

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ÁREA INTEGRADA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a saint, likely St. Charles, holding a book and a staff. The figure is surrounded by various symbols: a castle on the left, a lion on the right, and a cross at the top. The background is a landscape with green hills and a blue sky. The text 'UNIVERSITAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADÉMICA COACTEMALENSIS INTER BELNI SISNETTANICAOO' is inscribed around the perimeter of the seal.

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PROSPECCIÓN DE ENFERMEDADES DE RAÍCES Y TALLOS EN EL CULTIVO DE FLORES DE CORTE EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA Y SERVICIOS DE ANÁLISIS DESARROLLADOS EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**

LILA JUDITH REYES CONSUEGRA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

AREA INTEGRADA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PROSPECCIÓN DE ENFERMEDADES DE RAÍCES Y TALLOS EN EL CULTIVO DE FLORES DE CORTE EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA Y SERVICIOS DE ANÁLISIS DESARROLLADOS EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

POR

LILA JUDITH REYES CONSUEGRA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

LIC. CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO	MSc. FRANCISCO JAVIER VÁSQUEZ VÁSQUEZ
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. WALDEMAR NUFIO REYES
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. WALTER ANTONIO REYES SANABRIA
VOCAL TERCERO	MSc. DANILO ERNESTO DARDÓN AVILA
VOCAL CUARTO	Br. RIGOBERTO MORALES VENTURA
VOCAL QUINTO	Br. MIGUEL SALAZAR DONIS
SECRETARIO	MSc. EDWIN ENRIQUE CANO MORALES

Guatemala, noviembre de 2008.

Guatemala, noviembre de 2008.

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

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de Graduación: PROSPECCIÓN DE ENFERMEDADES DE RAÍCES Y TALLOS EN EL CULTIVO DE FLORES DE CORTE EN SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA Y SERVICIOS DE ANÁLISIS DESARROLLADOS EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

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

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Lila Judith Reyes Consuegra

## ACTO QUE DEDICO

- Al Creador Por su amor infinito y por permitirme culminar este sueño.
- A mis padres Oscar Armando Reyes, por ser apoyo incondicional y fuente de amor, sabiduría y comprensión. Elsa Consuegra de Reyes, por ser ejemplo de fortaleza, rectitud, entereza, perseverancia y honestidad. Eso y más es para mí, mami.
- A mis hermanos Oscar Estuardo, con cariño para él y su familia: Betty, Alex, Jorgito, Rodrigo y Andy. A Patricia, muy especialmente por sus oportunos consejos, apoyo y cariño sincero que nos unirá siempre, junto a Iván, Pao y Titi; y a Jorge Alejandro, que te adelantaste a la eternidad.
- A mi familia Julio Fernando, por su apoyo, y muy especialmente y con todo mi amor a mis hijitos Julián Armando, José Rodolfo y Julio David, por ser mi inspiración, mi prioridad y mi alegría. Los amo. Al Dr. Julián Montenegro por su cariño y oportunos consejos.
- A mi tía Aída Consuegra de Dardón, por su amor, respaldo y presencia en momentos difíciles.
- A mis amigos Londy Mejía, Bárbara Porta, Lilia Arévalo, Roni Mijangos, Soren Ramírez, Antonio Hernández y Ariel Reyes, por esos días inolvidables; a Otto Lavagnino, por su cariño, paciencia y comprensión; a Jorge y Basia Tovar, por su apoyo y cariño a pesar de la distancia; a César García por su amistad incondicional.

## TRABAJO DE GRADUACION QUE DEDICO

A mi Patria

A mis padres.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Agronomía

A mis centros de estudio: Colegio Monte Carmelo, Colegio de Señoritas El Sagrado Corazón y a mis docentes, en especial al Ing. Agr. Gustavo Álvarez Valenzuela

## AGRADECIMIENTOS

Al Creador, por permitirme culminar mi formación profesional y darme la fuerza de enfrentar los obstáculos, convirtiéndolos en oportunidades.

A mis padres, por estar siempre allí, cuando más los necesité. A mi familia, que ha sido parte esencial de mi vida.

A la Facultad de Agronomía, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y por su respaldo durante el desempeño de mi Ejercicio Profesional Supervisado.

A mi asesor específico, Ing. Agr. Gustavo Álvarez Valenzuela, por darme la oportunidad de desempeñar mi Ejercicio Profesional Supervisado bajo su dirección, y por la confianza depositada en mí. A mis asesores y supervisores de Ejercicio Profesional Supervisado, Dr. David Monterroso Salvatierra, Ing. Agr. Ramiro López Pineda e Ing. Agr. Amílcar Sánchez.

A mis amigos y compañeros de EPS, Londy Mejía, Bárbara Porta, Lilia Arévalo, Roni Mijangos, Ariel Reyes, Antonio Hernández y Soren Ramírez, por los momentos compartidos y la amistad que prevalece. Soren y Chex, gracias por el apoyo en la realización de mi investigación.

A los Doctores María Paloma Abad, Luis Álvarez Barnaola y Ana Pérez, de la Universidad Politécnica de Valencia, por sus valiosos conocimientos compartidos, asistencia y asesoría en el desarrollo de mi investigación.

Sr. Julio Peña y Sr. Pedro Echeverría, por su apoyo durante la realización de mi Ejercicio Profesional Supervisado en el Centro de Diagnóstico Parasitológico.

A la Asociación de floricultores de San Juan Sacatepéquez (ASOFLORSA), por las facilidades otorgadas para la realización del trabajo de investigación, en especial a Oscar Tuquer.

A Corporación Tak, en especial al Ing. Agr. Ricardo Yup, por brindarme el tiempo y apoyo para culminar con mi Trabajo de Graduación, así como al Ing. Agr. Félix Medrano, por sus consejos, Adolfo López y Ana María Pernilla. Gracias por su amistad.

## INDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS .....	v
INDICE DE CUADROS.....	ix
RESUMEN GENERAL.....	x
CAPITULO I: DIAGNÓSTICO REALIZADO EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA (CDP-FAUSAC), DURANTE LOS MESES DE FEBRERO A NOVIEMBRE 2007.....	
	1
1.1 PRESENTACIÓN .....	2
1.2 MARCO REFERENCIAL.....	3
1.2.1 Generalidades.....	3
1.2.2 Infraestructura .....	3
1.2.3 Recursos Humanos.....	4
1.2.5 Servicios .....	5
1.2.6 Administración.....	6
1.2.7 Recursos Físicos.....	7
1.2.8 Proceso de recepción, ingreso, registro y procesamiento de muestras y entrega de resultados. ....	10
1.3 OBJETIVOS .....	11
1.4 METODOLOGIA .....	11
1.5 RESULTADOS .....	12
1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	15
1.7 BIBLIOGRAFIA.....	16
CAPITULO II: INVESTIGACIÓN. PROSPECCIÓN DE ENFERMEDADES DE RAÍCES Y TALLOS, INCITADAS POR OOMYCETOS DE LOS GÉNEROS <i>Pythium</i> Y <i>Phytophthora</i> EN EL CULTIVO DE FLORES DE CORTE, EN EL MUNICIPIO DE SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA.....	
	17
AN EXPLORATION STUDY OF DISEASES ON ROOTS AND STEMS CAUSED BY OOMYCETES FROM <i>Pythium</i> AND <i>Phytophthora</i> GENERA ON CUT FLOWERS CROP IN SAN JUAN SACATEPEQUEZ, GUATEMALA.....	
	17
2.1 PRESENTACIÓN .....	18
2.2 MARCO CONCEPTUAL .....	19



2.2.1 Reino Stramenopiles o Chromista.....	19
2.2.2 Phylum Oomycota.....	20
2.2.3 Género <i>Pythium</i> .....	21
2.2.4 Género <i>Phytophthora</i> .....	25
2.2.5 Cultivo de la rosa y Oomycetos asociados .....	30
2.2.6 Cultivo del crisantemo y Oomycetos asociados .....	32
2.2.7 Cultivo del clavel y Oomycetos asociados .....	34
2.2.8 Cultivo del lirio y Oomycetos asociados .....	36
2.2.9 Cultivo del gladiolo y Oomycetos asociados .....	38
2.2.10 Cultivo del espárrago ornamental y Oomycetos asociados .....	39
2.3 OBJETIVOS .....	41
General .....	41
Específicos.....	41
2.4 METODOLOGIA.....	42
2.4.1 Descripción del muestreo.....	42
2.4.2 Toma de muestra .....	43
2.4.3 Fase de laboratorio .....	44
2.4.4 Proceso de Identificación a nivel molecular. ....	58
2.5 RESULTADOS .....	59
2.5.1 Agentes detectados en el muestreo.....	63
2.5.2 Pruebas de patogenicidad para el género <i>Pythium</i> .....	71
2.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	76
2.7 BIBLIOGRAFIA.....	77
CAPITULO III: SERVICIOS REALIZADOS EN EL CENTRO DE DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA (CDP-FAUSAC) DURANTE EL PERIODO FEBRERO-NOVIEMBRE DE 2007.....	81
3.1 PRESENTACION .....	82
3.2 SERVICIO No. 1: PROTOCOLOS DE MUESTREO, PROCESAMIENTO DE MUESTRA, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN, DETERMINACIÓN DE	

