obtener un mapa de los puntos muestreados.

2.2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 2. Resumen de resultados de las muestras del tejido *Candidatus liberibacter* sp., analizadas de enero a septiembre del 2016.

Meses	No. de muestras analizadas.	% Total de muestras
Enero	3	1,22
Febrero	19	7.75
Marzo	18	7.35
Abril	6	2.45
Mayo	7	2.86
Junio	126	51.43
Julio	11	4.48
Agosto	43	17.45
Septiembre	15	6.12
Total	245	100

Fuente: elaboración propia con datos de enero a septiembre, 2016.

En el cuadro 2 se presenta un resumen de las muestras analizadas de enero a septiembre de 2016, presentando una mayor concentración de las muestras en los meses de junio y agosto. SAGARPA (2012) indica que los mayores brotes de HLB se presentan en la temporada de aumento de las lluvias; en Guatemala esto coincide con el periodo de mayo a noviembre, en este caso particular debido a las condiciones y para optimizar el uso de los recursos del MAGA y OIRSA se distribuyó de esta forma el muestreo en el tiempo.

Hay departamentos de Guatemala para los que no se presentan resultados, esto se debe a que en ellos se desarrollan pruebas de diagnóstico rápido de HLB del Método de la Reacción con Yodo (RI) en los cultivos de cítricos vigilados por los técnicos de monitoreo del programa HLB,MAGA,OIRSA; esto se realiza para el mejor manejo de los recursos económicos del proyecto. Si la prueba rápida llegase a presentar sintomatología positiva

de la bacteria, los técnicos que monitorean cada departamento toman muestras vegetales que presenten características razonables que puedan dar sospecha de la bacteria y son colocadas en cámaras húmedas enviadas al LDF del MAGA, donde se realizan los análisis respectivos de bacterias y el laboratorio presentó resultados de confiabilidad para que el programa tome medidas de erradicación y control de la epidemia de HLB.

La incidencia observada en este estudio en los 10 departamentos bajo estudio fue de 17.14 % durante el 2016. Este dato es importante debido que confirma la presencia de HLB en Guatemala aumentando el riesgo de epidemia para todas las regiones del país que pueden provocar daños severos en la economía de los productores de cítricos.

OIRSA (2009) y Borbón (2013) del Ministerio de Agricultura de la República Dominicana indican que existe una alta correlación del aumento de la incidencia de HLB con la presencia del vector *Diaphorina citri*. Factores como la falta de control de sus poblaciones, capacidad técnica de laboratorio, la no eliminación de plantas infectadas y la falta de capacitación y concientización de la importancia del control del vector han contribuido a la dispersión del HLB en República Dominicana, México, El Salvador, Honduras, Belice y Guatemala. Tan sólo una planta infectada puede provocar el surgimiento de epidemia a nivel regional; sin embargo los agricultores deben estar comprometidos a seguir y respetar las normas de fitosanidad para reducir la vulnerabilidad.

En el anexo 1A se presenta el cuadro 6 con la información específica del análisis molecular realizado en los meses de febrero a septiembre 2016 y en la figura 8 se presenta el mapa con los lugares donde se realizaron análisis moleculares en el año 2016.

En el cuadro 3 se muestra el resumen de las 245 muestras ingresadas al LDF, tanto las de diagnóstico positivo, como negativo de la bacteria *Candidatus liberibacater* sp., se determinó el porcentaje de detección positiva de 17.14 % y un resultado negativo de 82.45 %.

El diagnóstico presentado en la cuadro 3 con el 17.14 % de muestras positivas sirve como una alerta de la presencia de HLB y sus posibles consecuencias sobre la producción presentado para el 2017. Después de analizar la incidencia se deben tomar decisiones para mejorar los controles en las regiones con mayor presencia, en especial concientizando y capacitando a los agricultores en el uso de controles químicos herbicidas, fungicidas alternativas biológicas para reducir la población de *Diaphorina citri* principal vector de *Candidatus liberibacter* sp., de lo contrario la citricultura en Guatemala sufre peligro de mermar su producción.

Cuadro 3. Porcentaje de muestras con diagnóstico positivo o negativo de *Candidatus liberibacter* sp., en los meses de septiembre del año 2016

Resultado del diagnóstico de <i>Candidatus liberibacter</i> sp.	Número de muestras	% de muestras
Positivo	42	17.14
Negativo	203	82.85
Total	245	100%

Fuente: Elaboración propia, 2016.

En el cuadro 4 se presenta la distribución de la proveniencia de muestras analizadas por HLB en el año 2016 para el territorio guatemalteco.

Cuadro 4. Distribución de frecuencia de la proveniencia de las muestras analizadas por HLB en la República de Guatemala.

Departamento	Número de muestras analizadas	Frecuencia relativa
Suchitepéquez	20	0.0816
Guatemala	166	0.6775
Escuintla	8	0.0326
Alta Verapaz	30	0.1224
Baja Verapaz	4	0.0163
Santa Rosa	3	0.0127
Quiche	10	0,0408
Jutiapa	1	0.004
Sololá	1	0.004
Retalhuleu	2	0.008
Total	245	1

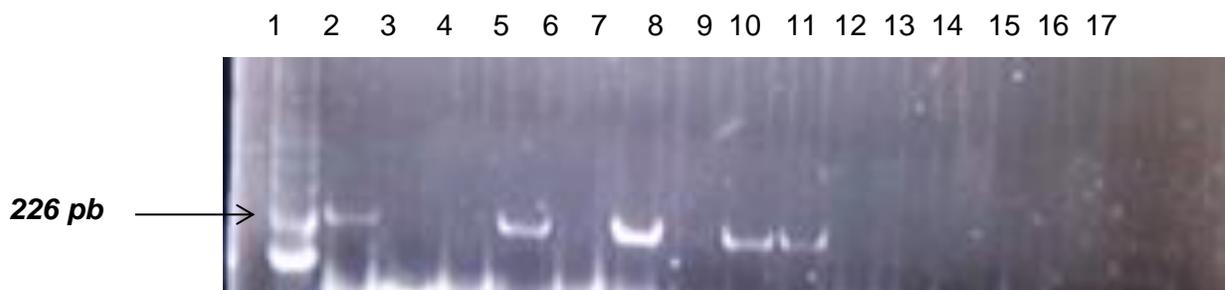
Fuente: Elaboración propia, 2016.

De las 245 muestras analizadas en el 2016 la mayor cantidad de muestras se efectuaron en los departamentos de Guatemala (0.67), Alta Verapaz (30) y Suchitepéquez (20); el menor monitoreo se realizó en Jutiapa (0.0040) y Sololá (0.0040), este procedimiento fue decidido por el MAGA-OIRSA; se infiere que el proceso fue efectuado debido a la presencia e incidencia de *Diaphorina citri* y HLB en los departamentos analizados.

El material vegetal con sintomatología asociada a la presencia de HLB fue analizado con extracción de ADN y fueron procesados con la metodología correcta para garantizar la confiabilidad de los resultados al programa HLB, MAGA, OIRSA y usuarios que requieran el análisis molecular de la detección de la bacteria.

Ya anteriormente, debido a los resultados de las muestras analizadas, el OIRSA declaró estado de emergencia fitosanitaria en 10 departamentos estudiados, para la prevención y contingencia del HLB. Hernández et al., (2012) indica que los brotes epidémicos de HLB

se deben al aumento de las poblaciones de *Diaphorina citri* por lo tanto el OIRSA y MAGA deben crear programas que los agricultores apliquen para el control de Psylido; los controles, monitoreo y alertas se constituyen en un aviso pero no la solución al problema causado por la enfermedad y su vector.



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Figura 7. Fotografía de gel de agarosa con productos de PCR. Carril 1: marcador de peso molecular. Carriles 2, 5, 7, 9 y 10 con fragmento de 226 pares de bases, indicando que son muestras con resultado positivo

La técnica de PCR ha facilitado enormemente la detección de la plaga porque en la actualidad es imposible poder cultivar en laboratorio la bacteria del HLB (Johnson et al., 2014 y Gottwald et al., 2010) la determinación de *Candidatus liberibacter* sp., en los cultivos de cítricos en el año 2016, ha sido primordial, dado que es una enfermedad cuarentenaria en los departamentos detectados en la República de Guatemala, actividad para la cual la técnica garantiza resultados confiables.

Según Coletta-Filho et al., (2010), el éxito de la amplificación fue confirmada por electroforesis en agarosa al 1 % en 17 carriles, dando el resultado positivo de *Candidatus liberibacter* sp.

En la figura 7 se muestran los resultados de 17 muestras de cítricos provenientes de los departamentos de la república de Guatemala en el año 2016, se mostró en el carril 1 marcador de peso molecular y la ampliación de 256 pb en los carriles 2, 5, 7, 9 y 10 con fragmento positivo de ADN del patógeno, lo cual indica el resultado positivo de la bacteria.

Cuadro 5. Distribución de frecuencia de las muestras analizadas con presencia positiva de HLB en los departamentos de la República de Guatemala.

Departamentos	Número de muestras con diagnóstico positivo de HLB	% del total positivas	% de infección del total de muestras
Suchitepéquez	11	26.19	4.4
Guatemala	6	14.28	2.4
Alta Verapaz	19	45.23	7.7
Jutiapa	1	2.38	0.4
Escuintla	3	7.14	1.2
Baja Verapaz	1	2.38	0.4
Santa Rosa	1	2.38	0.4

Fuente: Elaboración propia, 2016

Según OIRSA, en junio del 2010, se presentaron resultados positivos de HLB, en muestras colectadas en los departamentos de Peten, Izabal y Baja Verapaz, efectuando en esa oportunidad medidas para el control de bacteria. En el 2016, se reportó un total de 42 muestras con diagnóstico positivo al HLB en los departamentos de Suchitepéquez, Guatemala, Alta Verapaz, Jutiapa, Escuintla, Baja Verapaz y Santa Rosa.

