

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS**



**ETIOLOGIA, INCIDENCIA, SEVERIDAD Y
DISTRIBUCION DEL TIZON DE CRISANTEMO,
EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA.**

SVEDA YASIL CUMES MANTANICO

Guatemala, julio 2008.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

ETIOLOGIA, INCIDENCIA, SEVERIDAD Y
DISTRIBUCION DEL TIZON DE CRISANTEMO,
EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA.

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem in the background. It features a central shield with various symbols, including a crown at the top, a figure holding a staff, and a lion. The shield is flanked by two columns. The outer ring of the seal contains the Latin text "ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERAS RBIS CONSPICUA CAROLINA" in a circular arrangement.

TESIS
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR
SVEDA YASIL CUMES MANTANICO

En el acto de investidura como
INGENIERA AGRÓNOMA
EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA JULIO, 2008.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Lic. CARLOS ESTUARDO GALVEZ BARRIOS
RECTOR

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

| | |
|---------------|-----------------------------------------|
| DECANO | MSc. FRANCISCO JAVIER VÁSQUEZ VÁSQUEZ |
| VOCAL PRIMERO | ING. AGR. WALDEMAR NUFIO REYES |
| VOCAL SEGUNDO | ING. AGR. WALTER ARNOLDO REYES SANABRIA |
| VOCAL TERCERO | ING. AGR. DANILO ERNESTO DARDON AVILA |
| VOCAL CUARTO | BR. MIRNA REGINA VALIENTE |
| VOCAL QUINTO | BR. NERY BOANERGES GUZMAN AQUINO |
| SECRETARIO | MSc. EDWIN ENRIQUE CANO MORALES |

Guatemala, julio 2008.

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

Señores representantes:

En cumplimiento a las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el trabajo de tesis titulado:

ETIOLOGIA, INCIDENCIA, SEVERIDAD Y DISTRIBUCION DEL TIZON DE CRISANTEMO (Virus marchitez manchada del Tomate -VMMT-), EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA.

Como requisito previo a optar el título de Ingeniera Agrónoma en Sistemas de Producción Agrícola en el grado de Licenciatura.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación.

Agradeciendo la atención a la presente

Atentamente.

Sveda Yasil Cumes Mantanico

AGRADECIMIENTO:

- AL CREADOR DEL UNIVERSO:** Porque tú das el conocimiento y de ti viene toda sabiduría. Fuente inagotable de amor que ilumina el sendero de mi vida; mi paz y serenidad en los momentos de incertidumbre.
- A LA VIRGEN MARIA:** Modelo perfecto de virtudes a seguir. Por tu intercesión hoy logro una de mis metas mas anheladas.
- A MI MADRE: **Aurelia Victoria Mantanico López, (+)** madre sabia y ejemplar, gracias por guiarme en el camino de la fe, la esperanza y el amor. Por su abnegación y entrega hoy he logrado este sueño, mil gracias por su amor sin límites.
- A MI PADRE: **Roberto Cumes Simón,** amigo incondicional y ejemplo de integridad. Gracias: por su confianza y apoyo, para alcanzar mi meta y por haber compartido este anhelo conmigo.
- A MIS HERMANAS: Mirian Odesa, Madelin Miroslava, Mara Ludvina e Ibel Karlova, en especial a Odesa por su apoyo en todo momento y circunstancia.
- A MIS ABUELOS: Especialmente a Isabela Simón (+), porque su vida siempre estuvo llena de alegría y amor para compartir, en medio de una sencillez ejemplar.
- A MIS SOBRINOS: Roberto Estéban(+) y Diego Alexander por llenar mi vida de cariño.
- A MIS TIAS Y TIOS: Especialmente a Martha Mantanico y Teresa Cumes; a la memoria de Maria Cumes y Juan Mantanico por sus sabios consejos y su gran cariño.
- A MIS PRIMOS: En especial a Jorge Cumes, por su cariño y motivación. A Martha Mantanico, Samuel Cumes, Eugenia Ch. Mantanico, Estuardo Mantanico, Saúl Cumes y Hugo Cumes. A todas y todos con mucho cariño.
- A TODA MI FAMILIA: Por sus consejos y amistad demostrados.

A MIS AMIGOS:

Rita Tobías, Nahum Albeño, Cecilia Ramos, Rafael López, Evelyn Estrada, Carlos Recinos, Alejandra Monterroso, Rodolfo Patzán, Lidamar Cardona, Estuardo Galicia, Ligia Monterroso, Mack Milan Cruz, Claudia Chávez, Alden Sánchez, Juan José Sosa y Marina Guzmán por su valiosa amistad. A todos con quienes compartí momentos agradables, que no mencioné pero llevo en mi corazón; mi amistad y aprecio.

A LAS FAMILIAS:

Montejo Montt, Baltazar, Morales Mellado y López Osorio.

A MI ASESOR:

Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela, agradecimientos por los conocimientos y experiencia compartidos, por haberme dado la oportunidad de realizar mi investigación. Mi respeto y cariño.

A:

don Julio Peña y Pedro Echeverría, por su amistad y apoyo en la fase de laboratorio.

DEDICO ESTE ACTO:

A MI PATRIA GUATEMALA: Rica en diversidad agrícola y forestal.
A la cultura Maya como tributo a su ingenio constructivo, investigación científica y vocación pacifista.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

A LA FACULTAD DE AGRONOMÍA.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON EN MI FORMACION.

A MIS MAESTROS Y CATEDRATICOS EN GENERAL.

INDICE

| | Pág. |
|----------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. RESUMEN..... | iv |
| 2.- INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 3.- DEFINICIÓN DEL PROBLEMA..... | 2 |
| 4.- MARCO TEÓRICO..... | 4 |
| 4.1. MARCO CONCEPTUAL..... | 4 |
| 4.1.1. Origen del cultivo de crisantemo..... | 4 |
| 4.1.2. Taxonomía y morfología..... | 5 |
| 4.1.3. Importancia económica y distribución geográfica..... | 5 |
| 4.1.4. Particularidades del cultivo..... | 7 |
| 4.1.5. Plagas de crisantemo..... | 8 |
| 4.2. MARCO REFERENCIAL..... | 15 |
| 4.2.2.- Referencia Geográfica..... | 15 |
| 5. OBJETIVOS..... | 18 |
| 6. HIPÓTESIS..... | 19 |
| 7. METODOLOGÍA..... | 20 |
| 7.1. DETERMINACION DEL AGENTE PATOGENO..... | 20 |
| 7.1.,1. Diagnostico de agentes fitopatógenos..... | 20 |
| 7.2 GRADO DE IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD..... | 23 |
| 7.2.1. Estudio de la Incidencia | 23 |
| 7.2.2. Distribución..... | 25 |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSION..... | 27 |
| 8.1. DETERMINACION DEL AGENTE PATOGENO..... | 27 |
| 8.1.1. Diagnóstico de virus..... | 27 |
| 8.1.2. Diagnósticos de bacteria y hongo..... | 31 |
| 8.2 GRADO DE IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD..... | 31 |
| 8.2.1. Estudio de la Incidencia..... | 31 |
| 8.2.2. Distribución de los patógenos causales del tizón de crisantemo..... | 36 |
| 9. CONCLUSIONES..... | 37 |
| 10. RECOMENDACIONES..... | 38 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA..... | 39 |
| 12. APÉNDICE..... | 41 |

INDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. Planta de <i>Chrysanthemum</i> sp..... | 5 |
| 2. Materiales enviados para realizar la metodología..... | 22 |
| 3. Tejidos infectados que se iban a macerar..... | 22 |
| 4. Porción de la hoja presentando síntomas, la cual fue impregnada en la membrana FTA..... | 22 |
| 5. Ubicación geográfica de las aldeas: 1) Comunidad de Ruiz 2) Sajcavilla 3) Camino de San Pedro 4) Loma Alta 5) Cruz Blanca 6) Comunidad de Zet y 7) la cabecera Municipal..... | 26 |
| 6. Síntoma de Necrosis provocada por el VMMT, | 28 |
| 7. Síntomas severos bien marcados en el tallo y hojas..... | 28 |
| 8. Virus distribuido por toda la planta principalmente en el tallo..... | 28 |
| 9. Tejido vegetal en la solución amortiguadora, con reacción positiva..... | 30 |
| 10. Muestras de las hojas con signos y síntomas que fueron maceradas y enviadas para el análisis..... | 30 |
| 11. Muestras de crisantemo analizadas..... | 30 |
| 12. Características de los invernaderos en todas las comunidades en estudio..... | 30 |
| 13. Incidencia y severidad En Invernaderos, de Tizón de Crisantemo, en San Juan Sacatepéquez, Guatemala..... | 32 |
| 14. Síntomas iniciales de la enfermedad..... | 33 |
| 15. Sintomatología visible principalmente en el tallo..... | 33 |
| 16. Síntomas severos de la enfermedad del Tizón de Crisantemo..... | 33 |
| 17. Planta enferma, con síntomas severos..... | 33 |
| 18. Planta con los síntomas de clorosis y deformaciones muy severos..... | 33 |
| 19. Incidencia y severidad Entre Invernaderos, en San Juan Sacatepéquez, Guatemala..... | 34 |
| 20. a) y b) Plantas de Crisantemo con síntomas severos de la Enfermedad | 35 |
| 20. c) Destrucción inicialmente en el tallo, de los haces vasculares provocada por la enfermedad del Tizón..... | 35 |
| 21. Planta con síntomas muy leves de la enfermedad..... | 35 |
| 22. El esquema para Identificación simplificada de Bacterias fitopatógenas..... | 41 |

INDICE DE CUADROS.

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Cuadro de resultados de Incidencia y Severidad En Invernaderos..... | 32 |
| 2. Cuadro de resultados de Incidencia y Severidad Entre Invernaderos..... | 34 |
| 3. Reporte general de los patógenos determinados según el muestreo de las aldeas..... | 46 |
| 4. Resultados de datos de campo, de incidencia, severidad, % de incidencia y severidad y coordenadas geográficas..... | 45 |

1.- RESUMEN

ETIOLOGIA, INCIDENCIA, SEVERIDAD Y DISTRIBUCION DEL TIZON DE CRISANTEMO, EN SAN JUAN SACATEPEQUEZ, GUATEMALA.

ETIOLOGY, INCIDENCE , SEVERITY AND DISTRIBUTION OF BLIGHT OF CHRYSANTHEMUM, IN SAN JUAN SACATEPEQUEZ, GUATEMALA.

En San Juan Sacatepéquez, el cultivo de Crisantemo (*Chrysanthemum maximum*), es uno de los más importantes y parte fundamental de la economía dentro del área, sin embargo, tanto en la municipalidad del mismo, como en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, no se ha generado información sobre la cantidad de producción, el número de productores y el área de producción.

Uno de los objetivos de la presente investigación fue determinar el agente patógeno causal del Tizón del Crisantemo en el Municipio de San Juan Sacatepéquez; estableciendo asimismo la distribución, incidencia y severidad, en el área de estudio.

Los productores enfrentan esta enfermedad la cual causa severos daños y de la que existe muy poca información, para Guatemala, solo existe a nivel de Latinoamérica y a nivel mundial.

A través de los diferentes muestreos realizados en la investigación se recolectaron muestras de plantas de Crisantemo, que presentaron síntomas y signos del agente fitopatógeno. Se realizaron los diagnósticos: en el laboratorio de Fitopatología, de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, en el Laboratorio de Virología de la Universidad del Valle de Guatemala y en el Laboratorio de Virología , Departamento de Patología de Plantas, de la Universidad del Estado de Carolina del Norte, Estados Unidos.

El agente causal de la enfermedad, que se determinó es el VMVT Virus Marchitez Manchada del Tomate (TSWV Tomato Spotted Wilt Virus), el cual presentó manchas cloróticas y amarillas que luego se tornaron de color marrón en las hojas. Y en los tallos necrosamiento que se extiende más o menos desde el centro hacia arriba y hacia abajo, licuefacción de estos, y por ende muerte del ápice de crecimiento y eje floral.

En base a los resultados obtenidos en campo, a nivel general, en las siete áreas de estudio, el porcentaje de distribución de las incidencias mas alta se encuentran en la aldea Comunidad de Zet: reportándose Entre Invernaderos, en 73%, en la totalidad de 40 puntos muestreados, y En Invernaderos de 80%, en 200 puntos muestreados.

La condición de escaso conocimiento y aplicación de medidas de control integrado de la enfermedad, favorecen la dispersión y permanencia del patógeno causante de la misma, en las plantaciones de Crisantemo.

2. INTRODUCCIÓN

El genero *Chrysanthemum* sp., presenta más de 200 especies y muchas mas variedades, una de ellas es ***Chrysanthemum maximum*** var. **Shasta daisy** la cual es valorada por su calidad ornamental, es propagada y comercializada por los productores del municipio de San Juan Sacatepéquez, con destino al mercado nacional y centroamericano, favoreciendo movimientos económicos donde se involucran varios sectores de la población.