PATOGENICIDAD Y CONSERVACIÓN DE CEPAS DE <i>PYTHIUM</i> Y <i>PHYTOPHTHORA</i> .....	83
3.2.1 OBJETIVOS .....	83
3.2.2 METODOLOGÍA .....	83
3.2.3 RESULTADOS.....	84
Protocolo de determinación, aislamiento y conservación de <i>Pythium</i> y <i>Phytophthora</i> , a partir de tejido vegetal y suelo. ....	84
1. Introducción.....	84
2. Objetivo .....	85
3. Información sobre los agentes fitopatógenos.....	85
4. Información Taxonómica. (Según Taxa of Life).....	87
5. Detección en Campo.....	88
6. Materiales.....	91
7. Identificación. ....	92
8. Registro.....	104
9. Puntos de referencia para información adicional. ....	105
10. Referencias.....	105
3.2.4 EVALUACION .....	106
3.3 SERVICIO No. 2: APOYO TÉCNICO AL PROYECTO FODECYT 01-2007, TITULADO “DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE OOMYCETOS ASOCIADOS A CULTIVOS DE EXPORTACIÓN EN LA REGIÓN CENTRAL DE GUATEMALA” USAC-UPV.....	107
3.3.1 OBJETIVOS .....	107
3.3.2 METODOLOGIA .....	107
3.3.3 RESULTADOS.....	108
3.3.4 EVALUACIÓN .....	116
3.4 SERVICIO No. 3: DIAGNÓSTICOS FITOPATOLÓGICOS DE MUESTRAS DE SUELO Y PLANTA INGRESADAS EN EL CDP-FAUSAC, PROVENIENTES DE USUARIOS PARTICULARES Y DE ESTUDIANTES DE EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO (EPS), DURANTE LOS MESES COMPENDIDOS DE FEBRERO A NOVIEMBRE DE 2007. ....	117
3.4.1 OBJETIVOS .....	117
3.4.2 METODOLOGÍA .....	117

3.4.3 RESULTADOS.....	118
3.4.4 EVALUACION .....	118
3.5 SERVICIO No. 4: CREACIÓN DE LOGOTIPO PARA EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.....	119
3.5.1 OBJETIVOS .....	119
3.5.2 METODOLOGIA .....	119
3.5.3 RESULTADOS.....	120
3.5.4 EVALUACIÓN .....	122

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Micelio y esporangio de <i>Pythium</i> sp. procedente de sustrato de crisantemo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 2: Micelio y esporangio de <i>Phytophthora</i> sp. procedente de <i>Pothos</i> sp. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 3: Perforado de la fruta con sacabocados para inocular cada muestra. Fuente: L Reyes.....	45
Figura 4: Inoculación de cada muestra de suelo colectada en las perforaciones hechas a la fruta. Fuente: L. Reyes.....	46
Figura 5: Sellado de cada perforación en la manzana inoculada con suelo, con cinta adhesiva. Fuente: L. Reyes.....	46
Figura 6: Fruto de manzana inoculado con suelo, hidratado y sellado. Fuente: L. Reyes.....	47
Figura 7: Semillas de manzana con micelio desarrollado en solución de extracto de suelo, proveniente de muestras colectadas. Fuente: L. Reyes.....	48
Figura 8: Forma de colocación de fracciones de tejido de manzana infectada sobre medio de cultivo selectivo para su aislamiento. Fuente: L. Reyes.....	49
Figura 9: Descripción pictográfica de las características de crecimiento que se utilizan como uno de los parámetros para identificar especies de <i>Phytophthora</i> desarrolladas en medio PDA. (7) Fuente: Dr. Luis Álvarez. ....	50
Figura 10: Conservación de aislados de <i>Pythium</i> y <i>Phytophthora</i> provenientes de las muestras colectadas, en frascos conteniendo turba, jugo V-8 y agar. Fuente: L. Reyes.....	51
Figura 11: Obtención en el campo de esquejes de partes aéreas de crisantemo para su posterior enraizamiento e inoculación. Fuente: L. Reyes.....	53
Figura 12: Preparación en el laboratorio de bandejas piloneras con sustrato estéril para la siembra de semillas de cebolla y esquejes de crisantemo. Fuente: L. Reyes....	53
Figura 13: Siembra de esquejes de crisantemo para su enraizamiento en las bandejas piloneras, para su posterior inoculación. Fuente: L. Reyes. ....	54
Figura 14: Esquejes de crisantemo enraizando en sustrato estéril para su posterior inoculación. Fuente: L.Reyes.....	54
Figura 15: Siembra de semillas de cebolla desinfectadas en bandejas piloneras, para la obtención de plántulas sanas. Fuente: L. Reyes. ....	55
Figura 16: Plántulas de cebolla con desarrollo idóneo para ser inoculadas con los aislamientos de <i>Pythium</i> sp. provenientes del muestreo. Fuente: L. Reyes. ....	55
Figura 17: Plántula de crisantemo enraizada y lista para ser inoculada con los aislados de <i>Pythium</i> sp. provenientes del muestreo. Fuente: L. Reyes.....	56

Figura 18: Inoculación de cada aislado de <i>Pythium</i> en macetas con sustrato estéril. Fuente: L. Reyes.....	56
Figura 19: Siembra de 10 plántulas de crisantemo en cada maceta con sustrato inoculado con cada aislado de <i>Pythium</i> . Fuente: L. Reyes.....	57
Figura 20: Prueba de patogenicidad de cepas de <i>Pythium</i> provenientes del muestreo, en plantas de cebolla y crisantemo, instalado en el invernadero ubicado en el Centro Experimental Docente de Agronomía, FAUSAC. Fuente: L. Reyes.....	57
Figura 21: Uno de los sitios muestreados en las comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.....	59
Figura 22: Mapa de localización de comunidades muestreadas en el Municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala.....	61
Figura 23: Sintomatología del daño causado en crisantemo por la presencia de <i>Pythium</i> , observada durante los muestreos. Fuente: L. Reyes.....	62
Figura 24: Sintomatología del daño causado en lirios por la presencia de <i>Pythium</i> , observada durante los muestreos. Fuente: L. Reyes.....	62
Figura 25: Mapa de localización de comunidades muestreadas con presencia de <i>Phytophthora</i> , en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala. Fuente: L. Reyes.....	64
Figura 26: Mapa de localización de comunidades muestreadas con presencia de <i>Pythium</i> , en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala. Fuente: L. Reyes.....	65
Figura 27: Esporangio de <i>Phytophthora tropicalis</i> aislado del cultivo de rosa en Comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: Dr. Luis Álvarez, UPV.....	67
Figura 28: Planta de rosa que presentó la sintomatología de daño ocasionado por <i>P. tropicalis</i> , en la comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.....	67
Figura 29: Sintomatología en el campo, de daño ocasionado por <i>P. tropicalis</i> en rosa, en la comunidad de Cruz Verde. Fuente: L. Reyes.....	68
Figura 30: Sintomatología del daño causado por <i>Pythium</i> en Espárrago Ornamental en la comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.....	68
Figura 31: Sintomatología del daño ocasionado por <i>Pythium</i> en crisantemo en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.....	69
Figura 32: Pudrición de tallo y raíces como resultado del ataque de <i>Pythium</i> en plantas de crisantemo tomadas de camas de propagación. Fuente: L. Reyes.....	70
Figura 33: Sintomatología del daño a nivel de raíz y desarrollo de planta, causado por <i>Pythium</i> en lirio, en la Comunidad de Zet. Fuente: L. Reyes.....	71