Los datos del Cuadro 5 permiten estudiar el indicador de incidencia por región; siendo Alta Verapaz y Suchitepéquez los más alarmantes; debido a que presentan un porcentaje de infección alto (26.19 % y 45.23 %) del total de muestras y representativo dentro de los departamentos con presencia de la enfermedad siendo 4.4 % y 7.7 % respectivamente. El departamento con mayor número de muestras positivas fue Alta Verapaz con 19, correspondientes a un 7,7 % del total de las 245 muestras analizadas al año 2016, el programa HLB, OIRSA, MAGA tomará decisiones con la información presentada en esta investigación, al considerar los controles de 2010-2015 para hacer inferencias estadísticas, estudios de prevalencia, incidencia y cuarentena. En este caso es determinante el ciclo de monitoreo y control para evitar una propagación rápida de la enfermedad que afecte seriamente la producción de cítricos en Guatemala.

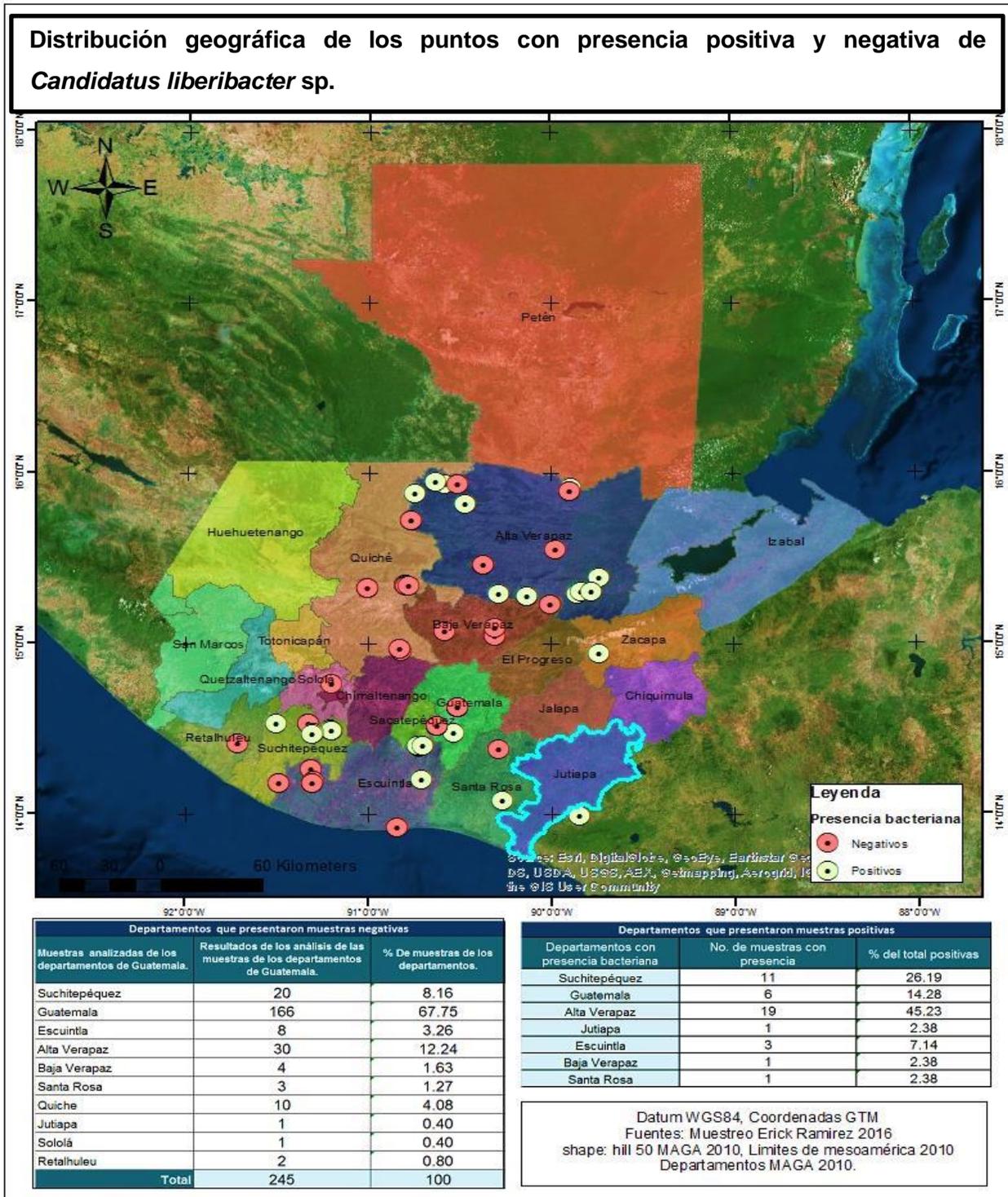


Figura 8 . Distribución geográfica de la proveniencia de las muestras de tejido con presencia positiva de *Candidatus liberibacter* sp., en Guatemala en el año 2016.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

SAGARPA (2012) indica que la temporada de mayor incidencia de HLB es de mayo-octubre; López (2009) destaca que las temperaturas pueden estar relacionados con los cambios en la distribución de bacteria en cada lugar donde se realice un estudio de la enfermedad; pero se ha comprobado que la mayor relación se encuentra entre las lluvias, desarrollo de brotes vegetales nuevos y el vector *Diaphorina citri* cada uno de forma consecuente.

El mapa con georreferencia es una herramienta visual que ayuda a la comprensión del comportamiento de la epidemia en relación a su posición geográfica y las condiciones climáticas de la región; en este caso los lugares con mayor precipitación y condiciones de temperatura entre 18-30 °C favorecen el desarrollo de *Diaphorina citri* por ende a la dispersión de la epidemia en estas regiones; lugares con menores precipitaciones presentarán menor disposición a la epidemia como el caso de Jutiapa, Zacapa, Santa Rosa.

En la figura 8, el mapa muestra gráficamente los nodos que sirven de inóculos y de los cuales puede surgir la epidemia; en estos sitios se pueden localizar las primeras plantas infectadas y en las cuales se debe aplicar el control de eliminación, establecer las medidas pertinentes y necesarias para monitorear, cuarentenar para evitar una dispersión mayor de la enfermedad. En la figura 8 se presentan con círculos rojos los lugares que dieron positivo a *Candidatus liberibacter* sp., y con amarillo los lugares que presentaron negativo a la bacteria en el 2016.

Según OIRSA (2009) la región con latitud 15°44'00"N y longitud 88°36'00"O en las cuales se presentan depresiones tropicales son determinantes en la dispersión de HLB. Las georreferencias son una herramienta para conocer el comportamiento de la enfermedad, prevalencia, incidencia, gravedad y el tipo de control que se puede aplicar dependiendo de la magnitud de la epidemia.

Según Tatineni et al., (2008) los mapas de monitoreo son valiosos en la parte técnica como la toma de muestras, acciones en los departamentos, análisis, monitoreo; para el desarrollo de técnicas adecuadas para el manejo de la enfermedad, como para efectos de planificación y/o gestión de proyectos productivos en los departamentos con presencia de *Diaphorina citri* y *Candidatus liberibacter* sp.

Alta Verapaz presentó el mayor porcentaje de infección con 45.23 % y Suchitepéquez 26.19 % de resultados positivos; convirtiéndose ambos lugares en inóculo de HLB para Guatemala; infiriendo en una alta población de *Diaphorina citri* en la época de lluvia debido al desarrollo de nuevos brotes vegetativos y a la falta de control químico o biológico de la población del vector en especial de las ninfas 4º y 5º instar. Es necesario que el MAGA y OIRSA dispongan monitoreos permanentes, capacitaciones de concientización, programa de control del insecto vector y la eliminación por completo de las plantas con presencia de HLB para evitar que en el 2017 se aumente la incidencia en más departamentos y su daño provoque pérdidas cuantiosas.

2.2.6 CONCLUSIONES

1. Los resultados del diagnóstico del HLB en campo y en los departamentos donde se detectó la enfermedad mediante técnicas de PCR con presencia positiva de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp., son: Suchitepéquez, Guatemala, Alta Verapaz, Jutiapa, Escuintla, Baja Verapaz y Santa Rosa en el año 2016.
2. De los 245 análisis realizados en el año 2016, 42 muestras fueron positivas para la presencia de *Candidatus liberibacter* sp., El 45.23 % de las muestras positivas fueron colectados en el departamento de Alta Verapaz, seguido de Suchitepéquez con el 26.19 %, Guatemala con el 14.28 %, Jutiapa con el 2.38 %, Escuintla con el 7.14 %, Baja Verapaz con 2.38 %, Santa Rosa con el 2.38 %.
3. El mapa con sitios georeferenciados de la presencia de HLB es una herramienta visual que permite proveer de información básica acerca de la distribución espacial de la enfermedad en la República de Guatemala; para que las autoridades pertinentes puedan anticiparse a una epidemia y tomar decisiones de prevención, contención y control fitosanitario para proteger la citricultura de la República de Guatemala.

2.2.7 RECOMENDACIONES

1. Que el LDF implemente una metodología de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR) específica para el diagnóstico bacteriano de cada una de las especies siguientes: *Candidatus liberibacter africanus*, *Candidatus liberibacter americanus*, *Candidatus liberibacter asiaticus*, para ampliar la base de conocimientos de HLB.
2. Por el porcentaje evaluado de las muestras ingresadas al LDF y el hecho de que no se tenga un diseño de muestreo que permita inferir sobre la gravedad de la incidencia de la enfermedad en los departamentos de Guatemala en el año 2016, se recomienda realizar, en los próximos estudios, un diseño de muestreo estadístico estratificado de los departamentos, que permita seleccionar el número de muestras representativo de la incidencia de la enfermedad en los cultivos de cítricos, para poder presentar resultados de calidad y confiabilidad.
3. Con la información obtenida de la georreferenciación de los departamentos con presencia de *Candidatus liberibacter* sp., se recomienda realizar un estudio de la dinámica poblacional del vector *Diaphorina citri* en cada departamento y poder conocer el comportamiento de su diseminación en la República de Guatemala. Además que la información del mapa de los departamentos georreferenciados sea actualizada en próximos estudios de preferencia periodicidad anual para conocer la dinámica del HLB; a la vez agregar datos de lluvias y muestreos del vector *Diaphorina citri* para tomar decisiones a tiempo respecto a la prevención y control de la enfermedad e impedir la diseminación en la República de Guatemala.