A pesar de la importancia del cultivo, no se ha generado información sobre el área cultivada, solo se conoce que es aproximadamente de dos mil invernaderos rústicos y quinientas parcelas a campo abierto a nivel general del municipio; las siete aldeas en las que se produce son: Comunidad de Ruiz, Camino de San Pedro, Comunidad de Zet, Cruz Blanca, Loma Alta, Sajcavilla y el Municipio de San Juan Sacatepéquez, comunidades donde se llevó a cabo la presente investigación.

La especie es afectada por varios agentes fitopatógenos, pero el mas importante en la actualidad es la enfermedad denominada Tizón del Crisantemo el cual daña totalmente las plantas; provocando pérdidas entre el 10% y 90% de la producción total.

La enfermedad se caracteriza por: necrosis severa en hojas y tallos, pudrición del tallo, clorosis o amarillamiento, muerte del ápice de crecimiento, enanismo y disminución del tamaño de las flores; hasta el momento según observaciones realizadas en el área, todas las plantaciones se encuentran afectadas, ya sea de forma parcial o total, con diferentes grados de intensidad.

El estudio consistió en determinar el agente patógeno causante de la enfermedad en las plantaciones, obteniendo como resultado que el agente causante de la enfermedad del Tizón de Crisantemo es el Virus Marchitez Manchada del Tomate VMMT (TSWV Tomato Spotted Wilt Virus), se registró incidencia y severidad en el municipio de San Juan Sacatepéquez, y se determinó asimismo que la incidencia mayor fue encontrada en la aldea Comunidad de Zet con 73% en invernaderos y 80% entre invernaderos; esto podría ayudar a generar posteriormente un plan de manejo integrado, amigable con el ambiente, para beneficio de los floricultores del municipio.

3.- DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El municipio de San Juan Sacatepéquez, cuenta con las condiciones climáticas y ecológicas que requiere el cultivo de flores de corte, ahí se producen varias especies, el Crisantemo es uno de los más importante para los productores del área.

Durante la ejecución del proyecto "Evaluación pictórica de Principales Enfermedades que afectan a los cultivos de Guatemala" ejecutado por el ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola) y la Facultad de Agronomía, durante el año 2004 se realizaron visitas a los Municipios de San Juan y San Pedro Sacatepéquez y se observó en esa oportunidad que en varios de los campos de Crisantemo las plantas presentaron síntomas de necrosis de tallo y hojas, la cual se denomina Tizón de Crisantemo también conocida por los agricultores como Cáncer de Crisantemo.

Actualmente existe poca información sobre la incidencia de enfermedades de Crisantemo en Guatemala, a pesar de que es una planta ornamental de importancia económica. La falta de información provoca pérdidas en la producción comercial.

Las plantas afectadas por la enfermedad son poco atractivas, debido a que esta es muy severa y destruye plantaciones completas en poco tiempo, sin que hasta el momento se conozca el agente causal; entre los agentes que pueden ocasionar sintomatología similar se tienen: el Virus Marchitez Manchada del Tomate VMVT (TSWV Tomato Spotted Wilt Virus), *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas* sp. y *Phytophthora* sp. Tomando en cuenta que los agricultores realizan cuatro producciones al año, esta enfermedad provoca la muerte de las plantas en cualquier época; manifestándose especialmente al inicio del período de floración.

Por otro lado, los agricultores dan como referencia que la enfermedad esta en el suelo, y también que hace tiempo atrás sembraban otra especie de Crisantemo denominada comúnmente como "Polar" la cual tuvo una demanda mas alta que "Shasta", pero que también era mas susceptible que esta, a la enfermedad de Tizón de Crisantemo y por eso se vieron en la necesidad de sustituirla.

Según antecedentes, el MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación) realizó una investigación con respecto a la enfermedad de Tizón del Crisantemo realizando un análisis previo el cual determinó que el causante de la misma es la bacteria *Erwinia Carotovora* (6); y luego

este consistió en la aplicación en diferentes tratamientos de productos químicos, con el apoyo de casas productoras de los mismos; que pudieran contrarrestar la enfermedad, para poder conocer cual producto era mas eficiente.

Debido a que los agricultores desconocen el agente causal que provoca la enfermedad, aplican antibióticos y fungicidas para el follaje, pero últimamente se han dado cuenta que la enfermedad no desaparece; se debe tomar en cuenta que no están realizando un manejo integral, y que las personas con mayores posibilidades realizan mayores aplicaciones con productos químicos, y que esto podría crear resistencia en las plantaciones.

El área total sembrada solo se conoce que es de aproximadamente 2000 invernaderos rústicos y 500 parcelas a campo abierto. Los productores de Crisantemo del área en estudio en general tienen poco conocimiento sobre la enfermedad y esto tiene un efecto negativo en varios aspectos, como por ejemplo en la dispersión de la misma, ya que las plantaciones nuevas son extraídas de esquejes terminales de la plantación "madre" que esta en crecimiento, teniendo el inconveniente de que en el mercado comercial de ornamentales, se resalta el valor de la producción de plantas sanas.

4.- MARCO TEÓRICO

4.1.- MARCO CONCEPTUAL

4.1.1.- Origen del Cultivo de Crisantemo

En China el Crisantemo es empleado como ornamental desde hace más de dos mil años; su cultivo se trasladó a Japón donde se convirtió en una flor santa que recibía una veneración divina. Los primeros cultivos en España coinciden con el inicio en el siglo XIX. El crisantemo que actualmente cultivan los floricultores es un híbrido complejo y la mayoría de las especies de donde se ha generado los cultivares son originarias de China: *Chrysanthemum indicum*, *Chrysanthemum morifolium* y *Chrysanthemum hortorum*. El crisantemo en maceta es denominado Dendranthema. (10).

4.1.2.- Taxonomía y Morfología

Taxonómicamente, el crisantemo se clasificó en el género *Chrysanthemum* (del latín *Chrysanthemum* y este del griego *chrysánthemon*, de *chryso*, oro y *anthemon*, flor), el nombre completo significa flor de oro. El género cuenta con más de 200 especies. (4)

Clasificación taxonómica: (5, 12)

| | |
|--------------------|-------------------------|
| Dominio: | Eucariota |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Subclase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteraceae |
| Subfamilia: | Asteroideae |
| Tribu: | Anthemideae |
| Genero: | <i>Chrysanthemum L.</i> |
| Serie: | Chrysantheminae |
| Especie: | <i>Maximum Ramond</i> |

Tallo: las plantas alcanzan de 50 a 120 cm. de altura con tallos ramificados, pubescentes.

Hoja: Las hojas son alternas segmentadas, dentadas, ligulosas, de color entre el verde claro y oscuro, recubiertas de un polvillo blanquecino que le da un aspecto grisáceo y casi siempre aromáticas.

Flor: De tres a cuatro meses después de sembradas las semillas u ocho a doce semanas de sembrados los esquejes produce sus flores que pueden ser simples o dobles. Lo que se conoce como flor es realmente una inflorescencia en capítulo. Existen diversos tipos de capítulos cultivados comercialmente, aunque, en general, esta inflorescencia esta formada por dos tipos de flores: femeninas (radiales; se corresponde con la hilera exterior en las margaritas) y hermafroditas (concéntricas, se corresponden con las centrales). El receptáculo es plano o convexo y esta rodeado de una envoltura de brácteas. Los colores pueden ser amarillo, blanco, bronce, rojo, rosado, violeta. El crisantemo se le cultiva comercialmente para producción de flor cortada, de gran demanda en floristerías y para su exportación. (10)



Figura 1. Planta de (*Chrysanthemum maximum*) Shasta daisy

4.1.3.- Importancia Económica y Distribución Geográfica

El crisantemo es una de las ornamentales mas cultivadas de todo el mundo. La producción es importante en varios países europeos, como los países bajos, Gran Bretaña y Francia. En América, en países como Colombia, Estados Unidos y Canadá. En Centroeuropa, Japón y Estados Unidos ha tenido siempre una gran demanda. El blanco es el color mas vendido con una participación en el mercado del 40%, tiene que ver el hecho de que los crisantemos blancos se prestan mejor para pintarse. En segundo lugar están los crisantemos amarillos (31%), seguidos de los violetas (11%). (10)

En San Juan Sacatepéquez, Guatemala, tiene mayor producción comercial el cultivo de Crisantemo en siete aldeas de las doce que existen las cuales son: Comunidad Ruiz, Camino de San Pedro, Cruz Blanca, Comunidad de Zet, Loma Alta, Sajcavilla y la cabecera municipal, con aproximadamente 2000 invernaderos construidos en forma rústica con madera y nylon y en 500 parcelas se siembra a campo abierto y con sistemas de manejo no adecuados. La información con respecto a datos sobre el número de productores por aldea y el área que cada uno tiene sembrada es escasa, tanto en el MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación), como en la Municipalidad del Municipio, aunque recientemente se ha conformando ASOFLORSA (Asociación de Floricultores de San Juan Sacatepéquez), la cual podría brindar información importante del cultivo en el futuro. (19)

Rojas en el Documento "Perfil de Proyecto. Cultivo de Clavel y Crisantemo" da a conocer lo siguiente:

Tecnología: indica que el cultivo de crisantemo fue situado en el nivel tecnológico II o Bajo y III Intermedio; de cuatro niveles que fueron definidos en el estudio.

Nivel Tecnológico II o Bajo: la preparación de la tierra es realizada con instrumentos de trabajo rudimentarios, utilizan semillas criollas y agroquímicos, pero en cantidades convenientes por lo que los rendimientos obtenidos son bajos; la mano de obra es básicamente familiar, no tiene ningún sistema de riego, no utiliza asistencia técnica ni financiera. El área de cultivo no es representativa.

Nivel Tecnológico III o Intermedio: en este nivel tecnológico la preparación de la tierra es más adecuada. La semilla es mejorada, aunque hay algunos que utilizan semillas de cosechas anteriores. El empleo de agroquímicos y cuidados culturales es correcto. Algunos hacen uso de crédito bancario y asistencia técnica.

La comercialización es realizada personalmente por los productores, la mano de obra empleada es asalariada y familiar. (17)

El volumen de producción: En el nivel II o Bajo, se producen 250 manojos/año por cada tablón, por 32 tablones que tiene la cuerda, lo que asciende a 8,000 manojos; en el nivel III o Intermedio, se producen 630 manojos/año por cada tablón por 32 tablones que tiene la

cuerda, lo que asciende a 20,160 manojos. El crisantemo es vendido por manojos, cada uno con 10 a 12 varas, en una vara de 2 a 3 flores. (17)

Rentabilidad: Los índices sobre la inversión para el nivel tecnológico II son de un 31% para el nivel III de un 84%. Estos índices indican que por cada Q1.00 que se invierta en el costo de operación se obtienen en el nivel II Q0.31 y en el nivel III Q0.84. Los índices sobre los ingresos para el nivel tecnológico II son de un 24% y para el nivel tecnológico III de un 46%. ((ganancia/ventas totales)*100).

Los índices anteriores indican que por cada Q1.00 de ventas de la producción de crisantemo se obtiene una ganancia de Q0.24 en el nivel II y Q0.46 en el nivel III. La rentabilidad de este producto es alta, indicando que la inversión realizada deja al floricultor del municipio de San Juan Sacatepéquez beneficios anuales. (17)

4.1.4.- Particularidades del Cultivo

Reproducción: Sexual por medio de sus semillas, asexual por medio de esquejes (vástagos). La propagación por esqueje es la mas utilizada en la producción comercial el cual se realiza cortando brotes que salen en las axilas de las hojas, brotes terminales o hijos que salen al pie de las plantas que se obtienen de plantas madre seleccionadas por su conformación a la progenie, capacidad de cosecha y vigor mantenidas bajo condiciones de día largo para inhibir la formación de botones finales. Los esquejes terminales de 8-10 cm. de longitud pueden colocarse directamente en arena blanca para que se de el enraizamiento. Se pretende fomentar el desarrollo de raíces cortas, gruesas, con el medio de crecimiento adherido cuando se levantan. El transplante puede llevarse a cabo a los 10-20 días, dependiendo de la temporada. (10)

Según su respuesta fisiológica: La gran margarita -*Ch. leucanthemum*-, tiende a ser sustituida en estos últimos años por *Ch. maximum*, una especie de grandes flores, que superan los 20 cm. de diámetro. Diversas variedades excepcionales han sido obtenidas por selección. Estas margaritas requieren un lugar soleado, suelo rico y riegos regulares.

Los crisantemos de todo el año son: aquellos que responden al fotoperíodo, concretamente a días cortos, y en menor medida a las temperaturas. Manipulando la longitud del día pueden obtenerse flores en cualquier época del año. Se subdividen en grupos de respuesta, de

acuerdo con el número de semanas necesarias para la iniciación de la yema floral y la floración real; la mayoría de las flores para corte se obtienen de los cultivares de 10 a 12 semanas.