Figura 34: Sintomatología del daño a nivel de raíz y desarrollo de plantas causado por <i>Pythium</i> en lirio, en la Comunidad de Zet. Fuente: L. Reyes. ....	71
Figura 35: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de lirio, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de cebolla. Muestra 10. A la derecha plantas testigo, a la izquierda plantas inoculadas. Fuente: L. Reyes .....	1
Figura 36: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 11. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 37: Efecto del daño causado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 13. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 38: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 14. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda planta testigo. Fuente: L. Reyes. ....	1
Figura 39: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en Camino de San Pedro, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 28. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 40: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en El Pilar, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 47. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 41: Efecto del daño ocasionado por el género <i>Pythium</i> , colectado en suelo de crisantemo, en Pacajay, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 53. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 42: Diagrama de flujo de procesamiento de muestras para análisis de Oomycetos. Fuente: L. Reyes. ....	97
Figura 43: Logotipo utilizado anteriormente en el CDP-FAUSAC. Fuente: L. Reyes.....	1
Figura 44: Logotipo CDP-FAUSAC modificado. Fuente: L. Reyes. ....	1

Figura 45: Logotipo del CDP-FAUSAC modificado. Fuente: L. Reyes.....1

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Equipo de laboratorio C-15, CDP-FAUSAC.....	7
Cuadro 2: Equipo de laboratorio C-2, CDP-FAUSAC.....	8
Cuadro 3: Equipo de laboratorio C-26, CDP-FAUSAC.....	8
Cuadro 4: Equipo de laboratorio C-27, CDP-FAUSAC.....	9
Cuadro 5: Matriz de jerarquización de fortalezas del CDP-FAUSAC. ....	13
Cuadro 6: Matriz de jerarquización de debilidades del CDP-FAUSAC.....	14
Cuadro 7: Presentación de datos del muestreo realizados en San Juan Sacatepéquez: correlativo, hospedante, procedencia, altitud y coordenadas. ....	60
Cuadro 8: Coordenadas latitud-longitud de áreas muestreadas con presencia del género <i>Phytophthora</i> . ....	63
Cuadro 9: Coordenadas latitud-longitud de áreas muestreadas con presencia del género <i>Pythium</i> . ....	63
Cuadro 10: Listado general de muestreos proyecto FODECYT 01-2007.....	108



## RESUMEN GENERAL

Como parte del trabajo de graduación se detallan los contenidos de las tres fases del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), las cuales son: Diagnóstico, Investigación y Servicios. Esta actividad se llevó a cabo en Centro de Diagnóstico Parasitológico, Sub-área de Protección de Plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (CDP-FAUSAC), entidad que fue creada en 1989 y que presta servicios técnicos al sector agrícola en general como una manera de vincular a la Universidad con la comunidad a la que se debe.

El Diagnóstico fue realizado sobre el funcionamiento del CDP-FAUSAC, en función de evaluar las condiciones generales que un laboratorio de diagnóstico debe reunir según normas internacionalmente aceptadas y recomendar las mejoras procedentes, todo ello llevado a cabo en el período febrero-noviembre de 2007.

La fase de Investigación se realizó en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala, con la Asociación de Floricultores de San Juan (ASOFLORSA) conjuntamente con el CDP-FAUSAC, en donde se realizó un estudio prospectivo de la presencia de *Pythium* y *Phytophthora* en el cultivo de flores de corte, específicamente en rosa, crisantemo, lirio, gladiola y espárrago ornamental, cultivos de importancia en esa región.

Los servicios realizados durante los 10 meses que abarca el Ejercicio Profesional Supervisado, se llevaron a cabo en el CDP-FAUSAC, y ejecutados en varias asignaciones: elaboración de Protocolos de Análisis de hongos de suelo; apoyo técnico al Proyecto FODECYT 01-2007 denominado “Detección y caracterización de especies de oomycetos asociados a cultivos de exportación en la Región Central de Guatemala”; diagnóstico fitopatológico de muestras ingresadas al CDP-FAUSAC provenientes de usuarios particulares así como de estudiantes de EPS como contribución a su trabajo de campo, y finalmente en la expansión y mejora de imagen del CDP-FAUSAC a través del apoyo a las jornadas fitopatológicas y cambio de logotipo utilizado en boletas de ingreso, papel membretado, trifoliales, y todo material informativo y divulgativo de esta entidad.

**CAPITULO I: DIAGNÓSTICO REALIZADO EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO  
PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE  
SAN CARLOS DE GUATEMALA (CDP-FAUSAC), DURANTE LOS MESES DE  
FEBRERO A NOVIEMBRE 2007.**

## 1.1 PRESENTACIÓN

El Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (CDP-FAUSAC) es una entidad de servicio que obedece a un programa de la Facultad de Agronomía para prestar asistencia al sector dedicado a la producción agrícola y forestal en Guatemala y así cooperar con la actividad productiva.

El diagnóstico consistió en presentar las condiciones y estructura administrativa del CDP-FAUSAC durante el período de febrero a noviembre del año 2007.

En este proceso se definieron las características y funciones de la entidad, con el objeto de analizar la infraestructura, personal y equipo de la misma, y con ello reflejar su estado actual operacional, su organización y funcionamiento, así como los recursos humanos y físicos con que cuenta para realizar los análisis y generar la información requerida por los usuarios.

Se determinó que el CDP-FAUSAC está en capacidad de realizar diagnósticos de enfermedades causadas por hongos, nemátodos, bacterias, artrópodos y malezas, y se enfatiza que es una institución que puede ampliar sus expectativas en cuanto a prestación de servicios, siendo su personal altamente calificado el mejor recurso con que cuenta.

## **1.2 MARCO REFERENCIAL**

### **1.2.1 Generalidades**

El Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala inicia la prestación de servicios en el año 1989, siendo aprobado oficialmente en 1990, según los artículos de la propuesta de prestación de servicios educativos, científicos y tecnológicos y por la Junta Directiva de la Facultad de Agronomía en la Resolución No. 735-96, punto sexto del acta 46-96, con la finalidad de proyectar las actividades investigativas de la Universidad hacia la sociedad que necesita el apoyo técnico y científico para mejorar sus actividades, así como colaborar con los procesos académicos y la generación de recursos para su auto desempeño.

La Unidad Ejecutora del CDP-FAUSAC es la Subárea de Protección de Plantas, Área Tecnológica de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala y esta ubicado en el Campus Universitario, zona 12, en el Edificio T-8, tercer nivel, en los laboratorios C-2, C-15, C-21, C-26 y C-27.

En Guatemala hay diversas instituciones que se dedican al diagnóstico de enfermedades de plantas, gubernamentales y privados, tales como Soluciones Analíticas, Agroexpertos, ANALAB, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), entre otros. El valor de los diagnósticos en las empresas e instituciones antes mencionadas es alto en comparación con la tarifa que mantiene el CDP-FAUSAC, por ser una entidad no lucrativa, que tiene como fin último prestar el servicio efectivo y oportuno de diagnóstico de plagas y enfermedades en los diversos cultivos, a todos los sectores agrícolas del país.

### **1.2.2 Infraestructura**

El CDP-FAUSAC cuenta con varios laboratorios para el desarrollo de cada actividad, tomando en cuenta que estas áreas están designadas también para docencia universitaria.

El Laboratorio C-15 es un salón que se utiliza para la enseñanza, y es en él donde se concentra la actividad administrativa del CDP-FAUSAC. Allí se encuentra el área de recepción de muestras, y se realiza el procesamiento preliminar de las mismas, así como la extracción de nematodos, esterilización de cristalería y medios de cultivo así como la entrega de resultados. Es un amplio salón, equipado con mesas de trabajo y gabinetes para el almacenamiento del equipo y materiales y demás aparatos necesarios para la labor de diagnóstico, así como equipo de cómputo para llevar registro de las muestras, elaboración de informes, etc.

En el Laboratorio C-2 es un salón que cuenta con dos áreas: una en donde se encuentra el equipo óptico de mayor precisión, específicamente estereoscopios y microscopios, y otra área independiente, en donde está ubicada la campana de flujo laminar, y es a donde se trasladan las muestras después de ser procesadas, para llevar a cabo las observaciones para el diagnóstico fitopatológico y nematológico, así como llenado de medios de cultivo, siembras y aislamientos de especímenes de interés.

En el Laboratorio C-26 se llevan a cabo los diagnósticos bacteriológicos. En esta área se halla la otra campana de flujo laminar, así como incubadoras, refrigeradores, ollas para esterilizar y licuadoras. En el Laboratorio C-27, que también está designado para la labor docente, se encuentra el área de determinación y diagnóstico entomológico.

Para todas las actividades se cuenta con los servicios de energía eléctrica, agua potable, teléfono, fax, internet, limpieza y extracción de desechos.