2.2.8 BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez, AM. 2004. Integrated approaches for detection of plant pathogenic bacteria and diagnosis of bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:339-366.
2. Bach, HJ; Tomanova, J; Schloter, M; Munch, JC. 2002. Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *J. Microbiol. Methods* 49:235-245.
3. Ban, M. 2006. DNA sequencing and PCR methods. *Advances in Clinical Neuroscience and Rehabilitation* vol. 5 p.18-19.
4. Borbón, J. 2013. Control y monitoreo de *Diaphorinia citri*. República Dominicana, Ministerio de Agricultura de Republica Dominicana. 10 p.
5. Bove, JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88:7-37.
6. Brauer, O. 1973. *Fitogenética aplicada*. México, Limusa. p. 176-177.
7. CentralAmericaData.com. 2013. Naranjas en Centroamérica (en línea). Panamá. Consultado 4 nov. 2016. Disponible en http://www.centralamericadata.com/es/search?q1=content_es_le%3A%22naranjas%22&start=15.
8. Chapot, H. 1975. *Los cítricos*. España, CIBA-GEIGY Agroquímicos. 69 p.
9. Chien, CC. 1992. Bionomics of *Tamarixia radiata* (Waterston): an ectoparasitoid of *Diaphorina citri* Kuwayama in Taiwan. Thesis PhD. Taipei, Taiwan, National Taiwan University. P 55-70.
10. Chung, KR; Brlansky, RH. 2005. Citrus diseases exotic to Florida: Huanglongbing (citrus greening). Consultado 22 abr 2016. Disponible en <http://www.polkhort.ifas.ufl.edu/documents/publications/Citrus%20Greening.pdf>.
11. Coletta-Filho, HD; Lotto, LL; Luciane, FC; Alves, KCS; Pereira, MAR; Machado, MA. 2010. Prevalence of *Candidatus liberibacter* spp. in HLB-diseased citrus plants in São Paulo State, Brazil. In *Conf. Int. Organ. Citrus Virol.* (17, 2010, BR); *Proceedings*. Cordeiropolis, São Paulo, Brazil. p. 110-115.
12. Donovan, NJ; Beattie, GAC; Chambers, GA; Holford, P; Englezou, A; Hardy, S; Dorjee, Wangdi, P., Thinlay; Om, N. 2012. First report of '*Candidatus liberibacter asiaticus*' in *Diaphorina communis*. *Australas. Plant Dis. Notes* 7:1-4.

13. Feichtenberger, E; Bassanezi, RB; Sposito, MB; Belasque, J Jr. 2005. Doenças dos citros. In Kimati, H; Amorim, L; Rezende, JAM; Bergamin, A Filho; Camargo, LEA (eds.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. Ceres, São Paulo, Brazil, Agronômica. p. 239-269.
14. García-Pérez, F; Ortega-Arenas, LD; Lomelí-Flores, JR; Romero-Nápoles, J; López-Arroyo, J; González-Hernández, A. 2010. Caracterización morfológica de psílicos asociados a cítricos en Cazonas, Veracruz. In Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México (1., 2010, México). Monterrey, Nuevo León, México. p. 19-24.
15. Gardne, EM; Simmons, MJ; Snustad, DP. 2000. Principios de genética. Trad. Angélica Santana Calderón. 4 ed. México, Limusa. 119 p.
16. Gottwald, TR. 2010. Current epidemiological understanding of citrus huanglongbing. Annu. Rev. Phytopathol. 48:119-139.
17. Gottwald, TR; Graça, JV; Bassanezi, RB. 2007. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. Plant Health Prog. 10:906-1904.
18. Graça, JV. 1991. Citrus greening disease. Annu. Rev. Phytopathol. 29:109-136.
19. Hall, DG. 2008. Biological control of *Diaphorina citri*. In Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus liberibacter* spp.) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*) (1., 2008, México). Memorias. Hermosillo, Sonora, México, p. 1-11.
20. Hernández, L. 2012. Sistema de información para control de HLB en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.(5):14.
21. Holl, D. 2015. Huevecillos de *Diaphorina citri* (en línea). USA-ARS, Lopez-Colla. Año 2010. El psílido asiático de los cítricos. México, proyecto CONACYT-SAGARPA. Consultado 20 nov. 2016. Disponible en <https://sites.google.com/site/diaphorina/home>
22. Hung, TH; Wu, ML; Su, HJ. 1999. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the polymerase chain reaction. J. Phytopath. 145:599-604.
23. Jagoueix, S; Bove, JM; Garnier, M. 1996. PCR detection of the two *Candidatus liberibacter* species associated with greening disease of citrus. Mol. Cell. Probes. 10:43-50.

24. Johanson, EG; Wu, J; Brigh T, DB; Graham, JH. 2014. Association of *Candidatus liberibacter asiaticus* root infection, but not phloem plugging with root loss on Huanglongbing-affected trees prior to appearance of foliar symptoms. *Plant Pathol.* 63:290-298.
25. López, AS; Bertolini, MJ; Frare, GF; Martins, EC; Wulff, NA; Teixeira, DC; Fernandes, NG; Cambra, M. 2009. Graft transmission efficiencies and multiplication of '*Candidatus liberibacter americanus*' and '*Candidatus liberibacter asiaticus*' in citrus plants. *Phytopathology* 99:301-306.
26. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2016. Laboratorio de diagnóstico fitosanitario (en línea). Guatemala. Consultado 20 mar. 2016. Disponible en http://visar.maga.gob.gt/?page_id=1045
27. OIRSA, Guatemala. 2009. Plan de regional de contingencia para la prevención y contención del HLB en la región de OIRSA. 4 ed. Guatemala. p.1-12.
28. OIRSA, Guatemala; ICDF, Taiwán. 2014. Taller diagnóstico molecular de HLB en cítricos, empleando la técnica de PCR convencional. Guatemala, OIRSA / ICDF / Proyecto de Fortalecimiento para el Control del Huanglongbing (HLB) y la implementación del manejo integrado de plagas (MIP) de los cítricos. p. 18.
29. Padilla, CA; Diez, J; Martínez, S; Bárcena, JA; García, C. 2006. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa: aislamiento y caracterización electroforética de ADN plasmídico. Córdoba, España, Universidad de Córdoba, Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Consultado 26 mar 2009. Disponible en <http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biolmol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pd>.
30. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México). 2012. Protocolo para establecer áreas de control para HLB. México. p. 60.
31. Tatineni, S; Sagaram, US; Gowda, S; Robertson, CJ; Dawson, WO; Iwanami, T; Wang, N. 2008. In Plant distribution of '*Candidatus liberibacter asiaticus*' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR. *Phytopathology* 98:592-599.
32. Ting-Hsuan, H. 2011. Citrus Huanglongbing (HLB) in Taiwan (Power Point presentation). El Salvador, OIRSA, Reunión de trabajo para la formulación del Proyecto Regional de Control de Huanglongbing y Sanidad de los Cítricos. 12 diapositivas.
33. Tsai, JH; Wang, JJ; Li, YH. 2002. Seasonal abundance of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist* 85(3):446-451.

34. Valadéz Moctezuma, E; Kahl, G. 2000. Huellas de ADN de genomas de plantas: teoría y protocolos del laboratorio. México, Mundi-Prensa. 39 p.
35. Watson, JD; Tooze, J; Kurtz, DT. 1986. ADN recombinante: introducción a la ingeniería genética. Trad. por Enrique Cerdá Olmedo. Barcelona, España, Labor. 208 p.45.

9/30
TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACION
FAUSAC
* REVISIÓN *

Polando Barrón

2.2.9 ANEXOS

Anexo 1. Cuadro de datos de HLB.

Cuadro 3A . Recopilados y sistematizados en los departamentos de Guatemala para el año 2016,
con resultado positivo y negativo de la enfermedad *Candidatus liberibacter sp.*

Resultados D: Positiva ND: Negativo

No	Fecha de ingreso	Código LDF	Usuario y/o Empresa	Tipo de empresa	Inspector	Cultivo	Coordenadas de la ubicación	Descripción de Muestra	Análisis requerido	Observaciones	R
1	07/01/2016	LDF-16-0159	MAGA/Cultivos Agro industrializables	Maga/Vigilancia	Ing. Tobar	Cítricos	San José la Maquina Suchitepéquez X391908, Y1607332	Material vegetal	HLB	Crecimiento vegetativo	D
2	21/01/2016	LDF-16-0705	Maga/Vigilancia /Julio Álvarez	Maga/Vigilancia	Ing. Julio Romeo Álvarez	Cítricos	Guatemala X499179,Y 1618205	Material vegetal	HLB	Fase Crecimiento 1497 msnm	ND
3	26/01/2016	LDF-16-0852	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Menéndez	Cítricos	Nueva Concepción MLP. X 413291,Y 1568627	Material vegetal	HLB	Fase producción	ND
4	08/02/2016	LDF-16-1298	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Aníbal Pérez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Planta entera	D
5	08/02/2016	LDF-16-1299	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Aníbal Pérez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Planta entera pequeña	ND
6	08/02/2016	LDF-16-1300	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Aníbal Pérez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Bolsa con hojas	D
7	08/02/2016	LDF-16-1301	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Aníbal Pérez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Raíz expuesta	ND