Longitud del día e iluminación: Las variedades de crisantemo que más se cultivan son las que florecen a las 8 semanas; por tanto, para estas variedades la luz artificial se iniciará desde el mismo día de la siembra de los esquejes, dando 3 horas de luz diaria, por noche, encendiendo la luz de 8 a 11 de la noche. La iluminación artificial se suspenderá a las 6 semanas después de haber sembrado los esquejes, para favorecer el inicio de la formación de botones florales. La intensidad de la luz no debe ser menos de bombillas de 60 wats para la mayoría de variedades y no menos de bombillas de 75 wats para la mayoría de variedades de respuesta de 7 y 8 semanas.

La iluminación complementaria para la inhibición floral es más crítica para las plantas madre que para la producción de plantas para flor. (10)

Ambientes ecológicos: Los ambientes adecuados para su cultivo comprenden alturas entre 1200 a 2000 m.s.n.m. con temperaturas medias entre 8° C y 25° C, suelos con altos contenidos de materia orgánica, francos arenosos, bien drenados y con ph de 6 a 7. (10)

4.1.5.- Plagas de Crisantemo

Incidencia y Severidad. Evaluación de las enfermedades de las plantas.

Al evaluar las enfermedades, el interés se centra en medir 1) la **incidencia** de la enfermedad, es decir el número o proporción de plantas enfermas (el número o proporción de plantas, hojas, tallos y frutos que muestren cualquier tipo de síntomas); 2) la **severidad** de la enfermedad, es decir, la proporción del área o cantidad de tejidos de la planta que está enferma. (1)

La evaluación de la incidencia de la enfermedad es relativamente rápida y fácil de llevar a cabo, y es la medida que más se utiliza en los estudios epifitiológicos para determinar la diseminación de una enfermedad en un campo de cultivo, región o país. En algunos casos, como el tizón, la incidencia de la enfermedad tiene una relación directa con la severidad de la enfermedad. (1)

La severidad de la enfermedad generalmente se expresa como el porcentaje o proporción del área de la planta o volumen del fruto, destruidos por un patógeno. Con más frecuencia, se

utilizan escalas de 0 al 10 o del 1 al 14 para expresar las proporciones relativas del tejido afectado en un determinado periodo. (1)

Plaga: cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales. (15)

4.1.5.1. Tipos de Diagnóstico de las enfermedades causadas por Virus.

Muchos virus causan síntomas característicos en sus hospedantes, y son estos síntomas los que permiten identificar rápidamente a la enfermedad y al virus. En la mayoría de los casos en los que esto no es posible, las enfermedades se diagnostican y los virus se identifican principalmente a través de: 1) pruebas de transmisión de virus de planta a planta hospedantes específicas mediante inoculación con la savia o a través de injerto y, a veces mediante ciertos vectores como insectos, nemátodos, hongos o ácaros; 2) en el caso de virus para los cuales existen antisueros específicos, a través de la utilización de pruebas de diagnóstico serológico, principalmente el ensayo de inmunoabsorbencia ligada a enzimas (ELISA), la prueba de difusión en gel, la prueba de microprecipitina y la tinción con anticuerpos fluorescentes; 3) mediante técnicas de microscopía electrónica, como la tinción negativa de las partículas virales en frotis de laminillas de cobre o preparaciones purificadas o la microscopía electrónica y el diagnóstico serológico; 4) mediante la observación al microscopio de celdas infectadas para detectar inclusiones virales amorfas o cristalinas específicas que a veces sirven para la caracterización del grupo al cual pertenece el virus; 5) mediante pruebas electroforéticas, que se utilizan principalmente para detectar y diagnosticar viroides y el ácido nucleico de los virus; y 6) hibridación del DNA radiactivo complementario al RNA de cierto viroide, en cuyo caso el RNA del viroide existen en la savia de la planta y se encuentra unido a un filtro membranoso. (1)

En 1977, se desarrollo una técnica serológica mas útil denominada ELISA (de Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay = Ensayo Inmunoabsorbente ligado a una enzima), la cual se ha utilizado ampliamente, la cual ha mejorado en gran medida la capacidad de los fitopatólogos para detectar y estudiar a los virus de las plantas y las enfermedades que causan en ellas con mayor precisión. A menudo se utilizan varias modificaciones de esta técnica. En la prueba de anticuerpo doble, conocida como la prueba ELISA directa, las cavidades de una placa microtituladora de poliestireno, primero se llenan a la mitad y después se van vaciando una por una, de acuerdo con el

siguiente orden: a) los anticuerpos específicos del virus, b) la preparación del virus o la savia de una planta infectada, c) los anticuerpos específicos del virus a los cuales se han unido las moléculas de una enzima en particular y d) un sustrato para esa enzima, es decir, una sustancia que la enzima pueda degradar y hacer que cambie de color. El sustrato no se vacía, sino que se mantiene en la cavidad. Transcurridos 30 ó 60 minutos, las cavidades se “leen” a simple vista o con un colorímetro que mide la intensidad del color en cada pozo. Cuando se observa un cambio de color en cada cavidad, esto indica que hubo un virus en la muestra. El grado de coloración visible o el valor de la lectura dada por el colorímetro, son proporcionales a la cantidad del virus presente en la muestra y son, por tanto, una medida de la misma. (1)

Las ventajas de las pruebas de ELISA radican en su gran sensibilidad, en el gran número de muestras que pueden analizarse, en la pequeña cantidad de antisueros que se utiliza, en que los resultados obtenidos son cuantitativos, y que el proceso puede programarse de manera automática en que dichas pruebas pueden realizarse sin importar la morfología y la concentración del virus. Debido a estas ventajas, la prueba ELISA está desplazando a todas las demás técnicas de serología para el diagnóstico. (1)

4.1.5.2.- Virus:

VMMT (Virus Marchitez Manchada del Tomate) TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus)

los síntomas son: enanismo, hojas bronceadas con anillos, flores también. Los tallos muestran estrías brillantes, muerte del ápice de crecimiento y necrosis severa. Los trips que se ha determinado son los vectores de este virus y los otros tres virus que se describen a continuación son los géneros: *Thrips tabaci*, *Frankliniella tritici*, *F. occidentalis* y *Thrips palmi* los cuales se infectan en la etapa de ninfas, los adultos no se infectan. Los adultos en cambio pueden transmitir el virus. Los dos virus representativos de este grupo (Tospovirus) son TSWV e INSV, pueden encontrarse en infecciones mixtas. Los síntomas que producen son similares. (14)

Según Scott Adkins, Tom y Tim Zitter Momol de la Universidad de la Florida esta enfermedad es provocada por un “Virus en el género Tospovirus que causa importantes pérdidas de cosechas en todo el mundo. El género del nombre se deriva del apellido de su primer miembro, el Virus de la Marchitez Manchada de tomate (TSWV). Se observó inicialmente en Australia en 1915, la enfermedad de marchitarse manchada de tomate más tarde demostró ser de origen viral. Los Tospovirus se transmiten desde la planta a la planta por varias especies de trips, que son insectos encontrados en una gran variedad de hábitats en todo el mundo. Al igual que ocurre con muchos insectos vectores y virus de las

asociaciones trips / tospovirus la relación es muy específica, ya que sólo algunas de las muchas especies conocidas trips están en condiciones de adquirir y transmitir tospovirus.” (18)

Virus del Achaparramiento del Crisantemo ocasiona la palidez del follaje y la disminución del tamaño de las flores, que pueden abrir una semana antes que las normales. Es necesario partir de un material vegetal sano. Debe evitarse la diseminación mediante herramientas. Es aconsejable la eliminación de plantas que se sospechen enfermas. (10)

Virus de la Aspermia del Crisantemo o Chysanthemum Aspermy Cucumovirus (CAV)

Se produce deformación de la inflorescencia, se reduce el tamaño y cambia el color de las flores. Dichos síntomas florales no siempre se manifiestan el primer año. En la mayor parte de las variedades del crisantemo no se aprecian síntomas en las hojas, pero siempre aparece un jaspeado, acompañado de una reducción del crecimiento. (10)

Virus del Mosaico del Crisantemo o Chrysanthemum mosaic-B(Q) carlavirus (CVB)

El virus del mosaico del crisantemo también es diseminado por pulgones, por lo que deben controlarse las poblaciones de estos insectos, además de emplear plantas libres de virus. Los síntomas son excesivamente variables según cultivares, estado vegetativo de las plantas y condiciones de cultivo. Pero, de forma general suelen ser más acentuados en los esquejes y las plantas jóvenes. (10)

4.1.5.3.- Insectos:

a. *Thrips tabaci*, *Heliethrips haemorrhoidalis*, *Frankliniella tritici*, *F. occidentalis* y

***Thrips palmi*:** son las especies más comunes que afectan ornamentales. Aunque según la literatura se ha encontrado que la *Thrips tabaci*, *Frankliniella tritici*, *F. occidentalis* y *Thrips palmi* son vectores del virus TSWV. Estos adquieren el virus en aproximadamente 30 minutos, cuando son ninfas, y lo pueden transmitir después de 3 días. El daño que ocasionan es que rompen la célula con su estilete y succionan el líquido que brota de la herida.

El daño de las ninfas ocurre en hojas en crecimiento y flores, y no se nota sino hasta que las partes afectadas crecen. Cuando los trips se alimentan en las flores, los pétalos pueden mostrar cicatrices o deformaciones en su desarrollo. (14)

b. Mosca blanca del crisantemo: (*Liriomyza trifolii*) El daño que ocurre cuando las hembras ovipositan entre el haz y en envés de las hojas. Las larvas van haciendo túneles al ir alimentándose. Este daño causa primero un aspecto desagradable en las hojas y en infestaciones fuertes puede matar las hojas. (14)

4.1.5.4.- Bacterias:

Tizón bacteriano (*Erwinia chrysanthemi*) los síntomas mas comunes son: licuefacción del tejido, tizón de la hoja, pudrición del tallo, las hojas bajas se vuelven cloróticas y se marchitan y menos frecuentemente enanismo, perdida de color natural, lesiones café oscuro a nivel del suelo, producen manchas necróticas con halo clorótico. (14)

Pseudomona sp. Los síntomas de este género son: manchas pequeñas translucidas con apariencia acuosa, lesiones maduras con café a negro con halo clorótico la mayoría de las veces, las lesiones corren a lo largo de las venas, ocurre amarillamiento de la planta. (14)

Agrobacterium tumefaciens La bacteria penetra desde el suelo por las raíces a través de tumores en condiciones húmedas. Da lugar a la aparición de agallas en el tallo, inmediatamente por debajo de la superficie del suelo y ocasionalmente en las hojas y los tallos. Para el control deben retirarse las plantas infectadas cuando aparezcan los tumores y desinfectar los suelos con fumigante o con calor. (14)

4.1.5.5. Hongos:

Roya blanca (*Puccinia horiana*) La germinación de las esporas se ve favorecida por temperaturas de 15-21 °C. Los primeros síntomas son puntos amarillos en el lado superior de la hoja. Posteriormente el centro del punto se vuelve de color pardo. En el envés aparecen pústulas cerosas de color amarillo que posteriormente se vuelve rosa y finalmente blancas. (10)

Roya amarilla (*Puccinia chrysanthemi*) Las hojas atacadas se marchitan y mueren y los tallos detienen su crecimiento, dando lugar a plantas defoliadas y achaparradas. Producen pústulas de color pardo-rojizo en el envés de las hojas y en los tallos, que cuando se rompen sueltan un polvo marrón oscuro que se corresponde con las esporas. (10)

Mancha foliar (*Septoria obesa* o *Septoria chrysanthemella*) Este hongo puede permanecer en los restos de las cosechas durante 2 años y se disemina a través de las salpicaduras de agua, especialmente en ambientes húmedos. Aparecen punteaduras de color oscuro que se extienden desde la base de la planta hacia arriba. (10)

***Fusarium* sp.** Las plantas afectadas exhiben síntomas de clorosis y deficiencia de agua, escaso desarrollo, enanismo, hojas son pequeñas, de consistencia coriácea o mas engrosadas, siendo mas pronunciados los síntomas en hojas viejas. Se disemina rápidamente en el invernadero por los movimientos del suelo y por movimientos de plantas, esquejes, etc. (13)

Oidio (*Erysiphe cichoracearum*) El oidio se manifiesta por la aparición de un polvo blancuzco en hojas y tallos, que hace que las hojas se decoloren, achaparran y deformen. Deben realizarse tratamientos preventivos con productos específicos, y una vez que aparecen los primeros síntomas, el tratamiento más barato y efectivo es la pulverización con azufre. (10)

Tizón rayado (*Alternaria sp.*) El tizón rayado se desarrolla a temperaturas de 16-30 °C cuando se necesita el agua libre durante unas 12 horas. Aparecen pequeñas lesiones necróticas en las nervaduras de los pétalos. Deben evitarse los excesos de humedad y limpiar las plantas infectadas. (10)

Pudrición del tallo (*Rhizoctonia*) Las plantas afectadas se tornan amarillentas, presentan escaso desarrollo, pierden anchaje y cuando el hongo se extiende hacia las hojas inferiores, los tejidos afectados se tornan de un color marrón oscuro y sobre la superficie crece un moho blanquecino formando costra sobre la superficie. (10)

Pudrición de la raíz (*Pythium*) O pudrición basal del tallo es ocasionada por excesiva humedad en el suelo. La diseminación de las esporas se produce a través del suelo o agua contaminada. El sistema radicular se delimita, de forma que las plantas infectadas se atrofian. Aparecen lesiones de marrón oscuro a negro cerca del suelo. (10)

Verticilosis (*Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*) los patógenos proceden del suelo y pueden permanecer en este durante años. Los síntomas incluyen manifestaciones de estrés hídrico: raquitismo, agostamiento de las hojas, follaje clorótico y marchitamiento. Una característica de verticilosis es que los síntomas pueden desarrollarse en un lado de la planta.