### **1.2.3 Recursos Humanos**

Está conformado por profesores titulares y auxiliares de la Subárea de Protección de Plantas, así como del personal de laboratorio.

- Diagnóstico de Hongos
  - Ing. Agr. Gustavo Álvarez Valenzuela
  - Ing. Agr. Ramiro López Pineda

- Aux. de cátedra Héctor Solares
- Estudiante EPS Londy Mejía
- Técnico en Laboratorio Pedro Echeverría
- Diagnóstico de Nemátodos
- Ing. Agr. Gustavo Álvarez Valenzuela
- Estudiante EPS Soren Ramírez
- Técnico en laboratorio Pedro Echeverría
- Diagnóstico de Bacterias
- Ing. Agr. Gustavo Álvarez Valenzuela
- Licda. Q.B. Brenda de Quevedo
- Técnico en laboratorio Julio Peña
- Estudiante EPS Bárbara Porta
- Diagnóstico de Insectos
- Ing. Agr. Samuel Córdova
- Ing. Agr. Álvaro Hernández
- Aux. de Cátedra Rita Estrada
- Técnico en laboratorio Carlos

### **1.2.5 Servicios**

Los servicios que presta el CDP-FAUSAC al sector agrícola del país son:

- En cuanto a análisis, realiza diagnósticos:
  - a) Micológicos: determinación y cuantificación de poblaciones

- b) Nematológicos: determinación y cuantificación de poblaciones de nemátodos filiformes y nemátodos de quiste.
  - c) Bacteriológicos: determinación y cuantificación de bacterias fitopatógenas.
  - d) Entomológicos: determinación y cuantificación de poblaciones, así como certificados de productos libres de plagas .
  - e) Malezas.
- En cuanto a asistencia técnica, realiza toma de muestra de tejidos vegetales, suelos, de plagas, etc.
  - Presta además servicios de capacitación en entomología, fitopatología, epidemiología, uso de plaguicidas y manejo integrado de plagas.

#### **1.2.6 Administración**

El costo de cada análisis realizado es de Q75.00 y es realizado a empresas agrícolas, cooperativas, gremiales, asociaciones y agricultores individuales.

Los fondos acumulados por el pago de diagnósticos son propiedad de la Facultad de Agronomía, y se utilizan para recuperar el material y depreciación de equipo empleado, con un 20% para la USAC, 35% para la FAUSAC, 40% para el pago del técnico y 5% para gastos administrativos.

Estos fondos son administrados con un sistema privativo, empleando una cuenta a nombre del Centro de Diagnostico Parasitológico, para evitar trámites burocráticos que entorpecerían la adquisición de materiales y equipo utilizado y necesario para continuar la actividad.

### 1.2.7 Recursos Físicos

Para la recepción de muestras, su procesamiento preliminar, extracción de nemátodos, y entrega de resultados y esterilización de cristalería y medios de cultivo, el laboratorio C-15 cuenta con el siguiente equipo y recursos descrito en el Cuadro 1.

**Cuadro 1:** Equipo de laboratorio C-15, CDP-FAUSAC.

CANTIDAD	EQUIPO
1	Cámara refrigerada para muestras vegetales
1	Autoclave
1	Destilador de agua
1	Horno Microondas
1	Horno para esterilización con calor seco
1	Cámara nebulizadora para extracción de nemátodos
2	Pesas monoplato
2	Estufas eléctricas con agitador magnético
1	Refrigerador para medios de cultivo
4	Computadoras con impresora
2	Mecheros Bunsen
	Cristalería: matraces, beakers, tubos de ensayo, de diversas capacidades, cajas de Petri, vidrios de reloj e instrumental de laboratorio y accesorios, como mecheros, pinzas, embudos, etc.



Para llevar a cabo los servicios del CDP-FAUSAC, en cuanto a análisis fitopatológicos y de nemátodos se refiere, así como para el aislamiento y purificación de colonias de especímenes de interés, se cuenta con el equipo siguiente en el laboratorio C-2:

**Cuadro 2:** Equipo de laboratorio C-2, CDP-FAUSAC.

CANTIDAD	EQUIPO
3	Microscopios de investigación
3	Estereoscopios de investigación
1	Microscopio
3	Incubadoras
1	Refrigerador
12	Cajas plásticas para cámara húmeda
1	Campana de flujo laminar

El equipo con que se cuenta en el laboratorio C-26, que esta destinado para análisis bacteriológico, para lo cuál se encuentra aislado, se detalla en el cuadro 3.

**Cuadro 3:** Equipo de laboratorio C-26, CDP-FAUSAC.

CANTIDAD	EQUIPO
2	Refrigeradoras
1	Horno Microondas
4	Mecheros Bunsen

7	Licuadoras
2	Ollas para autoclave
2	Hornos
2	Carretillas
1	Campana de flujo laminar
3	Incubadoras
1	Baño María
1	Microscopio
	Cristalería variada, instrumental de laboratorio y accesorios.

Para el diagnóstico entomológico, el laboratorio C-27 cuenta con el siguiente equipo:

**Cuadro 4: Equipo de laboratorio C-27, CDP-FAUSAC.**

CANTIDAD	EQUIPO
2	Microscopios de investigación
2	Esteroscopios de investigación
1	Equipo de computo con impresora
	Cristalería variada, instrumental de laboratorio y accesorio.

Medios de Cultivo y reactivos.

Como parte de las actividades realizadas para la ejecución del diagnóstico, se utilizan en el CDP-FAUSAC diversidad de reactivos inorgánicos y reactivos orgánicos: sales, ácidos, azúcares, extractos de origen animal y vegetal, colorantes, alcoholes, gelatinas, medios de cultivo generales, semiselectivos y selectivos, etc.

### **1.2.8 Proceso de recepción, ingreso, registro y procesamiento de muestras y entrega de resultados.**

#### **- RECEPCION DE MUESTRAS.**

La recepción de muestras se realiza en el laboratorio C-15, en el tercer nivel del edificio T-8 de la Facultad de Agronomía, en la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el área de Recepción. Allí se proporciona una boleta de ingreso de muestra (Ver Anexo 2) que el usuario debe llenar con la información requerida, que básicamente se refiere a nombre del usuario, procedencia de la muestra, manejo del cultivo a analizar, sintomatología de la enfermedad, tipo de muestra, tipo de análisis requerido, entre otras. Esta actividad la realizan los técnicos de laboratorio.

#### **- INGRESO Y REGISTRO DE MUESTRAS.**

Todas las muestras se registran en un Libro de Ingresos, el cual detalla el correlativo, fecha, cultivo, procedencia, usuario y observaciones de la muestra.

#### **- PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.**

Las muestras se asignan al especialista responsable, según sea el análisis solicitado.

#### **- ENTREGA DE RESULTADOS.**

Para la emisión de resultados se tiene una boleta específica que básicamente contiene los logotipos de las entidades responsables, datos de resultados y firma del responsable del análisis.

### **1.3 OBJETIVOS**

- Presentar la situación y condiciones de funcionamiento (fortalezas y debilidades) del Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante el período febrero-noviembre 2007.
- Definir las áreas específicas de trabajo con que cuenta el CDP-FAUSAC, en base a las actividades desempeñadas.
- Establecer los aspectos que deben mejorarse del CDP-FAUSAC en cuanto a la ejecución de sus funciones, proponiendo estrategias efectivas y viables.

### **1.4 METODOLOGIA**

Para determinar la situación general del CDP-FAUSAC durante el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) de febrero a noviembre 2007, se definieron 2 aspectos:

-Obtención de información acerca del funcionamiento, puntos críticos y aspectos positivos del CDP-FAUSAC, a través de entrevistas personales con los técnicos de laboratorio, así como profesores y auxiliares, quienes son los directamente vinculados a las actividades allí realizadas.

-Actualización del inventario del equipo y reactivos del CDP-FAUSAC, durante el año 2007.

Durante las entrevistas se requirió tanto de la opinión, aportes y datos que pudieran ser útiles para el diagnóstico, en cuanto al servicio que se presta, y con esa base establecer las fortalezas y debilidades.

Para la actualización del inventario del material y equipo de laboratorio se verificaron los archivos existentes y se actualizó la información.

## 1.5 RESULTADOS

Como parte del proceso de diagnóstico se realizaron entrevistas personales con los miembros del CDP-FAUSAC directamente involucrados con su funcionamiento operativo, es decir, con técnicos de laboratorio, personal de apoyo y profesores. A través de esas entrevistas se reunió información concerniente a los aspectos positivos con que cuenta el CDP-FAUSAC, así como los que en algún momento representan puntos críticos en cuanto al cumplimiento de las funciones de esta entidad.