8	12/02/2016	LDF-16-1576	Maga/Vigilancia /Pedro Cuz	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea San Benito II Cobán Alta Verapaz X 491020, Y 1763128	Material vegetal	HLB	Fase Prefloración Planta de Traspatio	D
9	12/02/2016	LDF-16-1579	Maga/Vigilancia /Julian Paan Tral	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea San José Icbolay Cobán Alta Verapaz X 499204, Y 176296	Material vegetal	HLB	Fase Post Cosecha	ND
10	12/02/2016	LDF-16-1582	Maga/Vigilancia /Ramiro Tox Cao	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Santa Lucia Lachúa Coban Alta Verapaz 486124,Y 1764574	Material vegetal	HLB	Fase Pre Floración	D
11	15/02/2016	LDF-16-1626	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Fase Crecimiento vegetativo (LINEA)	D
12	15/02/2016	LDF-16-1627	Proyecto HLB	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X487092,Y1605512	Material vegetal	HLB	Fase Producción(VISAR)	D
13	22/02/2016	LDF-16-1974	Maga/Vigilancia /Edin Rolando Juarez	Maga/Vigilancia	Ing. Otto Fajardo	Cítricos	Parcelamiento Almolonga, Tiquisate Escuintla X 412768,Y 1577871	Material vegetal	HLB	Fase Producción	ND
14	24/02/2016	LDF-16-2204	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257,Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra I	ND

15	24/02/2016	LDF-16-2205	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra v 2016	D
16	24/02/2016	LDF-16-2206	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra I 2016	D
17	24/02/2016	LDF-16-2207	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra II 2016	D
18	24/02/2016	LDF-16-2208	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra III 2016	D
19	24/02/2016	LDF-16-2209	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Finca Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra II 2016	D
20	24/02/2016	LDF-16-2210	Proyecto HLB OIRSA/Carlos Ruiz	HLB/MAGA/OIRSA	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Fin. Monte María Tucuru Alta Verapaz X 540257, Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra IV 2016	ND
21	26/02/2016	LDF-16-2345	Maga/Vigilancia /HLB/Santiago Tzib Tut	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Tampur La Tinta, Alta Verapaz X 569209, Y 1691886	Material vegetal	HLB	Muestra 22-AV-2016	D
22	26/02/2016	LDF-16-2350	Maga/Vigilancia /HLB/Erick Alfonso Vaides	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Secacao Senahú Alta Verapaz X 582253, Y 1702250	Material vegetal	HLB	Muestra 27-AV 2016 Fase Vegetativo	D

23	02/03/2016	LDF-16-2574	Maga/Vigilancia /Luis Menéndez	Maga/Vigilancia	Ing. Luis Menéndez	Cítricos	Nueva Concepción Escuintla ,X 413693,Y 1570277	Material vegetal	HLB	Fase Producción	ND
24	04/03/2016	LDF-16-2723	Maga/Vigilancia / Francisco Reyes	Maga/Vigilancia	Ing. Arnoldo Oliva	Cítricos	Baja Verapaz, X 0491329 Y 1667623	Material vegetal	HLB	Muestra 20 Fase cosecha	ND
25	10/03/2016	LDF-16-3021	MAGA/Vigilancia/HLB de los Cítricos/Jorge Milian Morales	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Alta Verapaz, Tucuru, Finca Dolce, X 540257 Y 1690165	Material vegetal	HLB	Muestra 34-AV-Fase Latencia	D
26	16/03/2016	LDF-16-3494	Maga/Vigilancia /VISAR/Pedro Barrera	Maga/Vigilancia	Ing. Edgar Ramírez	Cítricos	Nueva Santa Rosa/ Santa Rosa, X 523430 Y 1590819	Material vegetal	HLB	Fase crecimiento o desarrollo Ref 599	ND
27	17/03/2016	LDF-16-3676	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Joyabaj, Quiché, X 465253, Y 1654606	Material vegetal	HLB	Muestra 01. Fase Desarrollo	ND
28	17/03/2016	LDF-16-3679	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Joyabaj, Quiché X 464750Y 1656086	Material vegetal	HLB	Muestra 02. Fase Desarrollo Completo	ND
29	17/03/2016	LDF-16-3682	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Joyabaj, Quiché, X 464670 Y 1656155	Material vegetal	HLB	Muestra 03. Fase desarrollo completo (Floreando)	ND

30	17/03/2016	LDF-16-3685	Maga/Vigilancia /VISA	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Cunen, Quiché, X 446014 Y 1695506	Material vegetal	HLB	Muestra 04. Fase desarrollo completo	ND
31	17/03/2016	LDF-16-3688	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Cunen, Quiché, X 445975 Y 1695489	Material vegetal	HLB	Muestra 05. Fase desarrollo completo de la planta	ND
32	17/03/2016	LDF-16-3691	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Cunen, Quiché, X 445962 Y 1695485	Material vegetal	HLB	Muestra 06 desarrollo completo	ND
33	17/03/2016	LDF-16-3695	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Chicaman, Quiché, X 467772Y 1697928	Material vegetal	HLB	Muestra 07 FF desarrollo completo	ND
34	17/03/2016	LDF-16-3698	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Chicaman, Quiché, X 468419 Y 1697928	Material vegetal	HLB	Muestra 08 desarrollo completo	ND
35	17/03/2016	LDF-16-3701	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Chicaman, Quiché, X 468796 Y 1697016	Material vegetal	HLB	Muestra 09 Desarrollo	ND
36	17/03/2016	LDF-16-3704	Maga/Vigilancia /VISAR	Maga/Vigilancia	Ing. Hugo de León	Cítricos	Chicaman, Quiché, X 470052 Y 1696528	Material vegetal	HLB	Muestra 10 fase desarrollo	ND
37	18/03/2016	LDF-16-3737	Visar	Maga/Vigilancia	Nelson García	Cítricos	Villa Canales Guatemala, X496587, Y 1601287	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo	D

38	18/03/2016	LDF-16-3740	Maga/Vigilancia /Reyna Gricelda Maquín	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Caserío La Constancia, Panzos Alta Verapaz, X 582625 Y 1653055	Material vegetal	HLB	Muestra 36-AV-Latencia	D
39	18/03/2016	LDF-16-3797	Maga/Vigilancia /HLB/Vinicio de la Cruz	Maga/Vigilancia	Ing. Roberto Navarro	Cítricos	Alta Verapaz, X 477659 Y 1570981	Material vegetal	HLB	Muestra 10 fase vegetativo	D
40	30/03/2016	LDF-16-4049	Maga/Jutiapa/Leprosis de los Cítricos	Maga/Vigilancia	Ing. Raúl Soto	Cítricos	El Progreso Jutiapa, X 571090 Y 1547663	Material vegetal	HLB	Muestra 2 fase producción	D
41	01/04/2016	LDF-16-4313	Maga/Vigilancia /Joel Arriza Cordova	Maga/Vigilancia	Ing. Arnoldo Oliva	Cítricos	Sin inf., X 0553346 Y 1684583	Material vegetal	HLB	Muestra 037 fase final cosecha	ND
42	18/04/2016	LDF-16-5050	Maga/Vigilancia /Leprosis/Francisco Morales	Maga/Vigilancia	Ing. Erick Josue Vásquez	Cítricos	Caserío Duraznal Solola, X 424676 Y 1633138	Material vegetal	HLB	Fase fructificación	ND
43	22/04/2016	LDF-16-5268	Maga/Vigilancia /HLB y CVC/Carlos Ichich	Maga/Vigilancia	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Chisubin, Alta Verapaz, X 424676 Y 1633138	Material vegetal	HLB	Muestra 51-AV-ff. latencia	ND
44	22/04/2016	LDF-16-5281	Maga/Vigilancia /Leprosis de los Cítricos/Salvador Morales	Maga/Vigilancia	Ing. Roberto Navarro	Cítricos	Puerto San José, Escuintla, X 462976 X 1539549	Material vegetal	HLB	Muestra 1 vegetativo	ND
45	29/04/2016	LDF-16-5542	Maga/HLB/Edy Moscoso	Sin inf	Ing. Arnoldo Oliva	Cítricos	Salamá, Baja Verapaz, X 0521138 Y 166440	Material vegetal	HLB	Muestra 051 fase fructificación	ND

46	04/05/2016	LDF-16-5648	Maga/Vigilancia / Manuel Quib	Sin inf	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Samalteken II, Cobán, Alta Verapaz, X 471866 Y 1739547	Material vegetal	HLB	Muestra 71-AV-Fase latencia	D
47	04/05/2016	LDF-16-5701	Maga/Vigilancia /Miguel Angel Sagastume	Sin inf.	Ing. Otto Marroquín	Cítricos	Unidad de Riego la Fragua, X 600487 Y 1654325	Material vegetal	HLB	Muestra 4 216 msnm	ND
48	06/05/2016	LDF-16-5856	Maga/Vigilancia /Gilberto Lopez	Sin inf.	Ing. Arnoldo Oliva	Cítricos	Salamá Baja Verapaz, X 0520902 Y 1669705	Material vegetal	HLB	Muestra 052 fase fructificación	ND
49	13/05/2016	LDF-16-6127	Maga/HLB/Mandarina	Sin inf.	Ing. Roberto Navarro	Cítricos	Palin Escuintla, X 476246 Y 1592563	Material vegetal	HLB	Muestra 1 fase floración	D
50	13/05/2016	LDF-16-6128	Maga/HLB/Herlianda Rancho	Sin inf.	Ing. Roberto Navarro	Cítricos	Palin Escuintla, X 475267 Y 1592767	Material vegetal	HLB	Muestra 2 fase f floración	D
51	13/05/2016	LDF-16-6129	Maga/HLB/Escuela Ruiz	Sin inf.	Ing. Roberto Navarro	Cítricos	Palin Escuintla, X 478612 Y 1592669	Material vegetal	HLB	Muestra 3 fase vegetativa	D
52	17/05/2016	LDF-16-6252	Maga/Vigilancia /Hugo Garza	Sin inf.	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Finca San Juan Senahú, Alta Verapaz, X571696 Y1692947	Material vegetal	HLB	Muestrea 76 AV- fase latencia	D
53	02/06/2016	LDF-16-7069	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 1 HLB S1F101,02, 03,04	ND
54	02/06/2016	LDF-16-7070	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 2 HLB S1F205,06, S1F1 05,04, Fecha	ND