Botrytis o Podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) el hongo *Botrytis cinerea* también puede producir infecciones, favorecidas bajo condiciones de temporadas frescas y elevada humedad relativa. En los crisantemos, los primeros síntomas en las flores son unas manchas marrón claro en la parte baja de los pétalos. (10)

Sclerotinia sclerotiorum los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* pueden germinar en el suelo, aunque las esporas se dispersan en el aire. Se produce una descomposición del tallo

similar a la originada por la Botrytis. Los esclerocios se pueden desarrollar dentro del tallo. Para el control deben eliminarse los residuos de las plantas infectadas.

Mycosphaerella ligulicola (Ascochyta chrysanthemi) los conidios de Mycosphaerella ligulicola se diseminan por el viento y las salpicaduras de agua. Las condiciones de clima húmedo favorecen su diseminación. Puede producirse la descomposición de los botones florales antes de que se abran y la infección puede extenderse al pedúnculo. (10)

4.1.5.6. Nematodos:

Tylenchus sp. Las plantas muestran un lento decaimiento, es decir un desarrollo deficiente, sus hojas se amarillean y caen prematuramente. Se dispersa a grandes distancias aprovechando el traslado de la tierra donde habita por medio del equipo agrícola, etc. (1).

Meloidogyne sp. En el área foliar se puede observar enanismo y amarillamiento. En las raíces de las plantas se observa pudrición de las raíces *πριμαριασ*, cormos y pseudotallos. En un ataque severo del mismo pueden observarse las raíces con presencia de masas de agallas (9).

Aphelenchoides ritzemabosi. Los nematodos de hojas se diseminan por los estomas junto con las salpicaduras de agua, causando lesiones angulares de color verde oscuro a café en las hojas. Los nematodos de la raíz succionan la savia de las raíces, produciendo tumores (agallas) debilitando así a las plantas. (8)

4.2.-MARCO REFERENCIAL

4.2.1.- Referencia Geográfica

El Municipio de San Juan Sacatepéquez presenta una topografía irregular, bastante montañosa y quebrada, presenta pocas planicies, tiene muchas pendientes y hondonadas, que van de regiones fértiles hasta terrenos secos y arenosos. Su clima variado desde frío a cálido. Sus ríos Motagua el mas conocido, San Juan, Manzanillo, Jocoteco, Jordan, Paxotya,

etc. y niveles freáticos próximos a la superficie, todos disponibles la mayor parte del año, sirven y facilitan la supervivencia de humanos, animales y plantas. (9)

La municipalidad es de 2º categoría, el área urbana es villa, posee auxiliaturas en su población rural que comprende 13 aldeas, 31 caseríos, 3 fincas y 4 colonias. Sus colindancias municipales-departamentales son: al Norte Granados Baja Verapaz, al Este San Raymundo y Chinautla Guatemala, al sur Mixco y San Pedro Sacatepéquez Guatemala y Santo Domingo Xenacoj Sacatepéquez, al Oeste El Tejar y San Martín Jilotepeque Chimaltenango. (9)

El municipio de San Juan (Bautista) Sacatepéquez (Sacat=hierba y Tepec=cerro), de nombre oficial San Juan Sacatepéquez, es de origen precolonial, el 3 de febrero de 1752 obtiene su título de tierra municipal, pertenece y está situado al norte del departamento de Guatemala, en el área central de la República de Guatemala, de aproximadamente 242 kilómetros cuadrados, a 32 kilómetros de la Ciudad Capital, con una altura promedio en la cabecera municipal de 1845 m.s.n.m. (metros sobre el nivel del mar). Su población predominante es indígena que usa el cakchiquel como idioma nativo. Están presentes todas las religiones practicadas en Guatemala. (9)

El suelo pertenece a la serie de suelos Cauque, que son profundos, bien drenados, desarrollados en climas húmedo-secos, sobre calizas volcánicas pomáceas firmes y gruesas, con relieves ondulados a mediana altitud.

El clima según el sistema Thornthwaite es semicálido, con invierno benigno, húmedo y de verano seco.

- La humedad relativa media es de 76.9 %,
- La precipitación media es de 1462.28 mm
- Con temperatura media de 18.78 °C (9)

Principales aldeas del municipio de San Juan Sacatepéquez en las que se produce Crisantemo

Chrysanthemum maximum var. Shasta daisy:

| Aldea | Distancia a cabecera municipal (km) |
|------------------------|------------------------------------------------|
| 1. Comunidad de Ruiz | 6 |
| 2. Camino de San Pedro | 1 |
| 3. Comunidad de Zet | 2 |
| 4. Loma Alta | 3 |
| 5. Sajcavilla | 4 |
| 6. Cruz Blanca | 4 |

Figura 5 (8, 9)

5.- OBJETIVOS

Generales:

- ☛ Determinar el agente causal de la enfermedad de Tizón de Crisantemo, en el Municipio de San Juan Sacatepéquez; mas conocida en el área como Cáncer de Crisantemo.
- ☛ Establecer el grado de importancia de la enfermedad en el Municipio, por medio de la Distribución, Incidencia y Severidad.

Específicos:

- ☛ Describir las características sintomatológicas que presentan las plantas enfermas.
- ☛ Establecer las condiciones que favorecen la dispersión y permanencia de la enfermedad en las comunidades.

6.- HIPÓTESIS

- La enfermedad del Tizón de Crisantemo es provocada principalmente por un Virus; el cual tiene una distribución, incidencia y severidad muy similar en las áreas de estudio.

7.- METODOLOGÍA

7.1 DETERMINACION DEL AGENTE PATOGENO:

- Se tomaron fotografías de las plantas enfermas, antes de iniciar el diagnóstico. Esto fue de utilidad para caracterizar la enfermedad. El proceso de diagnóstico se llevó a cabo en: a) El Centro de Diagnóstico Parasitológico, de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Edificio T-8, 3er nivel, Ciudad universitaria zona 12, b) En el Laboratorio de Virología de la Universidad del Valle de Guatemala, zona 15 y c) En el Laboratorio de Virología, Departamento de Patología de Plantas, de la Universidad de Carolina del Norte, de Estados Unidos.
- Se realizó la descripción y caracterización morfológica del síntoma de la enfermedad del Tizón del Crisantemo.
- Se procedió a quitar todos los órganos que no fueran necesarios para la realización del diagnóstico como lo fueron las hojas, las flores, y la raíz, ya que estos podrían provocar contaminación de otras enfermedades - fitopatógenas-, en seguida el tallo que es el órgano vegetal que nos interesa se flameó por un mechero, con el objetivo de matar cualquier tipo de contaminación externa; lo que aun no se utilizó se envolvió en papel aluminio, se colocó dentro de una bolsa plástica, en refrigeración.

7.1.1. Diagnóstico de Agentes Fitopatógenos:

7.1.1.A. Diagnóstico de Virus

A. METODO DE ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente ligado a una enzima)

Para el diagnóstico, se efectuó un muestreo de las comunidades: 1) Loma alta, 2) Camino de San Pedro, 3) Sajcavilla, 4) Cabecera Municipal, 5) Cruz Blanca, 6) Comunidad de Zet y 7) Comunidad de Ruiz; en cada una de las cuales se tomaron 2 muestras compuestas, con un total de 14 muestras, con los síntomas reportados característicos del Tizón de Crisantemo, las cuales se depositaron en bolsas de nylon, se identificaron y posteriormente se colocaron en refrigeración para su conservación. El diagnóstico se llevó a cabo en la Universidad del Valle de Guatemala, zona 15.

B. METODO DE PCR Y SECUENCIACION DE ADN:

- 1) El diagnóstico se llevó a cabo con la metodología que se describe a continuación, juntamente con el laboratorio de Virología, Departamento de Patología de Plantas, Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos, con los materiales enviados (Figura 2); tomando en cuenta las restricciones existentes para el envío de las plantas, trasladando solamente las membranas con las muestra impregnadas de Crisantemo, para su análisis.
- 2) Para este método, se realizó un muestreo de las aldeas: 1) Cruz Blanca, 2) Comunidad de Zet y 3) Camino de San Pedro, recolectando 8 muestras en cada área, con un total de 24 muestras, las cuales mostraron los síntomas característicos del Tizón de Crisantemo. Tomando 1 muestra de cada aldea la cual constituyó la muestra I y así sucesivamente, hasta llegar a la VIII.
- 3) A la solución amortiguadora de extracción en polvo se le agregó agua destilada y se utilizaron dos ml. para cada extracción.
- 4) Se pusieron los tejidos infectados, (Figura 3) de la muestra I aproximadamente del tamaño de una moneda dentro de la bolsa de plástico con la solución amortiguadora.
- 5) Se molieron los tejidos con la ayuda de un tubo de vidrio, y se tomó la parte de la bolsa hacia arriba para que no ocurriera derrame de la solución amortiguadora mientras se molían los tejidos.
- 6) Luego se empujó el extracto a un extremo de la bolsa y se colocó la tira (stick – bastón) hasta el nivel que indican las flechas blancas de la parte verde y se esperó aproximadamente 15 minutos a que el líquido llegara por capilaridad a la parte superior de la tira.
- 7) La reacción fue positiva cuando se observó una línea roja en la parte inferior de la tira, y cuando esta es positiva se procedió a poner el tejido en la membrana FTA.
- 8) Para esto se colocó un trozo de la hoja con síntomas que no fuera más grande que el círculo de la membrana (de la muestra I). (Figura 4)
- 9) Se colocó un pedazo de parafilm y se presionó el tejido contra la membrana para que el jugo se impregnara en ella.
- 10) Se dejó secar la membrana por dos horas. Una vez seca la membrana se puso en una bolsa plástica a temperatura ambiente.
- 11) Se realizó este mismo procedimiento en las muestras de la II a la VIII.

12) Posteriormente se enviaron al Laboratorio de Virología, Universidad de Carolina del Norte.



Figura 2. Materiales enviados para realizar la metodología.



Figura 3. Tejidos infectados que se iban a macerar.

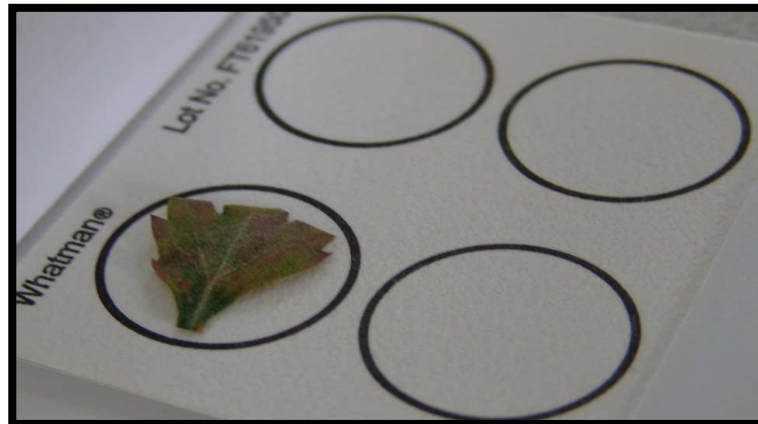


Figura 4. Porción de la hoja presentando síntomas, la cual fue impregnada en la membrana FTA.

7.1.1.2. Diagnóstico de Bacterias:

- I. Se realizó un corte de 2.5 mm. aproximadamente de ancho en la lesión, luego se realizó un montaje en agua para poder observar el flujo bacteriano.
- II. En los medios de cultivo AN (Agar nutritivo –ver apéndice 5-) y PDA (Papa, Dextrosa y Agar) se realizaron siembras del material vegetal previamente macerado realizando el estriado en las cajas de petri, ya así existió crecimiento de la bacteria en forma aislada y se pudieron conocer mejor sus características morfológicas. Luego las cajas se incubaron a 28 °C, los medios AN y PDA se utilizaron para aislar la bacteria, la cual se trasladó al medio de cultivo B de King.

- Medio B de King: se preparó en tubos de ensayo y se sembró la bacteria, este medio se utilizó para realizar la purificación de la bacteria y observación de fluorescencia.