En general, las fortalezas que el CDP-FAUSAC posee, a criterio del personal que allí labora, se resume en las siguientes premisas:

- A. Realiza una actividad totalmente de servicio, accesible a todos los interesados.
- B. Cuenta con un personal altamente calificado.
- C. Cuenta con una infraestructura adecuada.
- D. Posee el equipo necesario para realizar los diagnósticos mencionados.
- E. Maneja un presupuesto propio.
- F. Ofrece el servicio a muy bajo costo para el usuario.
- G. Cuenta con el respaldo de una institución como la USAC.

Con respecto a los aspectos que son en algún momento conflictivos, se detallan a continuación:

- a. El personal técnico y de apoyo es responsable de otras actividades además de la de apoyar al CDP-FAUSAC.
- b. No posee equipo especializado para diagnóstico de enfermedades causadas por virus.
- c. Las instalaciones de la Universidad de San Carlos de Guatemala pueden ser cerradas o limitadas en su libre acceso, por suspender actividades tanto

académicas como administrativas, sin previo aviso, por problemas ajenos al CDP-FAUSAC, limitando de ese modo el ingreso al mismo.

- d. No se realiza la suficiente labor de divulgación de las actividades y servicios que ofrece el CDP-FAUSAC.
- e. Incompatibilidades en el equipo de trabajo.

Con base a la información anterior, se estructuraron matrices de jerarquización, en donde se establecieron los aspectos positivos y negativos más importantes, para reforzarlos y equilibrarlos, respectivamente, como lo muestran los cuadros 5 y 6. Cada letra mayúscula representa a una fortaleza en el cuadro 5 y con letras minúsculas en el cuadro 6 se exponen las debilidades. Es importante conocer cuáles son las fortalezas principales del CDP-FAUSAC, para mantenerlas, reforzarlas y darlas a conocer.

**Cuadro 5:** Matriz de jerarquización de fortalezas del CDP-FAUSAC.

FORTALEZAS	A	B	C	D	E	F	G
A		A	A	A	A	A	A
B	A		B	B	B	B	B
C	A	B		C	C	C	C
D	A	B	C		D	D	D
E	A	B	C	D		F	E
F	A	B	C	D	F		F
G	A	B	C	D	G	F	

**Cuadro 6:** Matriz de jerarquización de debilidades del CDP-FAUSAC.

DEBILIDADES	a	b	c	d	e
a		b	c	d	a
b	b		c	d	b
c	c	c		c	c
d	d	d	c		d
e	a	b	c	d	

Tanto en la matriz de jerarquización de fortalezas, como la de debilidades, se confrontan cada una de las cualidades, analizando su importancia, es decir, al criterio de los entrevistados cual de las dos características era de mayor importancia en el proceso de funcionamiento del CDP-FAUSAC. Por ejemplo, en las fortalezas se confrontó la característica B (Contar con personal altamente calificado) con la C (Contar con la infraestructura adecuada), resultando de mayor importancia la fortaleza B. Así, se cuantificó cuál presentó mayor presencia y así se determinó jerárquicamente la más representativa.

## 1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El CDP-FAUSAC realiza diagnósticos de enfermedades causadas por hongos, bacterias, nemátodos, artrópodos y malezas, contando para ello con 4 laboratorios especializados, tanto en equipo como en personal calificado.
- Tomando en cuenta la información recabada a través de las matrices de jerarquización, la mayor fortaleza del CDP-FAUSAC es la total visión de servicio que representa, para todo usuario, seguido del personal altamente capacitado para realizar sus funciones, contando con instalaciones físicas adecuadas, equipo y materiales necesarios para su operatividad, con tarifas accesibles.
- Según su matriz de jerarquización, la debilidad que por consenso es la más importante es el riesgo que representa el cierre de las instalaciones de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por cualquier motivo, o la limitación del ingreso a las mismas, sin previo aviso, situaciones que alejan a los usuarios de solicitar los servicios de diagnóstico. En segundo plano está la falta de divulgación de los servicios que el CDP-FAUSAC ofrece, tanto por medios físicos como electrónicos (panfletos, afiches, página web, entre otros). Por último, se hace necesaria la adquisición del equipo específico para diagnóstico de virus, para completar el paquete que el CDP-FAUSAC ofrece.
- Se recomienda la capacitación constante del personal de apoyo del CDP-FAUSAC, para que preste un mejor servicio y amplíe las expectativas de la institución.
- Compilar todos los manuales de procedimientos del laboratorio, así como los protocolos específicos y manuales de buenas prácticas de laboratorio, e implementarlos en todas las especialidades.
- Involucrar en la actividad del CDP-FAUSAC a estudiantes que realizan el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), para fortalecer el equipo de trabajo y poder prestar un mejor y más oportuno servicio a los usuarios.



## 1.7 BIBLIOGRAFIA.

1. Barrera, A. 1996. Sistemas de Documentación para Laboratorios Farmacéuticos. Guatemala, Editorial Universitaria. 182 p.
2. FAO, IT. 2006. Normas internacionales para medidas fitosanitarias: directrices para vigilancia. Roma, Italia, FAO, Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. 11 p.
3. Streets, R. 1978. The diagnosis of plant diseases. US, The University of Arizona Press. 245 p.

**CAPITULO II: INVESTIGACIÓN. PROSPECCIÓN DE ENFERMEDADES DE RAÍCES Y TALLOS, INCITADAS POR OOMYCETOS DE LOS GÉNEROS *Pythium* Y *Phytophthora* EN EL CULTIVO DE FLORES DE CORTE, EN EL MUNICIPIO DE SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA.**

**AN EXPLORATION STUDY OF DISEASES ON ROOTS AND STEMS CAUSED BY OOMYCETES FROM *Pythium* AND *Phytophthora* GENERA ON CUT FLOWERS CROP IN SAN JUAN SACATEPEQUEZ, GUATEMALA.**

## 2.1 PRESENTACIÓN

En Guatemala, el cultivo de flores y plantas ornamentales es una fuente importante de empleo, dada la superficie cosechada y la producción obtenida, que, según el último Censo Agropecuario, para el año agrícola 2002/2003 fue de 575,272.72 kilogramos en 318 fincas dedicadas a esta actividad.

El municipio de San Juan Sacatepéquez, en el departamento de Guatemala, es reconocido como un productor importante de flores de corte. Actualmente hay varias comunidades en este municipio que se dedican formalmente a esta actividad, entre ellas están la Comunidad de Zet, Cruz Blanca, Loma Alta, Camino de San Pedro, Sajcavillá, Cruz Verde, Los Pajoques y El Pilar; comunidades en las cuales fue realizado el presente estudio.

La investigación tuvo como objetivo establecer la presencia de oomycetos causantes de enfermedades radiculares en especímenes ornamentales, crisantemo (*Chrysanthemum* sp.), lirio (*Lilium* sp.), rosa (*Rosa* sp.), clavel (*Dianthus* sp.) espárrago ornamental (*Asparagus plumosus*) y gladiola (*Gladiolus* sp.).

Se detectó la presencia de los dos géneros, *Pythium* y *Phytophthora*, específicamente las especies *Phytophthora tropicalis*, en rosa y clavel; *Pythium splendens* y *Pythium sylvaticum* en espárrago ornamental y *Pythium ultimum* en lirio y crisantemo.

En las pruebas de patogenicidad realizadas para lirio y crisantemo, se detectó *Pythium* sp. como agente responsable de los daños observados en el sistema radicular de estas especies ornamentales

La importancia de detectar la presencia de agentes fitopatógenos como *P. tropicalis* asociado al cultivo de rosa y clavel, radica en que no ha sido reportado aún en la región, pese al daño que provoca a los cultivares ya establecidos, por lo que este trabajo de investigación motiva a continuar generando información para que sea utilizada en planes de manejo específicos y oportunos.