										01/06/2016	
55	02/06/2016	LDF-16-7071	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 3 HLB S1F2 03,02,01,S1 F301 Fecha 01/06/2016	ND
56	02/06/2016	LDF-16-7072	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 4 HLB S1F302,03, 04,05 Fecha 01/06/2016	ND
57	02/06/2016	LDF-16-7073	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 5 HLB S1F306,S1F 405,04,03, Fecha 01/06/2016	ND
58	02/06/2016	LDF-16-7074	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 6 HLBS1F402 ,01,S1F501, 02, Fecha 01/06/2016	ND
59	02/06/2016	LDF-16-7075	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 7 HLB S1F5 03,04,05,06, Fecha	ND
60	02/06/2016	LDF-16-7076	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 8 HLB S1F605,04, 03,02, Fecha 01/06/2016	ND

61	02/06/2016	LDF-16-7077	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 9 HLB S1F601,S1F701,02,03, Fecha 01/06/2016	ND
62	02/06/2016	LDF-16-7078	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 10 HLB S1F704,05,06,S1F8 05, Fecha 01/06/2016	ND
63	02/06/2016	LDF-16-7079	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.11 HLB S1F8 04,03,02,01 Fecha 01/06/2016	ND
64	02/06/2016	LDF-16-7080	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 12 HLB S1F901,02,03,04 Fecha 01/06/2016	ND
65	02/06/2016	LDF-16-7081	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 13 HLB S1F905,06, S1F10 05,04, Fecha 01/06/2016	ND
66	02/06/2016	LDF-16-7082	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 14 HLBS1F10 03,02,01, S1F11 01, Fecha	ND

										01/06/2016	
67	02/06/2016	LDF-16-7083	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 15 HLB S1F11 02,03,04,05, Fecha 01/06/2016	ND
68	02/06/2016	LDF-16-7084	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 16 HLB S1F11 06, s1f12 04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
69	02/06/2016	LDF-16-7085	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 17 HLB S1F12 01, Fecha 01/06/2016	ND
70	02/06/2016	LDF-16-7086	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 18 HLB S2F1 01,02,03,04, Fecha 01/06/2016	ND
71	02/06/2016	LDF-16-7087	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 19 HLB S2F1 05,06,S2F2 05,04, Fecha 01/06/2016	ND
72	02/06/2016	LDF-16-7088	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092	Material vegetal	HLB	INV. 20 HLB S2F203,02,	ND

							Y1605512			01, S2F3 01 Fecha 01/06/2016	
73	02/06/2016	LDF-16-7089	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 21 HLB S2F302,03,04,05, Fecha 01/06/2016	ND
74	02/06/2016	LDF-16-7090	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 22 HLB S2F3 06,S2F4 05,04,03, Fecha 01/06/2016	ND
75	02/06/2016	LDF-16-7091	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 23 HLB S2F4 02,01, S2F5 01,02, Fecha 01/06/2016	ND
76	02/06/2016	LDF-16-7092	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 24 HLB S2F5 03,04,05,06, Fecha 01/06/2016	ND
77	02/06/2016	LDF-16-7093	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 25 HLB S2F6 05,04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND

78	02/06/2016	LDF-16-7094	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 26 HLB S2F6 01 ,S2F7 01,02,03, Fecha 01/06/2016	ND
79	02/06/2016	LDF-16-7095	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.27 HLB S2F7 04,05,06,S2 F8 05, Fecha 01/06/2016	ND
80	02/06/2016	LDF-16-7096	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 28 HLB S2F8 04,03,02,01 Fecha 01/06/2016	ND
81	02/06/2016	LDF-16-7097	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 29 HLB S2F901,02, 03,04, Fecha 01/06/2016	ND
82	02/06/2016	LDF-16-7098	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 30 HLB S2F9 05,06, S2F10 05,04 Fecha 01/06/2016	ND
83	02/06/2016	LDF-16-	Proyecto HLB	HLB/MAGA/	Erick	Cítricos	kilómetro 22 Villa	Material	HLB	INV. 31 HLB	ND

		7099	OIRSA	OIRSA	Ramírez		Nueva, X487092 Y1605512	vegetal		S2F10 03,02,01, S2F11 01, Fecha 01/06/2016	
84	02/06/2016	LDF-16- 7100	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 32 HLB S2F11 02, 03,04,05, Fecha 01/06/2016	ND
85	02/06/2016	LDF-16- 7101	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 33 HLB S2F11 06, S2F12 05,04,03, Fecha 01/06/2016	ND
86	02/06/2016	LDF-16- 7102	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 34 HLB S2F1202,01 , Fecha 01/06/2016	ND
87	02/06/2016	LDF-16- 7103	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 35 HLB S3F0 01,02,03,04, Fecha 01/06/2016	ND
88	02/06/2016	LDF-16- 7104	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 36 HLB S3F0 05,06, S3F105,04, Fecha	ND

										01/06/2016	
89	02/06/2016	LDF-16-7105	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 37 HLB S3F1 03,02,01, S3F2 01, Fecha 01/06/2016	ND
90	02/06/2016	LDF-16-7106	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 36 HLB S3F0 05,06, S3F10,5,04, Fecha 01/06/2016	ND
91	02/06/2016	LDF-16-7107	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 39 HLB S3F3 05,04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
92	02/06/2016	LDF-16-7108	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 40 HLB S3F3 01, S3F4 01,02,03, Fecha 01/06/2016	ND
93	02/06/2016	LDF-16-7109	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 41 HLB S3F4 04,05,06 S3F5 04, Fecha	ND

										01/06/2016	
94	02/06/2016	LDF-16-7110	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 42 HLB S3F502,03, 01,S3F6 01, Fecha 01/06/2016	ND
95	02/06/2016	LDF-16-7111	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.43 HLB S3F6 02,03,04,05 Fecha 01/06/2016	ND
96	02/06/2016	LDF-16-7112	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 44 HLB S3F6 06, S3F5 05,04,03, Fecha 01/06/2016	ND
97	02/06/2016	LDF-16-7113	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 45 HLB S3F702,01, S3F8 01 02, Fecha 01/06/2016	ND
98	02/06/2016	LDF-16-7114	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 46 HLB S3F8 03,04,05, 06, Fecha 01/06/2016	ND
99	02/06/2016	LDF-16-7115	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092	Material vegetal	HLB	INV. 47 HLB S4F1	ND

							Y1605512			01,02,03,04, Fecha 01/06/2016	
100	02/06/2016	LDF-16-7116	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 48 HLB S4F1 05, 06,S4F2 05,04 Fecha 01/06/2016	ND
101	02/06/2016	LDF-16-7117	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 49 HLB S4F2 03, 02,01, S4F301,Fec ha 01/06/2016	ND
102	02/06/2016	LDF-16-7118	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 50 HLB S4F3 02,0,04,05,F echa 01/06/2016	ND
103	02/06/2016	LDF-16-7119	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 51 HLB S4F3 06, S4F4 05, 04,03, Fecha 01/06/2016	ND
104	02/06/2016	LDF-16-7120	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 52 HLB S4F4 02,01, S4F501,05 Fecha	ND

										01/06/2016	
105	02/06/2016	LDF-16-7121	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 53 HLB S4F503,04, 05,06, Fecha 01/06/2016	ND
106	02/06/2016	LDF-16-7122	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 54 HLB S4F6 05,04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
107	02/06/2016	LDF-16-7123	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 55 HLB S4F6 01, S4F7 01,02,03, Fecha 01/06/2016	ND
108	02/06/2016	LDF-16-7124	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 56 HLB S4F7 04,05,06, S4F8 05, Fecha 01/06/2016	ND
109	02/06/2016	LDF-16-7125	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 57 HLB S4F8 04,03,02,01, Fecha 01/06/2016	ND
110	02/06/2016	LDF-16-	Proyecto HLB	HLB/MAGA/	Erick	Cítricos	kilómetro 22 Villa	Material	HLB	INV. 58 HLB	ND

		7126	OIRSA	OIRSA	Ramírez		Nueva, X487092 Y1605512	vegetal		S4F9 01, 02,03,04, Fecha 01/06/2016	
111	02/06/2016	LDF-16- 7127	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.59 HLB S4F9 05,06, Fecha 01/06/2016	ND
112	02/06/2016	LDF-16- 7128	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.60 HLB S7F1 01,02,03,04 Fecha 01/06/2016	ND
113	02/06/2016	LDF-16- 7129	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 61 HLB S7F1 05,06,S7F2 05,04, Fecha 01/06/2016	ND
114	02/06/2016	LDF-16- 7130	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 62 HLB S7F2 03,02, 01, S7F3 01 Fecha 01/06/2016	ND
115	02/06/2016	LDF-16- 7131	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 63 HLB S7F3 02,03,04, 05, Fecha	ND

										01/06/2016	
116	02/06/2016	LDF-16-7132	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 64 HLB S7F3 06, S7F4 04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
117	02/06/2016	LDF-16-7133	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 65 HLB S7F4 01, S7F5 01,02,03, Fecha 01/06/2016	ND
118	02/06/2016	LDF-16-7134	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 66 HLB S7F5 04,05,06, S7F6 05, Fecha 01/06/2016	ND
119	02/06/2016	LDF-16-7135	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 67 HLB S7F6 04,03,02,01, Fecha 01/06/2016	ND
120	02/06/2016	LDF-16-7136	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 68 HLB S7F7 01,02,03,04 Fecha 01/06/2016	ND