- Crecimiento a 40 °C: se uso un medio líquido rico en nutrientes. Se disolvió una asada del cultivo de bacterias cultivado por 24-48 hrs. en el medio inclinado, en 10 ml. de agua esterilizada. Se tomó una azada de esta solución y se sembró al tubo con 5 a 7 ml. del medio líquido. Se incubó el tubo en baño maría a la temperatura de 40 °C. Se usó baño maría, para la incubación porque la incubadora no mantenía la temperatura exacta, y se observó por una semana. Se chequeó el resultado con la luz. Si el medio es turbio, la reacción fue positiva.

III. Se utilizó la ruta de análisis para la Identificación de Bacterias Fitopatógenas que se utiliza en el laboratorio, el cual se encuentra en el Apéndice 1, Figura 3, para obtener el género de la bacteria, según el Manual de Procedimiento Simplificado para la identificación de Bacterias fitopatógenas propuesto por Naho Arai (2).

7.1.1.3. Diagnostico de Phytophthora

- a) Se prepararon los siguientes medios de cultivo PDA, agar - agua, Agar V 8 o el medio agarizado de harina de avena.
- b) Se realizo la desinfección del material biológico, de porciones de 0.5 cm² de la zona de transición entre el tejido sano y el enfermo.
- c) Para la misma las porciones de tejido fueron colocadas en una solución de alcohol, luego en hipoclorito de sodio, se enjuagaron en agua destilada y se pasaron a papel filtro esterilizado.
- d) El material biológico se transfirió a cajas de petri con el medio de cultivo que se elaboró; y se colocaron de 3 a 4 secciones de tejido, las cajas se incubaron a 28 °C.

7.2. GRADO DE IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD:

7.2.1. Estudio de la Incidencia:

Método de muestreo:

- a) Se utilizo el número total de invernaderos de 2000, y se determinó el tamaño de la muestra, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \times p \times q \times z_{(\alpha/2)}}{(d^2 \times N) + p \times q \times z_{(\alpha/2)}^2} \quad (11)$$

En que: n = tamaño de la muestra definitiva

N = tamaño de la población = 2000 invernaderos

p = proporción de éxito de la variable = 0.5

q = proporción de fracaso de la variable = 0.5

d = precisión del estimador de la proporción = 15% = 0.15

$z_{(\alpha/2)}$ = variable con distribución normal estandarizada, con un nivel de confianza de 95% =

1.96

$$n = \frac{2000 \times 0.5 \times 0.5 \times 1.96^2}{(0.15^2 \times 2000) + 0.5 \times 0.5 \times 1.96^2}$$

n = 42 invernaderos.

Distribuidos de la manera siguiente:

| Aldea | No. De invernaderos |
|-----------------------|--------------------------------|
| • Loma Alta | 8 |
| • Camino de San Pedro | 8 |
| • Sajcavilla | 8 |
| • Cruz Blanca | 8 |
| • Comunidad de Zet | 3 |
| • Comunidad de Ruiz | 3 |
| • Cabecera Municipal | 2 |

Esta distribución se realizó directamente proporcional a la cantidad de invernaderos en cada una de las comunidades, o sea donde existe mayor número de los mismos (que son las primeras 4 aldeas) se tomaron 8 invernaderos en cada comunidad, y donde existe menos se tomaron 3 y 2. La distribución anterior se utilizó para determinar la Incidencia y Severidad: **ENTRE INVERNADEROS** y **EN INVERNADEROS**.

7.2.1.1. Entre invernaderos:

- En cada invernadero se evaluaron y estudiaron 10 plantas, seleccionadas dentro del mismo y se geoposicionó a través de G.P.S. (Sistema de Posición Global)

Determinándose la Incidencia a través de la fórmula:

$$\% \text{ de Incidencia} = (\text{No. plantas enfermas} / \text{No. total de plantas}) \times 100$$

Ver Apéndice 4, Cuadro 4.

- Por ser una enfermedad en la cual la sintomatología se encuentra en los tallos, afectando hojas y flores, porque la presencia de la misma es la pérdida de una planta total, se consideró el porcentaje de incidencia como el mismo de severidad.

7.2.1.2. En invernaderos:

- a). En cada invernadero se realizó un caminamiento, ubicando 5 puntos y se geoposicionaron a través de G.P.S.
- b) En cada punto se tomaron 10 plantas -en forma de zig-zag- y se evaluó si la planta estaba sana, o si estaba enferma; utilizándose la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de incidencia} = (\text{No. plantas enfermas} / \text{No. total de plantas}) \times 100.$$

7.2.2. Distribución: Colecta del material vegetativo.

- 1) Se realizó un muestreo en cada una de las siguientes aldeas:

- | | |
|-----------------------|-------------------------|
| 1) Loma Alta, | 2) Camino de San Pedro, |
| 3) Sajcavilla, | 4) Cabecera Municipal, |
| 5) Cruz Blanca, | 6) Comunidad de Zet y |
| 7) Comunidad de Ruiz. | |

En un invernadero en cada una de ellas, ubicadas geográficamente como se muestra en la Figura 5.

- 2) Se colectaron 10 plantas de cada invernadero, tomadas a cada 20 pasos dentro del mismo, que presentaban la sintomatología de la enfermedad.
- 3) De cada planta se obtuvo una muestra de tallo haciendo un total de 70 muestras. Las muestras que se colectaron se depositaron en bolsas de nylon, identificándolas con ubicación y fecha. Luego se colocaron en refrigeración para su conservación.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

8.1. DETERMINACION DEL AGENTE PATOGENO

8.1.1. Diagnóstico de Virus.

Virus Marchitez Manchada del Tomate VMMT (Tomato Spotted Wilt Virus TSWV).

De los análisis efectuados se obtuvo que el agente causal de la enfermedad fué determinado como el Virus Marchitez Manchada del Tomate VMMT (Tomato Spotted Wilt Virus TSWV). Dichos diagnósticos se basan en análisis de PCR realizados por la Universidad del Valle de Guatemala y la Universidad de Carolina del Norte de Estados Unidos.

8.1.1.1. Caracterización Sintomatológica del TSWV en Crisantemo.

A. Método de ELISA: (Ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima)

En los resultados obtenidos de la Universidad del Valle de Guatemala, se obtuvo el 86% de las muestras positivo para TSWV y en todos es negativo para INSV. (Impatiens Necrotic Spot Virus – Virus Marchitez Necrótica de Impatiens) (Apéndice 2).

El síntoma mas común es un crecimiento menor de la planta lo cual causa enanismo o achaparramiento de toda la planta. El período de vida de las plantas infectadas se redujo. Generalmente los síntomas pueden ser severos y fáciles de observar, como doróticos, necróticos y de atrofia.

Para el virus Marchitez Manchada de Tomate VMMT (TSWV) los síntomas de las plantas infectadas aparecen en el follaje con amarillamiento de los tejidos pero también producen síntomas visibles sobre el tallo y flores. (Figuras 6, 7 y 8). El virus se encuentra distribuido por toda la planta.

Los dos virus representativos del Grupo Tospovirus son TSWV Virus Marchitez Manchada del Tomate (VMMT) e INSV. Los síntomas que producen son similares, según el Manual de Manejo de Plagas en Plantas Ornamentales y de Follajes. Los Tospovirus están compuestos de ARN de 1 banda, son isoédricos y tienen un tamaño de aproximadamente 70-120 nm. (nanómetro) de diámetro. Es un virus envuelto por una membrana de lípidos y proteínas. (14)

Según el ciclo de vida del virus, uno de los principales vectores de este son los Trips especialmente los géneros: *Thrips tabaci*, *Frankliniella tritici*, *F occidentalis* y *Thrips palmi*. Los trips se infectan en la etapa de ninfas, los adultos no se infectan. Los adultos en cambio pueden transmitir el virus. Lo hacen de forma persistente, es decir permanecen infectivos toda su vida pero no se transmiten a los hijos. (14)

La sintomatología de las plantas recolectadas para la realización del Diagnóstico por los dos métodos es la misma.

El virus Marchitez Manchada del Tomate VMMT (Tomato Spotted Wilt Virus TSWV) se presentó en todas las muestras analizadas de las siete áreas en estudio, las cuales fueron llevadas a cabo en la Universidad del Valle de Guatemala.



Figura 6. Síntoma de necrosis provocada por el VMMT.



Figura 7. Síntomas severos bien marcados en el tallo y hojas.



Figura 8. Virus distribuido por toda la planta principalmente en el tallo.

B. Método de PCR y secuenciación de ADN:

Según la interpretación y traducción del documento, con los resultados del virus Marchitez Manchada del Tomate VMMT (Tomato Spotted Wilt Virus TSWV), los cuales fueron realizados en la Universidad de Carolina del Norte (Apéndice 3), de las muestras de Crisantemo analizadas (Figuras 9, 10 y 11), la evaluación con primers o cebador universal para Tospovirus fue positivo para 75% de

las muestras, se obtuvo la secuencia en 60% de ellos y el análisis de secuencia concordó en un 98% con TSWV, por lo tanto se puede ratificar el VMMT -Virus Marchitez Manchada del Tomate-; también se analizaron las muestras, sobre membranas FTA para evaluación por PCR para INSV el cual fue **negativo**. Siendo estos, los dos virus representativos del grupo (Tospovirus) y también los síntomas que producen muy similares.

El resultado positivo para el TSWV, en las muestras analizadas, es importante en este estudio ya que confirma la presencia del Virus de los resultados anteriores obtenidos en la Universidad del Valle de Guatemala.

8.1.1.2. Importancia de la enfermedad.

Las plantaciones son afectadas por el manejo inadecuado que se realiza en las siete aldeas en estudio por varios factores, como por ejemplo, desconocimiento del agente causal. Los principales problemas que se detectaron son:

Uso excesivo de plaguicidas: su uso excesivo se ha ido incrementado progresivamente, más aun que en Crisantemo no existen restricciones en el uso de los mismos, lo cual ha perjudicado a las plantaciones, provocando contaminación ambiental, como uno de los principales efectos. En las comunidades el manejo de una enfermedad y/o plaga se realiza simultáneamente y se basa en la aplicación de plaguicidas, en forma preventiva sin tener adecuadas indicaciones en la dosis de aplicación, cual es la más apropiada a usar, ni la hora mas adecuada de aplicación, o sea sin un estudio previo que justifique la misma.

En los invernaderos, se crean sistemas en los que no existe un balance natural de las poblaciones, debido a que solo se siembra una especie vegetal, lo cual crea las consecuencias posteriores, como en este caso la enfermedad del Tizón de Crisantemo.

Escaso control físico: ya que los invernaderos no poseen un aislamiento el cual evitaría el ingreso de cualquier tipo de plaga, (Figura 12) como por ejemplo los trips que se encontraron en las plantaciones, que son vectores del VMMT Virus Marchitez Manchada del Tomate; por otro lado no realizan rotación de cultivos, no existe eliminación de plantas enfermas, no existe eliminación de plantas madre enfermas, incluso estas son utilizadas para esquejes en el inicio del nuevo ciclo, etc.

siendo esta una manera fácil y rápida de propagación de la enfermedad. Dichas características son similares en invernaderos y entre invernaderos.

En base a la ausencia de la puesta en práctica de los diversos métodos de control, un objetivo final recomendable podría ser realizar un Manejo Integrado de Plagas, basado en las condiciones ecológicas, sociales y económicas, de las siete comunidades de San Juan Sacatepéquez.

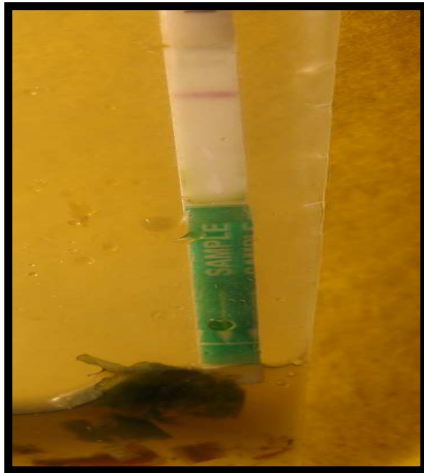


Figura 9. Tejido vegetal en la solución amortiguadora, con reacción positiva.



Figura 10. Muestras de las hojas con signos y síntomas que fueron maceradas, y enviadas para el análisis.

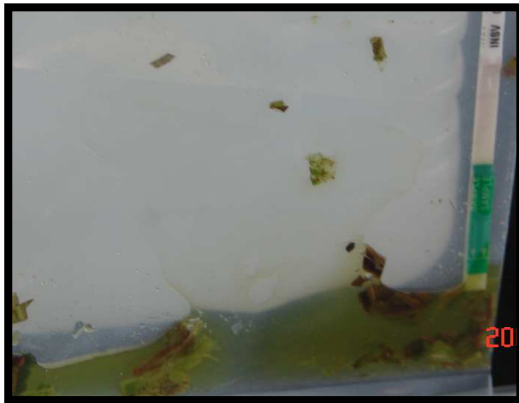


Figura 11. Muestras de crisantemo analizadas.