## 2.2 MARCO CONCEPTUAL

### 2.2.1 Reino Stramenopiles o Chromista

En el Reino Chromista se ubican individuos unicelulares o multicelulares, filamentosos o coloniales, primariamente fototrópicos, algunos con apéndices flagelares en forma de tubo o con cloroplastos dentro del retículo endoplásmico, o ambos. Este reino incluye a las algas pardas, diatomeas, oomycetos y algunos otros individuos. (3)

Este Reino incluye a protistas con mitocondrias de crestas tubulares y con células cuyos flagelos presentan una especie de pelillos adosados llamados mastigonemas. Aquí se pueden encontrar las algas pardas y las diatomeas y algunos hongos, que en realidad descienden de algas que han perdido la clorofila. En general, las paredes celulares de estos seres no presentan quitina ni glucanos. (3)

Para una mejor visualización, se presenta la ubicación de *Pythium* y *Phytophthora*, desde el Reino hasta los géneros:

REINO	Cromista
GRUPO	Stramenopile o Heterokonta
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Peronosporales
GENEROS	<i>Pythium</i> y <i>Phytophthora</i> (5).

### 2.2.2 Phylum Oomycota

El término Oomycota se deriva de dos raíces griegas que significan huevo y hongo, refiriéndose a un organismo que se desarrolla como un hongo, con reproducción sexual a través de un oogonio. (10)

El Phylum Oomycota, perteneciente al reino Cromista, comprende más de 800 especies, las cuales no tienen pigmentos fotosintéticos, poseen dos flagelos en las zoosporas, los gametos masculinos poseen paredes formadas por celulosa o polímeros similares a celulosa y quitina y que tienen hábitos acuáticos y terrestres, aunque siempre necesitan la presencia de agua (10).

Por sus formas filamentosas parecidas a hifas, se agruparon originalmente como hongos. Los Oomycetes están más relacionados con las algas, dado que presentan meiosis en los gametangios, por lo tanto sus núcleos vegetativos son de naturaleza diploide. Son conocidos como organismos “heterokontes”, lo que significa que poseen flagelos en las zoosporas con longitud y ornamentación diferente. Los flagelos se presentan en pares, un flagelo largo y adornado con mastigonemas (pelos) distintivos (plumosos), y un flagelo más corto, delgado, cilíndrico y en forma de látigo o flecha (17).

Abarca organismos con zoosporas biflageladas. El contacto gametangial produce una oospora sexual con paredes resistentes, compuesta de pequeñas cantidades de hydroxyprolina y celulosa (3).

Como aspectos generales hay que decir que este filo engloba especies tanto saprófitas como parásitas, muy vinculadas al medio acuoso. Como parásitos actúan contra animales acuáticos y plantas. Presentan una gran importancia económica pues engloban a parásitos de plantas vasculares, muchas de ellas de interés agrícola. (3)

La clase Oomycete, donde se ubican *Pythium* y *Phytophthora*, incluye organismos acuáticos y mildius lanosos, posee un micelio no septado y elongado y produce las zoosporas en zoosporangios. Las oosporas o esporas sexuales son producidas por la unión de gametangios morfológicamente distintos llamados anteridios

(masculino) y oogonios (femeninos) (3). Esta clase posee 4 órdenes: Saprolegniales, Leptomitiales, Lagenidales y Peronosporales. (10)

El orden Peronosporales presenta un micelio bien desarrollado, cenocítico o no septado, ramificado. Los zoosporangios son ovales o en forma de limón. Los esporangios en muchas especies germinan produciendo zoosporas, pero en algunos ellos germinan directamente produciendo un tubo germinal (3).

La mayor parte de agentes fitopatógenos pertenecientes a los Oomycetes pertenecen a dos órdenes, Saprolegniales y Peronosporales. De Saprolegniales solamente un género, *Aphanomyces*, es de importancia en las plantas, causando enfermedades radiculares en muchas plantas anuales, particularmente en guisantes y en remolacha (3).

El orden Peronosporales incluye varios de los géneros más importantes de agentes fitopatógenos conocidos, ellos son *Pythium* y *Phytophthora* (3), que son los géneros que se estudiaron en este trabajo.

### 2.2.3 Género *Pythium*

El género *Pythium* fue creado por Pringsheim en 1858 a través de la descripción de *P. monospermum* Pringsh, actualmente se reconocen más de 120 especies del género (23). El género *Pythium* presenta características distintivas, y al ser un organismo acuático cuenta con estructuras muy bien desarrolladas que determinan su identificación. (23)

#### 2.2.3.1 Taxonomía

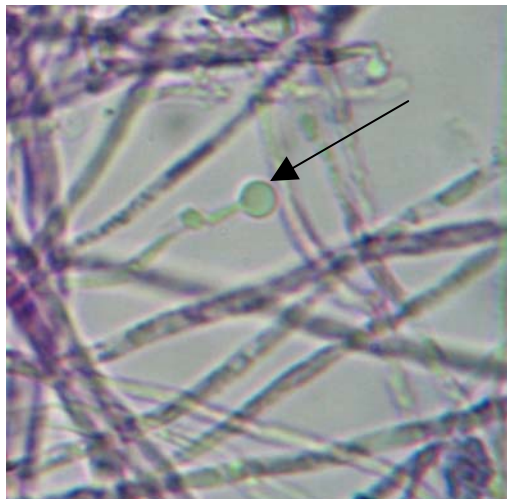
REINO	Cromista
GRUPO	Stramenopile
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae

ORDEN                      Peronosporales

GENERO                    *Pythium* (3)(10).

### 2.2.3.2 Morfología

Las hifas de *Pythium* son hialinas y tienden a ser de 5-7 micras de diámetro y ocasionalmente arriba de 10 micras y sin septos. Los esporangios son esporas asexuales producidos en diversidad de formas (filamentosas, filamentosas infladas, globosas y esféricas) y tamaños, dependiendo de las especies (23). El micelio da origen al esporangio, el cual germina directamente produciendo uno o varios tubos germinales o produciendo hifas cortas, al final de las cuales se forman estructuras esféricas, que son esporangios secundarios, llamados vesículas, como se observa señalada con la flecha negra en la figura 1. En la vesícula, 100 o más zoosporas son producidas, y germinan a través de un tubo germinativo. Este tubo usualmente penetra el tejido de la planta hospedera y empieza una nueva infección o produce otra vesícula con nuevas zoosporas (3).



**Figura 1:** Micelio y esporangio de *Pythium* sp. procedente de sustrato de crisantemo. Fuente: L. Reyes.

Los zoosporangios presentan formas de globoso a elíptico, usualmente papilado, con oosporas globosas y hialinas (25).

El micelio también puede dar paso a oogonios y anteridios, éste último produce un tubo de fertilización, el cual entra al oogonio, formando un cigoto. El oogonio fertilizado produce una dura y densa pared, y es entonces cuando se le denomina oospora (3).

Las oosporas pueden diferenciarse por tamaño, paredes endurecidas, su condición de plerótica o applerótica (según esté o no lleno el oogonio), número, origen y morfología del anteridio y si la superficie del oogonio es lisa o rugosa. (23).

Para las especies que no producen zoosporas, las estructuras asexuales son definidas como conidias o hinchazones hifales, que en su momento también pueden producir zoosporas, como un zoosporangio (23).

#### 2.2.3.3 Síntomas ocasionados por *Pythium*.

*Pythium* es un parásito facultativo, es decir, que puede desarrollarse en muchos individuos, materia orgánica, incluyendo medios de cultivo selectivos. Las especies de *Pythium* se desarrollan en aguas superficiales y suelos de todo el mundo. Ellas viven en plantas muertas y en restos animales como saprofitas o como parásitas de raíces fibrosas de plantas. El patógeno necesita de agua corriente para que las zoosporas naden e infecten otras plantas. Cuando un sustrato húmedo está infectado por *Pythium*, cualquier semilla o plántula joven está expuesta al ataque de este fitopatógeno. (3)

Es uno de los responsables más comunes de pudrición en semillas, decaimiento en semilleros o almácigos (damping-off), y pudrición de raíces en muchas plantas de importancia, así como ablandamiento en tallos y frutos que están en contacto con el suelo. Estos síntomas en las plantas ocurre en todo el mundo, en valles, bosques, en el trópico y en temperaturas templadas, incluyendo invernaderos. La enfermedad afecta semillas, semilleros y raíces de plantas. Sus efectos varían considerablemente por la humedad del suelo y por la temperatura, entre otros factores. Muy frecuentemente, los semilleros son completamente destruidos por damping-off o las



plántulas mueren prematuramente después de ser trasplantadas. Las plantas adultas desarrollan lesiones en la raíz y el tallo y pudriciones de raíz, su crecimiento se ve retrasado y las cosechas reducidas considerablemente. (3)

Cuando las semillas o plantas susceptibles son sembradas en sustratos contaminados y son atacadas por estos patógenos, no hay germinación, se tornan suaves y cremosas y de color marrón y finalmente se desintegran. (3)