121	02/06/2016	LDF-16-7137	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.69 HLB S7F7 05,06, S7F8 05,04, Fecha 01/06/2016	ND
122	02/06/2016	LDF-16-7138	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 70 HLB S7F8 03,02,01, S7F9 01, Fecha 01/06/2016	ND
123	02/06/2016	LDF-16-7139	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 71 HLB S7F9 02,03,04,05, Fecha 01/06/2016	ND
124	02/06/2016	LDF-16-7140	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 72 HLB S7F9 06, S7F10 04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
125	02/06/2016	LDF-16-7141	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 73 HLB S7F10 01, Fecha 01/06/2016	ND
126	02/06/2016	LDF-16-7142	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 74 HLB S8F1 01,02,03,	ND

										04, Fecha 01/06/2016	
127	02/06/2016	LDF-16- 7143	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV.75 HLB S8F1 04,05, S8F2 05, 04, Fecha 01/06/2016	ND
128	02/06/2016	LDF-16- 7144	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 76 HLB S8F2 03,02,01, S8F301 Fecha 01/06/2016	ND
129	02/06/2016	LDF-16- 7145	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 77 HLB S8F302,03, 04,05, Fecha 01/06/2016	ND
130	02/06/2016	LDF-16- 7146	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 78 HLB S8F3 06, S8F4 04,03,02, Fecha 01/06/2016	ND
131	02/06/2016	LDF-16- 7147	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/ OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 79 HLB S8F4 01, S8F5 01,02,03, Fecha 01/06/2016	ND

132	02/06/2016	LDF-16-7148	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 80 HLB S8F5 04, 05,06 S8f6 05, Fecha 01/06/2016	ND
133	02/06/2016	LDF-16-7149	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 81 HLB S8F6 04, 03,02,01, Fecha 01/06/2016	ND
134	02/06/2016	LDF-16-7150	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 82 HLB S8F7 01,02,03,04, Fecha 01/06/2016	ND
135	02/06/2016	LDF-16-7151	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 83 HLB S8F7 05,06,S8F8 05,04, Fecha 01/06/2016	ND
136	02/06/2016	LDF-16-7152	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 84 HLB S8F8 03,02,01, S8F9 01 Fecha 01/06/2016	ND
137	02/06/2016	LDF-16-7153	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092	Material vegetal	HLB	INV. 85 HLB S8F9	ND

							Y1605512			02,03,04,05, Fecha 01/06/2016	
138	02/06/2016	LDF-16-7154	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 86 HLB S8F10 05,04,03, 02 Fecha 01/06/2016	ND
139	02/06/2016	LDF-16-7155	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	INV. 87 HLB S8F10 01, Fecha 01/06/2016	ND
140	15/06/2016	LDF-16-7844	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F2 01	ND
141	15/06/2016	LDF-16-7846	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F2 03	ND
142	15/06/2016	LDF-16-7848	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F2 02	ND
143	15/06/2016	LDF-16-7850	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F3 01	ND
144	15/06/2016	LDF-16-7852	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F5 04	ND
145	15/06/2016	LDF-16-7854	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F5 06	ND

146	15/06/2016	LDF-16-7856	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F6 05	ND
147	15/06/2016	LDF-16-7858	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F5 05	ND
148	15/06/2016	LDF-16-7860	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F5 04	ND
149	15/06/2016	LDF-16-7862	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F6 02	ND
150	15/06/2016	LDF-16-7864	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F6 03	ND
151	15/06/2016	LDF-16-7866	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F6 01	ND
152	16/06/2016	LDF-16-7930	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F7 05	ND
153	16/06/2016	LDF-16-7932	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F7 06	ND
154	16/06/2016	LDF-16-7934	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F8 05	ND

155	16/06/2016	LDF-16-7936	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S8 F8 04	ND
156	16/06/2016	LDF-16-7938	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 03	ND
157	16/06/2016	LDF-16-7940	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 04	ND
158	16/06/2016	LDF-16-7942	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 05	ND
159	16/06/2016	LDF-16-7944	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 06	ND
160	16/06/2016	LDF-16-7946	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F4 02	ND
161	16/06/2016	LDF-16-7948	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F4 01	ND
162	16/06/2016	LDF-16-7950	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 01	ND
163	16/06/2016	LDF-16-7952	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S4 F5 05	ND
164	16/06/2016	LDF-16-7954	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F9 05	ND

165	16/06/2016	LDF-16-7956	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F9 06	ND
166	16/06/2016	LDF-16-7958	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F10 05	ND
167	16/06/2016	LDF-16-7960	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F10 04	ND
168	16/06/2016	LDF-16-7962	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S7 003	ND
169	16/06/2016	LDF-16-7964	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F10 001	ND
170	16/06/2016	LDF-16-7966	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	S2 F10 002	ND
171	16/06/2016	LDF-16-7968	Proyecto HLB OIRSA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	kilómetro 22 Villa Nueva, X487092 Y1605512	Material vegetal	HLB	s7 COMPUESTA	ND
172	16/06/2016	LDF-16-7973	Maga/Vigilancia /HLB de los Cítricos Erick Ramírez	Ing. Ramón Vásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Lomas del Norte, Alta Verapaz, X 503871 Y 1749688	Material vegetal	HLB	Muestra 98 fase fructificación	D
173	22/06/2016	LDF-16-8329	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala	ND

174	23/06/2016	LDF-16-8416	HLB	Ing. Luis Armando Menéndez	Ing. Luis Armando Menéndez	Cítricos	Nueva Concepción Escuintla, X 41329 1568627	Material vegetal	HLB	Guatemala, Escuintla	ND
175	28/06/2016	LDF-16-8654	VISAR MAGA	Ing. Otto Fajardo	Ing. Otto Fajardo	Cítricos	Santa Barbara, Suchitepéquez, X 423994 Y 1603741	Material vegetal	HLB	Fase producción	D
176	28/06/2016	LDF-16-8655	VISAR MAGA	Ing. Otto Fajardo/Raúl Herrera	Ing. Otto Fajardo/Raúl I Herrera	Cítricos	Santa Barbara, Suchitepéquez, X 424183 Y 1603741	Material vegetal	HLB	Fase producción	D
177	30/06/2016	LDF-16-8728	Maga/José Arnoldo Vásquez	Sin inf.	Sin inf.	Cítricos	Finca Santa Marta Taxisco, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Fase producción	ND
178	06/07/2016	LDF-16-8917	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala, Amatitlán	ND
179	08/07/2016	LDF-16-9113	Asociación de Brillantes /Aníbal Pérez	HLB/MAGA/OIRSA	Aníbal Pérez	Cítricos	Brillantes Retalhuleu, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala, Amatitlán	ND
180	12/07/2016	LDF-16-9315	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala, Amatitlán	ND
181	14/07/2016	LDF-16-9407	Maga/ Orlando Donis	Ing. Arnoldo Oliva	Ing. Arnoldo Oliva	Cítricos	Salamá Baja Verapaz, sX 0523570 Y 16691215	Material vegetal	HLB	Muestra 084 fase fructificación	D
182	19/07/2016	LDF-16-9602	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala, X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala, Amatitlán	ND
183	21/07/2016	LDF-16-9823	Maga/Vigilancia /Victoriano Cacao	Ing. Ramón Vásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea El Naranjo, Fray Bartolomé, Alta Verapaz, X565450 Y 1760368	Material vegetal	HLB	Muestra 124-AV- fase vegetativo	D

184	21/07/2016	LDF-16-9825	Maga/Vigilancia / Iladelfo Castro	Ing. Ramón Vásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Sector II, Fray Bartolomé, Alta Verapaz X 564615 Y 1758008	Material vegetal	HLB	Muestra 125-AV-fase vegetativo	ND
185	21/07/2016	LDF-16-9826	Maga/Vigilancia /Alejandro Rax	Ing. Ramón Vásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Saholom, Cobán, Alta Verapaz X 473938 Y 1757109	Material vegetal	HLB	Muestra 126-AV-fase fructificación	D
186	21/07/2016	LDF-16-9828	Maga/Vigilancia /Iladelfo Castro	Ing. Ramón Vásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Aldea Sector II, Fray Bartolomé, Alta Verapaz X 564615 Y 1758008	Material vegetal	HLB	Muestra 123-AV-fase fructificación	ND
187	21/07/2016	LDF-16-9869	Maga/Vigilancia /Anibal Méndez	Ing. Gustavo de León	Ing. Gustavo de León	Cítricos	Aldea las Pilas I, Retalhuleu, X 368935 Y 1594828	Material vegetal	HLB	Muestra 0039-Crecimiento Edad 1 año	ND
188	27/07/2016	LDF-16-10195	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala	ND
189	03/08/2016	LDF-16-10529	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala	ND
190	03/08/2016	LDF-16-10540	Maga/Vigilancia /Efraín Pacheco	Ing. Otto Fajardo	Ing. Otto Fajardo	Cítricos	Finca La Soledad, Chicacao, Suchitepéquez X 0410995 Y 1607463	Material vegetal	HLB	Muestra STR-01 fase producción	ND
191	08/08/2016	LDF-16-10740	Agropecuaria Popoyan S.A	Alejandra Castillo	Alejandra Castillo	Cítricos	Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	Guatemala	ND
192	09/08/2016	LDF-16-10892	HLB-OIRSA-MAGA Barbara Argueta	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala	Material vegetal	HLB	S8F7 05 Villa Nueva Guatemala	ND