Figura 12. Características de los invernaderos en todas las comunidades en estudio.

8.1.2. Diagnósticos de Bacteria y Hongo.

En los diagnósticos de bacteria y hongo no existió desarrollo de los mismos por lo cual se descarta que sean los causantes de los signos y síntomas de la enfermedad del Tizón de Crisantemo.

8.2. GRADO DE IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD.

8.2.1. Estudio de la Incidencia

8.2.1.a. En invernaderos

El porcentaje total de plantas que presentó la enfermedad del Tizón de Crisantemo por invernadero se presenta en el Cuadro 1 y en la Figura 3, en la cual se muestra el % de incidencia y severidad en las siete áreas en estudio.

- El **mayor** porcentaje de Incidencia que se presenta es de 73% para la Aldea de Comunidad de Zet, seguido de 67% para la comunidad de Loma Alta y de 61% para la comunidad de Sajcavilla.
- La **menor** Incidencia y Severidad que se presenta es de 40% en la Comunidad de Camino de San Pedro, seguido de la Cabecera Municipal con 42%, como se muestra en la gráfica (Figura 13, - Ver cuadro 1-) tomándose como enfermas desde plantas con síntomas leves o iniciales (Figuras 14 y 15); debido a que el daño fue ocasionado mucho antes de que los síntomas aparecieran y difícilmente podrán desarrollarse como plantas normales y llenar las condiciones necesarias que exige el mercado; hasta plantas con síntomas muy severos. (Figuras 16, 17 y 18).

La incidencia y severidad tiene tendencia a aumentar en las áreas en donde recibe un manejo inadecuado y/o deficiente, presentándose de forma similar a nivel general en todas las áreas del municipio de San Juan Sacatepéquez, durante las cuatro cosechas que se llevan a cabo en el año.

Las diferencias que se observaron en los invernaderos de las aldeas Comunidad de Zet y Camino de San Pedro, que son donde se obtuvo mayor y menor incidencia; en general son: en la segunda Comunidad, mayor utilización de productos químicos, invernaderos en buenas condiciones, aunque no en condiciones óptimas para el cultivo de Crisantemo, el agua que se utiliza para riego se encuentra en mejores condiciones que en la Aldea Comunidad de Zet, etc.

Cuadro 1. Cuadro de resultados de Incidencia y severidad **En Invernadero** –Ver Apéndice 4–.

| ALDEA | % DE INCIDENCIA / EN INVERNADEROS | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------------|-----|----|----|----|----|----|----|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | % |
| 1. Cam. de San Pedro | 42 | 68 | 14 | 42 | 44 | 56 | 26 | 26 | 39.75 |
| 2. Cabecera municipal | 46 | 38 | | | | | | | 42.00 |
| 3. Cruz Blanca | 66 | 14 | 42 | 44 | 58 | 60 | 60 | 22 | 45.75 |
| 4. Comunidad de Ruiz | 54 | 46 | 46 | | | | | | 48.66 |
| 5. Sajcavilla | 60 | 60 | 60 | 24 | 72 | 52 | 90 | 72 | 61.25 |
| 6. Loma Alta | 98 | 72 | 88 | 76 | 70 | 46 | 46 | 42 | 67.25 |
| 7. Comunidad de Zet | 52 | 100 | 68 | | | | | | 73.33 |

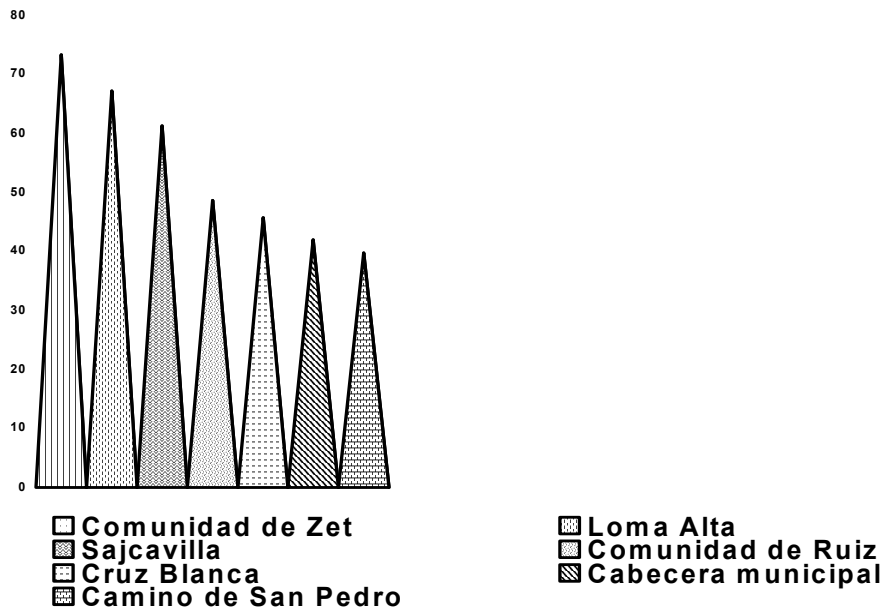


Figura 13. Incidencia y Severidad de la enfermedad En Invernaderos, en San Juan Sacatepéquez, Guatemala.



Figura 17. Planta enferma, con síntomas severos.

Figura 16. Síntomas severos de la enfermedad del Tizón de Crisantemo.



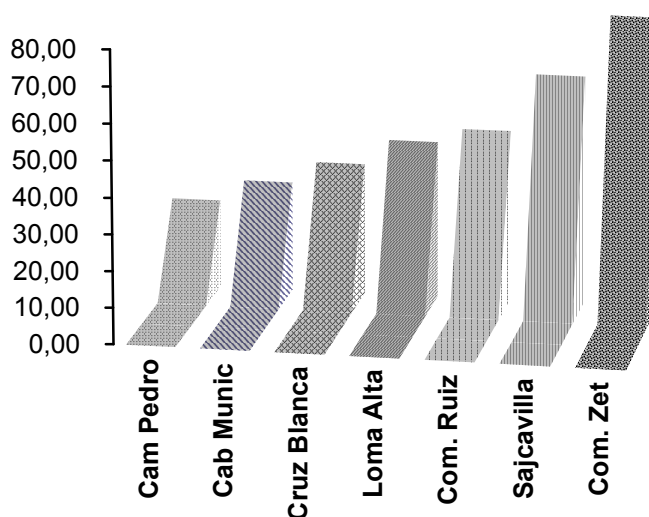
Figura 18. Planta con los síntomas de clorosis y deformaciones muy severos.

8.2.1.b. Incidencia entre invernaderos:

En el estudio del Tizón del Crisantemo, tanto en Invernaderos como entre Invernaderos se encontraron plantas muy enfermas y otras con síntomas muy leves de la enfermedad (Figura 20 a), b) y c) y 21). Las incidencias mas altas fueron encontradas en la Comunidad de Zet con un porcentaje del 80%, siendo las menores incidencias encontradas en la Comunidad de Camino de San Pedro con un porcentaje de 24% y la cabecera municipal con un porcentaje de 30%; en el total de invernaderos muestreados en la investigación, en los meses de enero - marzo 2006 como se muestra en el Cuadro 2 y en la Figura 19.

Cuadro 2. Cuadro de resultados de Incidencia y severidad **Entre** Invernadero – Ver Apéndice 4-.

| ALDEA | % DE INCIDENCIA / ENTRE INVERNADEROS | | | | | | | | % |
|-----------------------|--------------------------------------|----|-----|-----|----|-----|----|-----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | |
| 1) Cam. de San Pedro | 30 | 70 | 20 | 20 | 40 | 0 | 10 | 0 | 24 |
| 2) Cabecera municipal | 60 | 0 | | | | | | | 30 |
| 3) Cruz Blanca | 10 | 20 | 90 | 40 | 0 | 100 | 30 | 0 | 36 |
| 4) Loma Alta | 50 | 40 | 60 | 100 | 0 | 60 | 0 | 30 | 43 |
| 5) Comunidad de Ruiz | 30 | 80 | 30 | | | | | | 47 |
| 6) Sajcavilla | 100 | 30 | 30 | 100 | 0 | 50 | 90 | 100 | 63 |
| 7) Comunidad de Zet | 50 | 90 | 100 | | | | | | 80 |





20 a)



20 b)

Figura 20. a) y b) Plantas de Crisantemo con síntomas severos de la enfermedad.



20 c)

Figura 20 c) Destrucción inicial en el tallo, en los haces vasculares provocada por la enfermedad del tizón.



Figura 21. Planta con síntomas muy leves de la enfermedad.

8.2.2. DISTRIBUCION DE LOS PATOGENOS CAUSALES DEL TIZON DE CRISANTEMO.

Se estudiaron plantas de la especie *Chrysanthemum maximum* (Shasta daisy), infectadas con la enfermedad de Tizón de Crisantemo en las plantaciones de las aldeas: Loma Alta, Camino de San Pedro, Sajcavilla, Comunidad de Zet, Cruz Blanca, Comunidad de Ruiz y en la cabecera municipal, del Municipio de San Juan Sacatepéquez, Guatemala. Se realizaron pruebas de laboratorio y se determinó la distribución, cuantificándose la incidencia y severidad.

En *Chrysanthemum maximum*, la mayor distribución de incidencia **En Invernaderos y Entre Invernaderos** se presenta en la Comunidad de Zet con 73% y 80% respectivamente. Siendo las menores incidencias encontradas En Invernadero y Entre Invernaderos de 40% y 24% respectivamente en la comunidad de Camino de San Pedro.

El patógeno causante del atizonamiento del Crisantemo encontrado fué: el VMVT Virus Marchitez Manchada del Tomate (TSWV Tomato Spotted Wilt Virus); en las muestras de la variedad analizadas, como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Reporte general de los patógenos determinados según el muestreo de las aldeas.

| Aldea | Muestreo Bacteria | Muestreo virus | | Resultados - Agentes Causales | | |
|------------------------|----------------------|-------------------|----|--------------------------------------|-------------------------|------------|
| | | A* | B* | Bacteria (positiva) | Virus (positivo) | |
| | | | | | A* | B* |
| 1. Comunidad de Zet | 10 | 2 | 8 | 3 | 100% | 38% |
| 2. Comunidad de Ruiz | 10 | 2 | - | 2 | 50 % | - |
| 3. Cruz Blanca | 10 | 2 | 8 | 3 | 50 % | 38% |
| 4. Loma Alta | 10 | 2 | - | 3 | 100 % | - |
| 5. Camino de San Pedro | 10 | 2 | 8 | 3 | 100 % | 38% |
| 6. Sajcavilla | 10 | 2 | - | 3 | 100 % | - |
| 7. Cabecera Municipal | 10 | 2 | - | 3 | 100 % | - |
| Total | | | | 28% | 85% | 50% |

*Los incisos A y B son los dos procedimientos empleados para la realización del análisis de virus.

9. CONCLUSIONES

- El agente fitopatógeno causante del Tizón de Crisantemo (Chrysanthemum maximum), en el Municipio de San Juan Sacatepéquez, es el VMVT Virus Marchitez Manchada de Tomate, (TSWV Tomato Spotted Wilt Virus) de acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación.
- Los principales síntomas en las plantaciones de Crisantemo, producidos por el efecto del VMVT Virus Marchitez Manchada de Tomate son clorosis, necrosis y atrofia, principalmente.
- La Incidencia y Severidad del Tizón de Crisantemo en Chrysanthemum maximum es favorecida principalmente por: a) El uso de plantas madre infectadas como método de propagación; b) Escasa protección en los invernaderos, la cual provoca que sean transmitidos los insectos vectores, que son los Trips, de una plantación a otra, y por lo tanto que el virus se introduzca en el hospedero y se propague rápidamente; y c) Desconocimiento del agente que provoca la enfermedad y su forma de control.
- Estas características, que favorecen la Incidencia se encontraron mas resaltadas en la aldea Comunidad de Zet, que fue la que presentó mayor Incidencia, tanto Entre Invernaderos (80%), como En Invernaderos (73%). A nivel general en el Municipio el promedio de incidencia en invernadero fue de 54% y entre invernadero fue de 46% en las siete aldeas muestreadas.

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar una investigación relacionada a los trips ya que son los agentes transmisores de la enfermedad del TSWV, que géneros se encuentran en el municipio, debido a que no todos transmiten el Virus; además estudios sobre que especies son enemigos naturales y el control de los mismos.
- Como parte de un Manejo Integrado de Plagas en San Juan Sacatepéquez:
 - ✓ Crear concientización en los productores, de la enfermedad y su agente transmisor-trips, su disseminación, su control y monitoreo.
 - ✓ Poner en práctica los métodos de control: cultural, biológico, etológico, físico, químico y legal como parte de una estrategia de Prevención, Detección y Combate de la enfermedad.
- Para la obtención masiva de plantas, es recomendable utilizar Micropropagación por la técnica de Cultivo de Tejidos. Con lo cual se propagarán plantas de crisantemo principalmente sanas -de virus u otro agente contaminante-, tanto para los análisis de laboratorio (como testigo), como a nivel de campo como parte de un Manejo Integral del cultivo. (Costos -Apéndice 6-).