Las semillas que han logrado emerger, por otra parte, son usualmente atacadas en su sistema radicular o en la base del tallo. Las áreas invadidas se tornan acuosas y sin color y pronto colapsan. La base del tallo se torna muy suave y muy delgada, y como resultado, la planta se dobla hacia abajo. *Pythium*, al entrar en contacto con el tejido vegetal secreta enzimas pectolíticas y proteolíticas, para posteriormente invadir el tejido en forma intra e intercelular. Finalmente, semillas y plántulas mueren, convirtiéndose en una masa de raíces y tejidos. Cuando el daño es a nivel de la base del tallo, el daño avanza hasta hacer caer la plántula y morir. (3)

Cuando la infección ocurre al estar la planta ya desarrollada, con las paredes ya endurecidas y células lignificadas, el avance del patógeno es frenado en el punto de infección, y solo desarrolla una lesión menor. Las raíces de las plantas pueden ser afectadas en cualquier etapa del desarrollo de la planta. El patógeno ingresa por las raicillas y las colapsa. En raíces principales, el daño es a nivel superficial. (3)

*Pythium* puede infectar frutos carnosos y otros órganos en el campo, en almacenamiento, en tránsito y en el mercado. Las infecciones inician cuando hay contacto del fruto con suelo húmedo infectado con el oomyceto o con otro fruto contaminado. (3)

Las enfermedades y pérdidas causadas por *Pythium* son más severas cuando el suelo se encuentra saturado con agua por períodos prolongados, cuando la temperatura es desfavorable para la planta, cuando hay exceso de nitrógeno en el suelo o por el monocultivismo prolongado. (3)

### 2.2.4 Género *Phytophthora*

El nombre *Phytophthora* significa destructor de plantas, y por una buena razón. Las especies de *Phytophthora* son causantes de variedad de enfermedades devastadoras en muchas variedades de plantas, desde semilleros de vegetales anuales y ornamentales hasta especies arbóreas y frutales. La especie más investigada es *P. infestans*, causante del tizón tardío en papa y tomate, aunque causa enfermedades extremadamente destructivas en otros hospederos. (3)

Más de 80 especies de *Phytophthora* han sido descritas como patógenas en plantas desde de Bary (1876), quien estableció el género con *P. infestans*. (23)

#### 2.2.4.1 Taxonomía

REINO	Cromista
GRUPO	Stramenopile
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Peronosporales
GENERO	<i>Phytophthora</i> (3)(10)

#### 2.2.4.2 Morfología

Las características comunes en especies de *Phytophthora* incluyen hifas no septadas con constricciones delgadas en la base del ángulo recto de las ramificaciones, sus esporangios son ovoides de piriforme a limoniforme, producidas en sucesión, con

zoosporas biflageladas laterales dentro del esporangio; con oogonio globoso y con oosporas esféricas e individuales. (23)

El micelio de *Phytophthora* produce esporangióforos ramificados que generan esporangios en forma de limón, con una vesícula en el extremo. (Ver figura 2). En los puntos en donde se generan , los esporangióforos forman inflamaciones, y ésta es una característica distintiva de este oomyceto. La germinación de los esporangios produce de 3 a 8 zoosporas a temperaturas arriba de 12 o 15 °C, y sobre los 15° C los esporangios germinan directamente produciendo un tubo germinal. (8)



**Figura 2:** Micelio y esporangio de *Phytophthora* sp. procedente de *Pothos* sp.  
Fuente: L. Reyes.

En algunos casos, como *P. infestans*, los oomycetos requieren de dos tipos compatibles para la reproducción sexual, o “mating types”. Hasta finales de los años 1980 solamente un tipo compatible estaba presente en países fuera de México. Desde entonces, ambos tipos compatibles se han distribuido ampliamente, y como resultado, nuevas líneas del patógeno han aparecido. Algunas de las nuevas líneas son mucho más agresivas que las anteriores, y las han suplantado. Cuando dos tipos compatibles crecen adyacentes, la hifa femenina crece a través del joven anteridio (o célula reproductiva masculina) y desarrolla un globoso oogonio (o célula reproductiva

femenina). Entonces el anteridio fertiliza al oogonio, el cual se convierte en una oospora dura y de paredes engrosadas. Las oosporas germinan a través de un tubo germinal que produce un esporangio, aunque a veces el tubo germinal crece directamente en el micelio. (3)

Para identificar las especies de *Phytophthora* se reconocen algunos parámetros, que han llevado a reunirlos en 6 grupos. Estos parámetros fueron: presencia o no de endurecimientos apicales del esporangio y el grosor del poro de salida; si el esporangio es caduco o no y el largo del pedicelo, así como el lugar de origen del anteridio y del oogonio (anfígeno o paragino), tipo de papilación del esporangio y el arreglo de órganos sexuales y más recientemente la introducción de especies marinas. (24)

Otros aspectos tomados en cuenta fueron el tamaño del esporangio y la relación entre longitud y ancho, el tamaño del oogonio, características de la pared de la oospora, presencia de inflamaciones hifales en agua, presencia de clamidosporas, patogenicidad en algunas especies definidas, y crecimiento a varias temperaturas. (24)

Para la correcta identificación de *Phytophthora sp.*, se han definido seis grupos:

#### Grupo 1

Los esporangios son papilados, el endurecimiento apical es hialino y hemisférico, además de ser muy abundantes en sustratos sólidos y usualmente caducos. Oosporas formadas en el hospedero y en medio selectivo; anteridios paraginos. (24)

#### Grupo 2

Los esporangios son papilados, el endurecimiento apical similar al grupo 1, las oosporas no están a menudo presentes en medio de cultivo, a menos que haya tipos A1 y A2 presentes. Anteridios anfígenos. (24)

### Grupo 3

Esporangios semipapilados, y el borde apical más inflamado que en los grupos 1 y 2, además de no estar tan hemisféricos. El esporangio puede o no ser caduco. Las oosporas están siempre presentes en tejido del hospedero y en medios de cultivo. Anteridios predominantemente paragino. (24)

### Grupo 4

Esporangios semipapilados con endurecimientos apicales más inflamados que 1 y 2. Esporangio generalmente caduco. Nuevos esporangios no proliferan internamente y no forman oosporas en medio de cultivo, a menos que estén los tipos A1 y A2 presentes. Anteridios predominantemente anfígenos. (24)

### Grupo 5

Esporangios no papilados, sin protuberancias de ningún tipo, engrosamiento apical muy delgado, poro de salida amplio, esporangios no caducos, nunca o muy rara vez producidos en medio de cultivo, pero sí en medios acuosos o soluciones salinas. Oosporas producidas tanto en tejido como en medio de cultivo, anteridios paraginos. (24)

### Grupo 6

Esporangios no papilados como el grupo 5. Esporangios que proliferan dentro y fuera del tejido hospedero. Oosporas no siempre producidas en medio de cultivo y a menudo se dan apareamientos si existen los tipos A1 y A2. Anteridios anfígenos. (24)

#### 2.2.4.3 Síntomas ocasionados por *Phytophthora*.

Varias especies de *Phytophthora* están relacionadas con daños causados a raíces, damping-off en almácigos y pudriciones en la base de los tallos y tubérculos. Otras causan pudriciones en brotes o frutos, y daños en el follaje, ramas jóvenes y frutos.

Algunas especies son específicas a un grupo de hospederos y otras son omnívoras y afectan a un rango muy amplio de especies de plantas. Entre estas podemos mencionar *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cinnamoni*, *P. citrophthora*, etc., que causan pudriciones en raíces y base del tallo, otras producen tumores, pudriciones en frutales, ornamentales, etc. (3)

Las pérdidas causadas por las pudriciones de raíces y tallos son considerables, especialmente en árboles y arbustos. En muchos casos, sin embargo, el patógeno no es detectado ni identificado a tiempo. Las plantas infectadas muestran al principio síntomas de marchitez y deficiencia de nutrientes, las que se debilitan y quedan expuestas al ataque de otros patógenos. (3)

Estos daños pueden observarse en cualquier parte del planeta en donde el suelo pueda inundarse y se mantengan temperaturas entre los 15 y 23 ° C.