193	09/08/2016	LDF-16-10894	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F7 06 Villa Nueva Guatemala	ND
194	09/08/2016	LDF-16-10896	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F8 05 Villa Nueva Guatemala	ND
195	09/08/2016	LDF-16-10898	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F8 04 Villa Nueva Guatemala	ND
196	09/08/2016	LDF-16-10900	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F2 01 Villa Nueva Guatemala	ND
197	09/08/2016	LDF-16-10902	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F2 02 Villa Nueva Guatemala	ND
198	09/08/2016	LDF-16-10904	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F2 03 Villa Nueva Guatemala	ND
199	09/08/2016	LDF-16-10906	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F3 01 Villa Nueva Guatemala	ND
200	09/08/2016	LDF-16-10908	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F6 01 Villa Nueva Guatemala	ND
201	09/08/2016	LDF-16-10910	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F6 02 Villa Nueva Guatemala	ND
202	09/08/2016	LDF-16-10912	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F6 03 Villa Nueva Guatemala	ND

203	09/08/2016	LDF-16-10914	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S8F6 04 Villa Nueva Guatemala	ND
204	09/08/2016	LDF-16-10916	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F4 01 Villa Nueva Guatemala	ND
205	09/08/2016	LDF-16-10918	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 05 Villa Nueva Guatemala	ND
206	09/08/2016	LDF-16-10920	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 01 Villa Nueva Guatemala	ND
207	09/08/2016	LDF-16-10922	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 02 Villa Nueva Guatemala	ND
208	09/08/2016	LDF-16-10924	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 03 Villa Nueva Guatemala	ND
209	09/08/2016	LDF-16-10926	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 04, Villa Nueva	ND
210	09/08/2016	LDF-16-10928	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F9 5 Villa Nueva Guatemala	ND
211	09/08/2016	LDF-16-10930	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F9 06 Villa Nueva Guatemala	ND
212	09/08/2016	LDF-16-10932	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F10 04 Villa Nueva	ND

213	09/08/2016	LDF-16-10939	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S2F10 05 Villa Nueva Guatemala	ND
214	17/08/2016	LDF-16-11438	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F0 01 Villa Nueva Guatemala	ND
215	17/08/2016	LDF-16-11439	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 04 Villa Nueva Guatemala	ND
216	17/08/2016	LDF-16-11440	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F4 01 Villa Nueva Guatemala	ND
217	17/08/2016	LDF-16-11441	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 05 Villa Nueva Guatemala	ND
218	17/08/2016	LDF-16-11442	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F8 02 Villa Nueva Guatemala	ND
219	17/08/2016	LDF-16-11443	Programa HLB-OIRSA-MAGA	HLB/MAGA/OIRSA	Erick Ramírez	Cítricos	Villa Nueva, Guatemala X 499179 Y 1618205	Material vegetal	HLB	S4F5 03 Villa Nueva Guatemala	ND
220	29/08/2016	LDF-16-11914	OIRSA/HLB/Finca La Soledad/Efraín Pacheco/		Ing. Otto Fajardo/Raúl Herrera	Cítricos	Finca La Soledad Chicacao Suchitepéquez X 411037 Y 1607478	Material vegetal	HLB	Muestra 02 Coordenadas Ext 38 alt 457	ND
221	29/08/2016	LDF-16-11915	VISAR/USAC/Noé Marroquín		Ing. Otto Fajardo/Raúl Herrera	Cítricos	Conrado de la Cruz Santo Domingo Suchitepéquez X 393422 Y 1568527	Material vegetal	HLB	Muestra 03 fase f producción Ext 4 mz Pto 628	ND

222	29/08/2016	LDF-16-11916	VISAR/USAC/José Antonio Arauz		Ing. Otto Fajardo/Raúl Herrera	Cítricos	Conrado de la Cruz Santo Domingo Suchitepéquez X 393782 Y 1568853	Material vegetal	HLB	Muestra 04 ext 4 mz	ND
223	30/08/2016	LDF-16-11980	I-03-03924	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 1 Fase desarrollo	ND
224	30/08/2016	LDF-16-11984	I-03-03925	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 2 Bacterias, fase desarrollo	ND
225	30/08/2016	LDF-16-11987	I-03-03926	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 3 fase desarrollo	ND
226	30/08/2016	LDF-16-11990	I-03-03927	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 4 fase desarrollo	ND
227	30/08/2016	LDF-16-11993	I-03-03928	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 5 fase desarrollo	D
228	30/08/2016	LDF-16-11996	I-03-03929	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 6 fase desarrollo	ND
229	30/08/2016	LDF-16-11999	I-03-03930	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Hugo Velásquez	Cítricos	Green Export, Chisec Alta Verapaz X 514306 Y 1710289	Material vegetal	HLB	Sector 2 fase desarrollo	ND

230	31/08/2016	LDF-16-12118	Maga/Vigilancia /Ángela Xol Caal	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Ramón Vásquez	Cítricos	Panzos, aldea Calun, alta Verapaz X577660 Y1693124	Material vegetal	HLB	Muestra 151-AV- fase vegetativo	D
231	05/09/2016	LDF-16-12217	Visar/Santa Rosa/HLB de Cítricos Lesvia Laura Monterroso Corleto	Ing. Hugo Velásquez	Ing. Edgar Ramírez	Cítricos	SanJuan Tecuaco, Santa Rosa X 525246Y 1557267	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo	D
232	05/09/2016	LDF-16-12248	Maga/Vigilancia /Baldomero Mas	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad 5 de Abril Santa Barbara Suchitepéquez X 424030 Y 1603689	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo	D
233	05/09/2016	LDF-16-12249	Maga/Vigilancia /Rosendo Ordoñez	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad 5 de Abril Santa Barbara Suchitepéquez X 424035 Y 1603659	Material vegetal	HLB	Fase fructificación	D
234	05/09/2016	LDF-16-1220	Maga/Vigilancia /Efrain Pérez	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad 5 de Abril Santa Barbara Suchitepéquez X 424028 Y 1603637	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo vegetativo	ND
235	05/09/2016	LDF-16-12251	Maga/Vigilancia /Fabiana Mendez	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad 5 de Abril Santa Barbara Suchitepéquez X 424022 Y 1603561	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo vegetativo	D
236	05/09/2016	LDF-16-12252	Maga/Vigilancia /Fabiana Mendez	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl	Cítricos	Suchitepéquez X 0424022 Y 1603561	Material vegetal	HLB	Fase Desarrollo vegetativo	ND

					Herrera						
237	05/09/2016	LDF-16-12253	Maga/Vigilancia /Rosendo Albino de León	Ing. Hugo Velásquez	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Suchitepéquez X 423969 Y 1603442	Material vegetal	HLB	Fase desarrollo vegetativo	D
238	05/09/2016	LDF-16-12254	Maga/Vigilancia /Urbano Oliva	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Suchitepéquez X 424184 Y 16003233	Material vegetal	HLB	Fase producción	ND
239	05/09/2016	LDF-16-12255	Maga/Vigilancia /Francisco Carrillo	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Suchitepéquez sX 424095 Y 1603241	Material vegetal	HLB	Fase fructificación	ND
240	05/09/2016	LDF-16-12256	Maga/Vigilancia /Vicente Losog	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Suchitepéquez X 424098 Y 1603295 Fase	Material vegetal	HLB	Fase f fructificación	D
241	05/09/2016	LDF-16-12257	Maga/Vigilancia /Elmer Otoniel De León	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad El Esfuerzo Santa Barbara Suchitepéquez X 424373 Y 1602708	Material vegetal	HLB	Fase producción	ND
242	05/09/2016	LDF-16-12258	Maga/Vigilancia /Joselin Marleny Pablo Cumes	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad Esfuerzo Santa Barbara Suchitepéquez X 424450 Y 1602783	Material vegetal	HLB	Fase producción	ND

243	05/09/2016	LDF-16-12259	Maga/Vigilancia /Julio Rodas	Sin inf.	Otto Fajardo M/Raúl Herrera	Cítricos	Comunidad El Esfuerzo Santa Barbara Suchitepéquez X 424483 Y 1603018	Material vegetal	HLB	Fase producción	D
244	12/09/2016	LDF-16-12732	Maga/Vigilancia /Raúl Herrera	Sin inf.	Ing. Otto Fajardo	Cítricos	Finca La Patria La Patria EXCISA Santa Barbara Suchitepéquez X 413797 Y 1601255	Material vegetal	HLB	Fase Cosecha	D
245	12/09/2016	LDF-16-12733	Maga/Vigilancia /Raúl Herrera	Sin inf.	Ing. Otto Fajardo	Cítricos	Suchitepéquez X 413627 Y 1600732	Material vegetal	HLB	Fase cosecha	D

Fuente: Elaboración propia, 2016



CAPÍTULO III

Servicios prestados en el área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LDF) del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR) del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA).

3.1 Introducción

El trabajo del plan de servicios, presenta los servicios más importantes prestados como requisito del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), con los objetivos de: 1) Ampliar los conocimientos adquiridos durante la fase de estudios en la Facultad de Agronomía; y, 2) ofrecer servicios de importancia para la entidad que brinda la oportunidad de realizar en ella el ejercicio profesional supervisado. El primer servicio prestado durante el periodo de EPS, es la inspección del manejo fitosanitario de la producción de plantas sanas del invernadero de cítricos del MAGA kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala. El segundo servicio es la realización de un protocolo de Bioseguridad del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, MAGA kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

3.2 Marco Referencial

3.2.1 Localización.

El Departamento de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación -MAGA-, Laboratorio de Diagnóstico Vegetal (LDF), se encuentra situado en el kilómetro 22 Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala,



Figura 9. Localización de LDF.

Fuente: Maldonado M., M. 2016

3.3 Objetivo General

Prestar servicios de apoyo al funcionamiento del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del Departamento de Sanidad Vegetal del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones VISAR-MAGA, del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.