11.- BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, GN. 1999. Fitopatología. Trad. Manuel Guzmán. México, Limusa. 838 p.
2. Arai, N. 2000. Procedimiento simplificado para la identificación de bacterias fitopatógenas. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 329 p.
3. Betancourt Morales, LD. 2003. Importancia y control del nematodo foliar *Aphelenchoides ritzemabosi* del crisantemo *Chrysanthemum indicum* en San Juan Sacatepéquez, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 45 p.
4. Camargo R, SL; García G, V; Muciño M, RM. 1997. ¿Qué es la fitopatología?: hongos fitopatógenos del crisantemo (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvelev) un estudio de caso (en línea). México. Consulta 24 mayo 2005. Disponible en: <http://www.izt.uam.mx/contactos/n37ne/patolo.pdf>
5. Cronquist, A. 1981. An integrate system of clasificación of flowering plants. Estados Unidos. 1262 p. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Home.aspx>.
6. Cruz, M. 2008. Costos de la solución para la propagación por medio de cultivo de tejidos (entrevista). Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Cultivo de Tejidos.
7. Figueroa, GA. 2005. Investigación en crisantemo en San Juan Sacatepéquez (comunicación y correspondencia personal). Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Coordinación Departamental de Guatemala.
8. IGM (Instituto Geográfico Militar, GT). 1983. Mapa topográfico de la república de Guatemala, hoja San Juan Sacatepéquez, no. 2060-II. Guatemala. Esc. 1:50,000. Color.
9. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 1976. Diccionario geográfico de Guatemala. Guatemala. tomo 2.
10. InfoAgro.com, ES. 1997. El cultivo de crisantemo (en línea). España. Consultado 24 oct 2005. Disponible en: <http://www.infoagro.com>
11. López B, E. 2003. Instructivo del curso: estadística aplicada a la producción agrícola; determinación del tamaño de la muestra para la estimación de una proporción. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 9 p.
12. Mabberley, DJ. 1997. The plant-book. Estados Unidos. Printed in Great Britain by The Bath Press, Bath. 858 p.
13. Molzer, V. 1989. Plantas de jardín. 2 ed. Madrid, España, Susaeta. 312 p.
14. OIRSA, Proyecto Regional de Fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria en Cultivos de Exportación no Tradicional, GT. 1999. Manejo de plagas en plantas ornamentales y de follaje. Guatemala. 76 p.
15. ONU, US. 1995. Estados Unidos (en línea). Consultado 18 jul 2006. Disponible en <http://www.pestalert.org/español/NIMF17 NP.pdf>
16. Orozco, E; Gonzáles, C; Herrera, E. 2000. Medios de cultivo para aislamiento de microorganismos y su elaboración: instructivo de laboratorio de microbiología general. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 9 p.

17. Rojas G, CA. 1987. Perfil de proyecto: cultivo de clavel y crisantemo en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala. Guatemala, USAC, Facultad de Ciencias Económicas. 120 p.
18. Scott, A; Zitter, T; Momol, T. 2005. Tospovirus (familia Bunyaviridae, genero Tospovirus) (en línea). US. Consultado 23 oct 2007. Disponible en <http://edis.ifas.ufl.edu/PP134>
19. Tuquer, O. 2006. Diagnóstico de los productores de crisantemo del municipio de San Juan Sacatepéquez (entrevista). Guatemala, Asociación de Floricultores de San Juan Sacatepéquez, Floricultor.

Apéndice 2.

RESULTADOS DE VIRUS: INCISO A.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

18 Avenida 11-95 zona 15 Vista Hermosa III
Apartado Postal No. 82, 01901
Guatemala, Guatemala C.A.PBX 2369 0791 al 95
Teléfonos: 2364 0336 al 40
2364 0492 al 97
FAX (502) 2364 0212
www.uvg.edu.gt

Guatemala, 21 de marzo del 2006

Ingeniero
Gustavo Alvarez
Yasil Cumes
PresenteCel: 5571-6318
5914-8875

Estimados señores:

A continuación le ofrecemos una descripción de los resultados obtenidos en las pruebas realizadas a las muestras de crisantemos de loma alta, San Juan Sacatepéquez enviadas al laboratorio.

| No. de muestra | Cultivo | Síntomas | TSWV | INSV |
|----------------|-----------------|----------------------------|----------|----------|
| 9740 | Crisantemo I | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9741 | Crisantemo II | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9742 | Crisantemo III | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9743 | Crisantemo IV | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9744 | Crisantemo V | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9745 | Crisantemo VI | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9746 | Crisantemo VII | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9747 | Crisantemo VIII | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9748 | Crisantemo IX | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9749 | Crisantemo X | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9750 | Crisantemo XI | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9751 | Crisantemo XII | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |
| 9752 | Crisantemo XIII | Tallos con manchas oscuras | Positivo | Negativo |

Política del Laboratorio de Virología de la UVG: Los análisis realizados indican la presencia o ausencia de patógenos solamente en las muestras enviadas al laboratorio, en ningún momento la prueba realizada ofrece una certificación de que toda la plantación presente el mismo patógeno. Si tiene alguna duda o necesita información adicional favor comunicarse con nosotros.

Atentamente,



Wilfredo López H.
Laboratorio Virología Vegetal



Licda. Margarita Palmieri
Laboratorio de Virología Vegetal

Departamento de Patología Vegetal U.V.G



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

18 Avenida 11-95 zona 15 Vista Hermosa III
Apartado Postal No. 82, 01901
Guatemala, Guatemala C.A.

PBX 2369 0791 al 95
Teléfonos: 2364 0336 al 40
2364 0492 al 97
FAX (502) 2364 0212
www.uvg.edu.gt

Guatemala, 15 de abril del 2005

Ingeniero
Gustavo Alvarez
Yasil Cumes
Presente

Cel: 5571-6318
5575-5906


Estimado Ing. Alvarez:


A continuación, le ofrecemos una descripción de los resultados obtenidos en las pruebas realizadas a las muestras de enviadas al laboratorio.

| No. de Muestra | Cultivo | Síntomas | TSWV | INSV |
|----------------|------------|---------------------------------------------------------|----------|----------|
| 8514 | Crisantemo | Clorosis y mosaico en horas algunos tallos con manchas. | Positivo | Negativo |

Política del laboratorio de Virología de la UVG: Los análisis realizados indican la presencia o ausencia de patógenos solamente en las muestras enviadas al laboratorio, en ningún momento la prueba realizada ofrece una certificación de que toda la plantación presente el mismo patógeno. Si tiene alguna duda o necesita información adicional favor comunicarse con nosotros.

Atentamente,


Wilfredo López H.
Laboratorio Virología Vegetal


Licda. Margarita Palmieri
Laboratorio de Virología Vegetal

Departamento de Patología Vegetal
Universidad del Valle de Guatemala

Apéndice 3.

RESULTADOS DE VIRUS: DE INCISO B.



NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY
DEPARTMENT OF PLANT PATHOLOGY
CAMPUS BOX 7616
RALEIGH, NC 27695

July 26, 2008

Gustavo Alvarez
Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Agronomía
ED T8 Salón C-15
Cuidad Universitaria Zona 12

Dear Ing. Alvarez,

We received from you 5 samples of Chrysanthemum on FTA membranes for virus testing. INSV testing by PCR amplification was negative. Testing with universal tospovirus primers was positive for four samples (1,4,6,and 7). We were able to sequence 3 of these (1, 4, and 6), and analysis showed the sequence matched 98% with TSWV, which we consider to be a definitive match.

Sincerely,

Elizabeth Parks

Apéndice 4.

Cuadro 4. Resultados de datos de campo, de incidencia, severidad, % de incidencia y severidad y coordenadas geográficas.

| Inverna. | Punto | Incidencia | Aldea | Coordenadas U T M | % Incidencia y Severidad | |
|-------------------------------------|-------|--------------------------|-------|----------------------|-----------------------------|----|
| 1 CM = Cabecera Municipal | 1 | Entre invernadero | CM | 753244 - 1628959 | 60 | |
| | 2 | En invernadero | CM | 753255 - 1628945 | 60 | 46 |
| | 3 | En invernadero | CM | 753236 - 1628940 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CM | 753240 - 1628935 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | CM | 753257 - 1628951 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | CM | 753253 - 1628954 | 60 | |
| 2 | 1 | Entre invernadero | CM | 753279 - 1629002 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | CM | 753269 - 1629003 | 10 | 38 |
| | 3 | En invernadero | CM | 753281 - 1629009 | 30 | |
| | 4 | En invernadero | CM | 753287 - 1628999 | 50 | |
| | 5 | En invernadero | CM | 753281 - 1628993 | 70 | |
| | 6 | En invernadero | CM | 753279 - 1628998 | 30 | |
| 3 CP = Camino de San Pedro | 1 | Entre invernadero | CP | 753943 - 1626353 | 30 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753920 - 1626349 | 30 | 42 |
| | 3 | En invernadero | CP | 753922 - 1626350 | 40 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753921 - 1626364 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753924 - 1626353 | 60 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753921 - 1626345 | 20 | |
| 4 | 1 | Entre invernadero | CP | 753928 - 1626368 | 70 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753932 - 1626365 | 80 | 68 |
| | 3 | En invernadero | CP | 753928 - 1626373 | 80 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753926 - 1626366 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753920 - 1626358 | 50 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753927 - 1626366 | 30 | |
| 5 | 1 | Entre invernadero | CP | 753912 - 1626335 | 20 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753909 - 1626333 | 0 | |
| | 3 | En invernadero | CP | 753913 - 1626339 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753917 - 1626332 | 30 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753919 - 1626329 | 10 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753927 - 1626332 | 10 | |
| 6 | 1 | Entre invernadero | CP | 753912 - 1626325 | 20 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753908 - 1626318 | 40 | |

| | | | | | | |
|-----------------------|--------------|--------------------------|--------------|------------------------------|-------------------------------------|----|
| | 3 | En invernadero | CP | 753899 - 1626326 | 30 | 42 |
| | 4 | En invernadero | CP | 753909 - 1626332 | 40 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753915 - 1626319 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753913 - 1626326 | 70 | |
| 7 | 1 | Entre invernadero | CP | 753922 - 1626319 | 40 | 44 |
| | 2 | En invernadero | CP | 753938 - 1626319 | 90 | |
| | 3 | En invernadero | CP | 753939 - 1626316 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753936 - 1626304 | 40 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753942 - 1626310 | 40 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753933 - 1626307 | 30 | |
| 8 | 1 | Entre invernadero | CP | 754232 - 1625621 | 0 | 56 |
| | 2 | En invernadero | CP | 753749 - 1625853 | 10 | |
| | 3 | En invernadero | CP | 753748 - 165854 | 10 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753746 - 165853 | 80 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753754 - 165858 | 80 | |
| Inverna. | Punto | Incidencia | Aldea | Coordenadas U T M | % Incidencia y Severidad | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753761 - 165857 | 100 | |
| 9 S= Sajcavilla | 1 | Entre invernadero | S | 755598 - 1626813 | 100 | 60 |
| | 2 | En invernadero | S | 755097 - 1626814 | 100 | |
| | 3 | En invernadero | S | 755115 - 1626807 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755100 - 1626824 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | S | 757103 - 1626812 | 0 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755102 - 1626815 | 0 | |
| 10 | 1 | Entre invernadero | S | 755418 - 1627376 | 30 | 60 |
| | 2 | En invernadero | S | 755424 - 1627373 | 100 | |
| | 3 | En invernadero | S | 755418 - 1627371 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755418 - 1627364 | 0 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755411 - 1627369 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755411 - 1627367 | 0 | |
| 11 | 1 | Entre invernadero | S | 755418 - 1627376 | 30 | 60 |
| | 2 | En invernadero | S | 755424 - 1627373 | 100 | |
| | 3 | En invernadero | S | 755418 - 1627371 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755418 - 1627364 | 0 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755411 - 1627369 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755411 - 1627367 | 0 | |
| 12 | 1 | Entre invernadero | CP | 753766 - 1625899 | 10 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753785 - 1625892 | 10 | |
| | 3 | En invernadero | CP | 753785 - 1625895 | 10 | |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|---|--------------------------|----|------------------|-----|-----|
| | 4 | En invernadero | CP | 753763 - 1625895 | 10 | 26 |
| | 5 | En invernadero | CP | 753761 - 1625897 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753774 - 1625902 | 0 | |
| 13 | 1 | Entre invernadero | CP | 753766 - 1625845 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | CP | 753772 - 1625838 | 0 | 26 |
| | 3 | En invernadero | CP | 753776 - 1625835 | 10 | |
| | 4 | En invernadero | CP | 753765 - 1625823 | 10 | |
| | 5 | En invernadero | CP | 753772 - 1625831 | 50 | |
| | 6 | En invernadero | CP | 753763 - 1625821 | 60 | |
| 14 CZ = Comunidad de Zet | 1 | Entre invernadero | CZ | 754753 - 1629347 | 50 | |
| | 2 | En invernadero | CZ | 754757 - 1629348 | 50 | 52 |
| | 3 | En invernadero | CZ | 754750 - 1629355 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | CZ | 754754 - 1829352 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | CZ | 754749 - 1629358 | 50 | |
| | 6 | En invernadero | CZ | 754748 - 1629355 | 0 | |
| 15 | 1 | Entre invernadero | CZ | 754780 - 1629348 | 90 | |
| | 2 | En invernadero | CZ | 754784 - 1629340 | 100 | 100 |
| | 3 | En invernadero | CZ | 754777 - 1629352 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | CZ | 754782 - 1629355 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | CZ | 754789 - 1629350 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | CZ | 754769 - 1629365 | 100 | |
| 16 | 1 | Entre invernadero | CZ | 754807 - 1629362 | 100 | |
| | 2 | En invernadero | CZ | 754811 - 1629362 | 50 | 68 |
| | 3 | En invernadero | CZ | 754814 - 1629363 | 90 | |
| | 4 | En invernadero | CZ | 754814 - 1629361 | 90 | |
| | 5 | En invernadero | CZ | 754813 - 1629373 | 20 | |
| | 6 | En invernadero | CZ | 754807 - 1629372 | 90 | |
| 17 LA = Loma Alta | 1 | Entre invernadero | LA | 752817 - 1627758 | 50 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752824 - 1627768 | 100 | 98 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752837 - 1627771 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752837 - 1627764 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752831 - 1627760 | 90 | 100 |
| | 6 | En invernadero | LA | 752833 - 1627762 | 100 | |
| 18 | 1 | Entre invernadero | LA | 752782 - 1627724 | 40 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752790 - 1627726 | 60 | 72 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752775 - 1627738 | 10 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752778 - 1627744 | 90 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752769 - 1627741 | 100 | |

| | | | | | | |
|-----------------|---|--------------------------|----|------------------|-----|----|
| | 6 | En invernadero | LA | 752757 - 1627531 | 100 | |
| 19 | 1 | Entre invernadero | LA | 752750 - 1627728 | 60 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752748 - 1627716 | 80 | 88 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752762 - 1627707 | 90 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752763 - 1627719 | 90 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752778 - 1627702 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752748 - 1627723 | 80 | |
| 20 | 1 | Entre invernadero | LA | 752927 - 1627719 | 100 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752729 - 1627722 | 70 | 76 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752737 - 1627727 | 80 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752754 - 1627731 | 90 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752771 - 1627727 | 90 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752765 - 1627739 | 50 | |
| 21 | 1 | Entre invernadero | LA | 752009 - 1627003 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752013 - 1627002 | 60 | 70 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752025 - 1626996 | 50 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752026 - 1627000 | 50 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752016 - 1627005 | 90 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752014 - 1627006 | 100 | |
| 22 | 1 | Entre invernadero | LA | 752039 - 1627002 | 60 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752027 - 1626986 | 60 | 46 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752025 - 1626987 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752016 - 1626991 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752008 - 1626996 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752006 - 1626993 | 60 | |
| 23 | 1 | Entre invernadero | LA | 752018 - 1626986 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752018 - 1626977 | 20 | 46 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752020 - 1626974 | 60 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752031 - 1626975 | 50 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752040 - 1626976 | 70 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752041 - 1626986 | 30 | |
| 24 | 1 | Entre invernadero | LA | 752023 - 1626978 | 30 | |
| | 2 | En invernadero | LA | 752033 - 1626990 | 30 | 42 |
| | 3 | En invernadero | LA | 752036 - 1626999 | 40 | |
| | 4 | En invernadero | LA | 752047 - 1626997 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | LA | 752053 - 1626999 | 60 | |
| | 6 | En invernadero | LA | 752034 - 1626996 | 20 | |
| 25 CB = Cruz | 1 | Entre invernadero | CB | 750948 - 1629062 | 10 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 750955 - 1629050 | 40 | |

| | | | | | | |
|--------|---|--------------------------|----|------------------|-----|----|
| Blanca | 3 | En invernadero | CB | 750953 - 1629047 | 80 | 66 |
| | 4 | En invernadero | CB | 750944 - 1629050 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 750938 - 1629050 | 80 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 750950 - 1629041 | 30 | |
| 26 | 1 | Entre invernadero | CB | 750959 - 1629039 | 20 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 750964 - 1629049 | 0 | 14 |
| | 3 | En invernadero | CB | 750961 - 1629040 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 750963 - 1629045 | 30 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 750989 - 1629109 | 10 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 750962 - 1629055 | 10 | |
| 27 | 1 | Entre invernadero | CB | 751027 - 1629059 | 90 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751031 - 1629034 | 40 | |
| | 3 | En invernadero | CB | 751029 - 1629031 | 30 | 42 |
| | 4 | En invernadero | CB | 751024 - 1629036 | 40 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 751020 - 1629043 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 751022 - 1629036 | 70 | |
| 28 | 1 | Entre invernadero | CB | 751031 - 1629039 | 40 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751040 - 1629036 | 90 | 44 |
| | 3 | En invernadero | CB | 751045 - 1629041 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 751045 - 1629047 | 40 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 751052 - 1629035 | 40 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 751048 - 1629040 | 30 | |
| 29 | 1 | Entre invernadero | CB | 751043 - 1629022 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751046 - 1629020 | 10 | 58 |
| | 3 | En invernadero | CB | 751051 - 1629017 | 0 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 751051 - 1629027 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 751055 - 1629021 | 80 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 751050 - 1629020 | 100 | |
| 30 | 1 | Entre invernadero | CB | 751041 - 1629011 | 100 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751039 - 1629010 | 100 | 60 |
| | 3 | En invernadero | CB | 751041 - 1629010 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 751041 - 1629008 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 751033 - 1629003 | 0 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 751046 - 1629006 | 0 | |
| 31 | 1 | Entre invernadero | CB | 751043 - 1629008 | 30 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751049 - 1629017 | 100 | 60 |
| | 3 | En invernadero | CB | 751056 - 1629016 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 751059 - 1629019 | 0 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 755170 - 1626799 | 100 | |

| | | | | | | |
|------|---|--------------------------|----|------------------|-----|----|
| | 6 | En invernadero | CB | 751060 - 1629017 | 0 | |
| 32 | 1 | Entre invernadero | CB | 751062 - 1629015 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | CB | 751063 - 1629018 | 10 | 22 |
| | 3 | En invernadero | CB | 751065 - 1629016 | 0 | |
| | 4 | En invernadero | CB | 751068 - 1629022 | 50 | |
| | 5 | En invernadero | CB | 751072 - 1629016 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | CB | 751066 - 1629016 | 20 | |
| 33 | 1 | Entre invernadero | S | 755180 - 1626798 | 100 | |
| | 2 | En invernadero | S | 755165 - 1626804 | 60 | 24 |
| | 3 | En invernadero | S | 755182 - 1626791 | 50 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755175 - 1626798 | 0 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755170 - 1626799 | 10 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755163 - 1626802 | 0 | |
| 34 | 1 | Entre invernadero | S | 755188 - 1626793 | 0 | |
| | 2 | En invernadero | S | 755204 - 1626790 | 100 | 72 |
| | 3 | En invernadero | S | 755195 - 1626780 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755189 - 1626778 | 10 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755191 - 1626777 | 90 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755191 - 1626771 | 60 | |
| 35 | 1 | Entre invernadero | S | 755210 - 1626787 | 50 | |
| | 2 | En invernadero | S | 755229 - 1626805 | 50 | 52 |
| | 3 | En invernadero | S | 755231 - 1626809 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755223 - 1626814 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755239 - 1626806 | 50 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755233 - 1626804 | 0 | |
| 36 | 1 | Entre invernadero | S | 755194 - 1626761 | 90 | |
| | 2 | En invernadero | S | 755193 - 1626745 | 100 | 90 |
| | 3 | En invernadero | S | 755213 - 1626743 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755216 - 1626735 | 100 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755201 - 1626734 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755228 - 1626770 | 50 | |
| 37 | 1 | Entre invernadero | S | 755234 - 1626790 | 100 | |
| | 2 | En invernadero | S | 755234 - 1626808 | 50 | 72 |
| | 3 | En invernadero | S | 755246 - 1626806 | 100 | |
| | 4 | En invernadero | S | 755235 - 1626818 | 90 | |
| | 5 | En invernadero | S | 755239 - 1626822 | 30 | |
| | 6 | En invernadero | S | 755225 - 1626826 | 90 | |
| 38 | 1 | Entre invernadero | CR | 754151 - 1630872 | 30 | |
| CR = | 2 | En invernadero | CR | 754167 - 1630885 | 30 | |

| | | | | | | |
|-------------------|---|--------------------------|----|------------------|-----|----|
| Comunidad de Ruiz | 3 | En invernadero | CR | 754154 - 1630867 | 80 | 54 |
| | 4 | En invernadero | CR | 754157 - 1630866 | 60 | |
| | 5 | En invernadero | CR | 754149 - 1630854 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | CR | 754159 - 1630860 | 0 | |
| 39 | 1 | Entre invernadero | CR | 754158 - 1630838 | 80 | |
| | 2 | En invernadero | CR | 754151 - 1630829 | 20 | 46 |
| | 3 | En invernadero | CR | 754160 - 1630836 | 40 | |
| | 4 | En invernadero | CR | 754162 - 1630835 | 30 | |
| | 5 | En invernadero | CR | 754162 - 1630830 | 60 | |
| | 6 | En invernadero | CR | 754156 - 1630820 | 80 | |
| 40 | 1 | Entre invernadero | CR | 754160 - 1630819 | 30 | |
| | 2 | En invernadero | CR | 754153 - 1630818 | 70 | 46 |
| | 3 | En invernadero | CR | 754151 - 1630819 | 20 | |
| | 4 | En invernadero | CR | 754149 - 1630818 | 10 | |
| | 5 | En invernadero | CR | 754147 - 1630819 | 100 | |
| | 6 | En invernadero | CR | 754144 - 1630823 | 30 | |

Apéndice 5.

Procedimiento para realizar los Medios de cultivo:

I. Medio de AN (Agar Nutritivo)

| | | |
|---------------------|-------------------|---------------------------|
| Lista de Reactivos: | Extracto de carne | 5 g. |
| | Peptona | 10 g. |
| | NaCl | 5 g. |
| | Agar | 15 g |
| | dH ₂ O | <hr/> 1000 ml. ph 6.8-7.2 |

Procedimiento:

1. Medir el agua destilada y hervirla en un beaker. Pesar el extracto de carne y colocarlo en el agua. Agitar bien el agua, hasta que se disuelva el reactivo completamente.
2. Repetirlo igual con los reactivos siguientes. (siempre en el orden de la lista).
3. Antes de colocar el agar, ajustar el ph usando el papel ph. - Para subir el ph, use 1N NaOH, para bajarlo use 1N HCl.
4. Después de añadir agar esterilizar el medio en autoclave a 121 C° por 20 minutos.
5. Coloque el medio en cajas de petri dentro de la campana. (2)

II. Medio de PDA (Papa, dextrosa, agar)

(Para 150 ml de medio)

| | | |
|---------------------|----------------|--------|
| Lista de reactivos: | Trozos de papa | 60 gr. |
| | Dextrosa | 1.5 g. |
| | Agar | 3 g. |
| | Agua destilada | 150 cc |

Procedimiento:

- Pese 60 g de papas peladas (previamente lavadas).
- Rodaje la papa, para ponerla en un erlenmeyer de 250 cc con 100 cc de agua destilada.

- Hervir el agua y la papa por 30 minutos.
- Pese 1.5 g de dextrosa y agréguelo en otro erlenmeyer de 250 cc que contienen 100 cc de agua destilada.
- Filtrar el caldo de papa que se obtuvo de la cocción, utilizando un filtro con gasa y un embudo. Mezclar el filtrado en el otro erlenmeyer que contiene dextrosa.
- Ajustar el volumen de 200 cc y agregar 3.0 g de agar.
- Calentar y esperar que el agar se haya disuelto.
- Esterilizar el medio en autoclave a 121 °C por 20 minutos.
- Coloque el medio en cajas de petri dentro de la campana. (16)

Apéndice 6.

❖ Costos del Medio de cultivo:

Según la información recopilada:

El costo del medio de cultivo para la Micropropagación, es de aproximadamente Q35.00 – Q40.00/litro, del medio M&S que es el medio general de crecimiento para la micropropagación; y del mismo medio pero con reguladores de crecimiento es de Q45.00. Generalmente lo que se utilizaría en Crisantemo son tubos de ensayo, ya que el objetivo es crecimiento longitudinal de la planta, para la fase de reproducción, en los cuales se utilizaría de 5-10 ml. de medio. (6)