3.4 Servicio No. 1. Inspección del manejo fitosanitario de la producción y multiplicación de plantas sanas del invernadero de cítricos del MAGA Kilómetro 22, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala.

3.4.1 Objetivo General

- Apoyo a la detección de la presencia de Huanglonbing (HLB) en el invernadero MAGA, kilómetro 22.

3.4.2 Metodología

Se realizaron las siguientes actividades.

- Inspecciones del cultivo de cítricos del invernadero para verificar si hay presencia de plagas o enfermedades que puedan dañar el cultivo, en particular para detectar la presencia de HLB.
- Se colocaron trampas de color amarillo, que es el color que atrae al vector *Diaphorina citri*, las cuales se cambiaron cada 15 días con la finalidad de mantener un mejor control del vector transmisor de la bacteria *Candidatus liberibacter* sp. causante del HLB. En el anexo 2A se muestran las trampas colocadas en el ingreso del invernadero.
- Se verificó que el riego sea homogéneo en el invernadero para que el cultivo no sufra estrés hídrico.
- Se verificó que el ferti-riego del cultivo de cítricos del invernadero cuente con los macro nutrientes y micro nutrientes esenciales para el desarrollo fenológico del cultivo.
- Se revisaron cuidadosamente las hojas de los cítricos para determinar la presencia de síntomas de HLB.

3.4.3 Resultados

Con el apoyo de los profesionales que están a cargo del invernadero se hicieron las inspecciones correspondientemente dentro del invernadero y se pudo observar que no hubo detección de plagas ni enfermedades, lo que es consecuencia de un buen manejo fitosanitario dentro y fuera del invernadero.

Las inspecciones fueron realizadas constantemente cada 20 a 30 días y no se encontró evidencia física del vector *Diaphorina citri*.



Figura 10. Trampas para detectar *Diaphorina citri* en el invernadero del MAGA kilómetro 22 Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Como se puede observar en la figura 10, se encontraron otro tipo de plagas entomológicas en las trampas, de las cuales se encontraron las siguientes familias: familia Sarcophagidae, familia Noctuidae, familia Asilidae, familia Callipharidae, familia Culicidae,

En la figura 11 se muestran plantas cultivadas en el invernadero de cítricos, en las cuales no se detectó la presencia de *Candidatus liberibacter sp*



Figura 11. Inspección fitosanitaria del invernadero del MAGA kilómetro 22 Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

En la figura 12 se puede observar el invernadero, donde se mantiene un estricto control fitosanitario, realizando monitoreos constante de plantas.



Figura 12. Invernaderos de cítricos del MAGA, kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

En la figura 13 se observa el sistema de riego del invernadero, el cual cumple con los requerimientos nutricionales del cultivo de cítricos, lo cual es importante para no tener deficiencias y que no presenten síntomas de enfermedades al cultivo o bajo rendimiento en su producción.



Figura 13. Ferti-riego del invernadero del MAGA, kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

Fuente: Elaboran propia, 2016.

En la figura 14 se muestra la toma de datos para el correspondiente muestreo, en el invernadero para la detección de *Candidatus liberibacter* sp. se realizaron cada seis meses y los resultados presentados por el LDF son negativos.



Figura 14. Muestreo de la presencia de *Candidatus liberibacter* sp. del invernadero MAGA, kilómetro 22, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala

Fuente: Elaboración propia, 2016.

3.4.4 Conclusiones

El manejo fitosanitario en general es una actividad para el control y erradicación de plantas enfermas o con presencia de plagas entomológicas que puedan afectar el desarrollo del cultivo de cítricos en el invernadero. Se mantienen constantes monitoreos del HLB.

3.4.5 Recomendaciones

1. Seguir efectuando el manejo fitosanitario apropiado del invernadero.
2. Efectuar el control de trampas para la detección de plagas que pueden dañar el cultivo de cítricos.
3. Realizar el muestreo y si hubiera presencia del vector tomar medidas de control ya sea químico o biológico para equilibrar las poblaciones del vector favoreciendo al ecosistema y obteniendo beneficios del manejo fitosanitario.
4. Implementar un manual de Buenas Prácticas Agrícolas, con enfoque al manejo fitosanitario.

3.5 Servicio 2. Protocolo de Bioseguridad del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, MAGA, kilómetro, 22 Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

El área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario no cuenta con un protocolo de Bioseguridad Industrial que sirva de guía para informar de las medidas de seguridad que se deben tomar dentro del área de Análisis Molecular. La existencia y aplicación de este protocolo de Bioseguridad Industrial es base fundamental para el desempeño laboral en el laboratorio, por lo que fue necesaria la elaboración del protocolo de Bioseguridad Industrial.

3.5.1 Objetivo General

1. Elaborar un protocolo con los pasos necesarios de Bioseguridad Industrial para el área de Análisis Molecular.

3.5.2 Metodología

Se procedió a la recopilación de información, con el apoyo de los profesionales del área de Análisis Molecular mediante entrevistas realizadas a cada uno y con lectura complementaria de libros, folletos, guías y manuales.

Se tomó como base, para la estructura del protocolo, la lista que se utiliza para el desempeño de las actividades dentro del área de Análisis Molecular.

Durante la redacción del protocolo se describen los pasos que se deben seguir en la seguridad del LDF. Con el propósito de mejorar el proyecto elaborado, este se entregó al profesional encargado (jefe de área) del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario Departamento de Sanidad Vegetal y a los técnicos del área de Análisis Molecular para la aplicación del protocolo de Bioseguridad Industrial, el protocolo fue revisado y corregido por el jefe de área y las correcciones sugeridas se integraron al protocolo para un mayor control de Bioseguridad.

En seguida de haber terminado el protocolo de bioseguridad se entregó oficialmente al jefe del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del departamento de Sanidad Vegetal sin embargo, este protocolo se queda en la fase de implementación por parte de los profesionales del área de Análisis Molecular.

3.5.3 Resultados

El protocolo de Bioseguridad Industrial del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, consta de elementos de importancia para la seguridad del personal del área Análisis Molecular.

A continuación se presenta el protocolo de Bioseguridad, elaborado por el estudiante de EPS:

3.5.3.1 Protocolo de Bioseguridad Industrial.

El Protocolo de Bioseguridad se entregó al personal del área de Análisis Molecular para la prevención de agentes Biológicos, Químicos, Físicos, resguardando la seguridad del personal del LDF.

1. Todo el personal debe utilizar bata totalmente cerrada dentro del área de Análisis Molecular.
2. No ingresar al servicio sanitario con bata.
3. Se prohíbe el consumo de alimentos y bebidas dentro del área de Análisis Molecular
4. No utilizar audífonos, ni aplicarse cosméticos dentro del área de Análisis Molecular.
5. Utilizar zapatos antideslizantes, cerrados, que cubran totalmente los pies para evitar el contacto con sustancias si hubiera algún derrame. NO UTILIZAR SANDALIAS, NI ZAPATOS DE TACON ALTO, para evitar deslizamientos y accidentes.
6. Verificar que en la limpieza no se utilice cera o algún tipo de lustre para evitar accidentes.
7. Los reactivos y materiales del laboratorio se deben almacenar en lugares específicamente designados e identificados.

8. Toda muestra debe ser identificada correctamente.
9. El personal debe informar a los técnicos y profesionales del laboratorio de los reactivos o material vegetal con peligro de contaminación y utilizar guantes de látex para su seguridad.
10. Al momento de utilizar los aparatos con reacción al calor se debe informar al personal del laboratorio, para tomar las precauciones necesarias.
11. El personal ajeno al área de Análisis Molecular (invitados) debe ser informado de la Bioseguridad Industrial a seguir dentro del LDF.
12. Lavarse las manos antes de realizar cualquier actividad, desinfectarse con etanol al 70 % y de igual manera al salir del área de Análisis Molecular.
13. Se prohíbe el ingreso de bebidas alcohólicas al área de Análisis Molecular.
14. Se prohíbe fumar dentro del área de Análisis Molecular.
15. Antes de retirarse de las instalaciones del LDF verificar que el equipo permanezca completamente apagado y que los reactivos estén en su lugar respectivo, dejando el área de trabajo limpia.

Fuente: Elaboración propia, 2016

3.5.4 Conclusión

Se desarrolló un protocolo de Bioseguridad Industrial para promover la importancia de la seguridad de las personas que desempeñan labores dentro del área del LDF. El protocolo será socializado para ser utilizado dentro del área de Análisis Molecular del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.

3.5.5 Recomendaciones

1. Cumplir con las normativas del protocolo de Bioseguridad.
2. Implementar una bitácora de Bioseguridad.
3. Dar capacitaciones de Bioseguridad Industrial al personal del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario.
4. Colocar panfletos o carteles de Bioseguridad Industrial en puntos de entrada al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario.

3.6 Bibliografía

1. Clima en Guatemala (en línea). 2014. Consultado 10 mar. 2014. Disponible en [http://www.insivumeh.gob.gt/meteorologia/zonas%20 climaticas.htm](http://www.insivumeh.gob.gt/meteorologia/zonas%20climaticas.htm)
2. Maldonado M., M. 2016. Diagnóstico del Departamento de Laboratorio del km 22 del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Guatemala. 21 p. (Sin publicar).
3. VISAR (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones, Departamento de Fortalecimiento y Modernización Institucional, Guatemala); OCRET (Oficina de Control de Áreas de Reserva del Estado, Guatemala). 2011. Manual de organización y funciones nueva estructura (en línea). Guatemala. Consultado 6 mar. 2014. Disponible en http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/pdf/uip/enero13/6/manual_visar.pdf

TESIS Y DOCUMENTOS DE GRADUACIÓN
FAUSAC
REVISIÓN
Polando Barrera

3.7 Anexos

ANEXO 2A. Muestreo de trampa colocada en el ingreso al invernadero.



Figura 15A. Corredor del invernadero.

Fuente: Elaboración propia, 2016