Plantas anuales y plántulas de árboles pueden morir por estas enfermedades en unos cuantos días, semanas o meses. En algunos casos, este oomiceto causa daños parciales o totales a los frutos en pimientos, cucurbitáceas, tomate, fresa, cítricos, cacao, aguacate, entre otras. (3)

En árboles adultos, la muerte de raíces puede ser rápida o lenta, dependiendo de la densidad del inóculo presente en el suelo y de las condiciones ambientales. Como resultado muestran escaso follaje, amarillamiento, escaso desarrollo y muerte de ramas. Pueden presentar pudriciones en forma de anillo, pudrición en la base del tallo y pudrición de raíces y tallos, el crecimiento se retrasa y finalmente mueren. (3)

En todos los hospederos afectados por *Phytophthora* que presentan pudrición de raíces, muchas de las raicillas están muertas mientras que las raíces primarias muestran lesiones necróticas oscuras. En árboles, el área infectada y oscura puede convertirse en una llaga y de allí dispersarse en toda la planta. (3)

*Phytophthora* es capaz de sobrevivir en situaciones adversas a través de oosporas, clamidosporas y micelio en el tejido de plantas. En condiciones propicias al desarrollo, estos patógenos germinan y producen zoosporas. Las zoosporas nadan en el suelo saturado y llegan a las raíces de las plantas. (3)

Los síntomas en el campo inician con manchas de salpicadura en las hojas bajas. En climas húmedos, las manchas se agrandan y forman lesiones de color marrón. Se da el crecimiento de micelio lanoso de 3-5 mm. Si el clima húmedo persiste, colapsan las raíces, tallos y en días o a lo sumo semanas, la planta muere. En clima seco, la enfermedad se frena o se detiene, pero el patógeno se encuentra latente. (3)

Al afectar tubérculos, los vuelve acuosos y suaves, púrpuras o marrones, y la pudrición continúa aún después de cosechado. Otros agentes pueden aparecer, como hongos secundarios y bacterias, causando un olor ofensivo (3).

## **2.2.5 Cultivo de la rosa y Oomycetos asociados**

### **2.2.5.1 Origen**

La rosa era considerada como símbolo de belleza por babilonios, sirios, egipcios, romanos y griegos. Aproximadamente 200 especies botánicas de rosas son nativas del hemisferio norte, aunque no se conoce la cantidad real debido a la existencia de poblaciones híbridas en estado silvestre. (12)

Las primeras rosas cultivadas eran de floración estival, hasta que posteriores trabajos de selección y mejora realizados en oriente sobre algunas especies, fundamentalmente *Rosa gigantea* y *R. chinensis* dieron como resultado la "rosa de té" de carácter refloreciente. Esta rosa fue introducida en occidente en el año 1793 sirviendo de base a numerosos híbridos creados desde esta fecha (12).

### 2.2.5.2 Taxonomía y morfología

Pertenece a la familia *Rosaceae*, cuyo nombre científico es *Rosa* sp. Actualmente, las variedades comerciales de rosa son híbridos de especies de rosa desaparecidas. Para flor cortada se utilizan los tipos de té híbrida y en menor medida los de floribunda. Los primeros presentan largos tallos y atractivas flores dispuestas individualmente o con algunos capullos laterales, de tamaño mediano o grande y numerosos pétalos que forman un cono central visible. (12)

Los rosales floribunda presentan flores en racimos, de las cuales algunas pueden abrirse simultáneamente. Las flores se presentan en una amplia gama de colores: rojo, blanco, rosa, amarillo, lavanda, etc., con diversos matices y sombras. Éstas nacen en tallos espinosos y verticales. (12)

### 2.2.5.3 Importancia económica y distribución geográfica

Las flores más vendidas en el mundo son, en primer lugar, las rosas seguidas por los crisantemos, tercero los tulipanes, cuarto los claveles y en quinto lugar los liliium. Ninguna flor ornamental ha sido y es tan estimada como la rosa. A partir de la década de los 90 su liderazgo se ha consolidado debido principalmente a una mejora de las variedades, ampliación de la oferta durante todo el año y a su creciente demanda. (12)

Sus principales mercados de consumo son Europa, donde figura Alemania en cabeza, Estados Unidos y Japón. Se trata de un cultivo muy especializado que ocupa 1.000 ha de invernadero en Italia, 920 ha en Holanda, 540 ha en Francia, 250 en España, 220 en Israel y 200 ha en Alemania. Los países Sudamericanos han incrementado en los últimos años su producción, destacando, México, Colombia (cerca de 1.000 ha) y Ecuador. La producción se desarrolla igualmente en África del Este: Zimbabwe con 200 ha y Kenia con 175 ha. En Japón, primer mercado de consumo en Asia, la superficie destinada al cultivo de rosas va en aumento y en la India, se cultivan en la actualidad 100 ha (12).



#### 2.2.5.4 Oomycetos asociados al cultivo de rosa.

En rosa, ya desde 1988, han sido reportados daños ocasionados por *Phytophthora* sp., siendo la sintomatología particular la pudrición de raíces y base del tallo, así como amarillamiento foliar y defoliación de hojas bajas, seguido de reducción en el crecimiento de la planta, clorosis y enanismo en hojas más jóvenes. (16)

Sin embargo, la especie de *Phytophthora* que más frecuentemente se reporta en rosa es *P. ramorum*, agente que es sujeto de cuarentena en muchos países importadores de rosas. (19)

### 2.2.6 Cultivo del crisantemo y Oomycetos asociados

#### 2.2.6.1 Origen

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. Todavía es utilizado en ceremonias y la flor es el símbolo de una vida larga. Contrariamente a lo que piensa mucha gente, la esfera en la bandera japonesa no representa el sol naciente sino el corazón de un crisantemo despojado de sus pétalos. Fue introducido en Europa a través de Francia en el último tercio del siglo XVIII. Los primeros cultivos en España coinciden con el inicio del siglo XIX. El crisantemo que actualmente cultivan los floricultores es un híbrido complejo y la mayoría de las especies de donde se han generado los cultivares actuales son originarias de China: *Chrysanthemum indicum*, *Chrysanthemum morifolium* y *Chrysanthemum x hortorum*. El crisantemo en maceta es denominado *Dedranthema* (14).

#### 2.2.6.2 Taxonomía y morfología

El género *Chrysanthemum* pertenece a la familia *Asteraceae* y engloba flores de las más antiguas cultivadas. Las hojas pueden ser lobuladas o dentadas, ligulosas o

rugosas, de color variable entre el verde claro y oscuro, recubiertas de un polvillo blanquecino que le da un aspecto grisáceo y casi siempre aromáticas. Lo que se conoce como flor es realmente una inflorescencia en capítulo. Existen diversos tipos de capítulo cultivados comercialmente, aunque, en general, esta inflorescencia está formada por dos tipos de flores: femeninas (radiales; se corresponden con la hilera exterior en las margaritas) y hermafroditas (concéntricas; se corresponden con las centrales). El receptáculo es plano o convexo y está rodeado de una envoltura de brácteas. (14)

Según su forma las inflorescencias se pueden clasificar en:

- Sencillas: tipo margarita. Compuestas de una o dos hileras de flores radiales y con flores hermafroditas centrales.
- Anémonas: similares a las sencillas, pero con flores concéntricas tubulares y alargadas. El color de las flores radiales y concéntricas puede ser el mismo o no.
- Araña, pluma, cuchara, hirsuta, etc.: las flores radiales se curvan y son tubulares, excepto en el caso de la cuchara.
- Pompones: en forma globular, constituidos por flores radiales cortas y uniformes. No presenta flores concéntricas (14).

#### 2.2.6.3 Importancia económica y distribución geográfica

El crisantemo es una de las especies ornamentales más cultivadas de todo el mundo. La producción es importante en varios países europeos, como los Países Bajos, Gran Bretaña y Francia; así como en Colombia, Estados Unidos y Canadá donde desde hace mucho tiempo es un cultivo industrializado y en Japón la flor del crisantemo alcanza un valor simbólico. En Europa central, Japón y Estados Unidos ha tenido siempre una gran demanda por lo que los trabajos de mejora genética son importantes y han dado lugar a numerosos cultivares con formas y colores. Después de la rosa, el crisantemo sigue siendo la flor cortada más vendida en las subastas holandesas de flores. El blanco es el color más vendido con una participación en el mercado del 40%; tiene que ver con el hecho de que los crisantemos blancos se

prestan mejor para pintarse, lo que ahora se hace con colorantes ecológicos de la industria alimenticia. En segundo lugar están los crisantemos amarillos (31%), seguidos de los violetas (11%).

La actividad productiva había sido muy estacional, prácticamente reducida a la festividad de Todos los Santos. Sin embargo, desde la diversificación de muchas formas hortícolas, el crisantemo puede actualmente ser comercializado casi todo el año como flor cortada y como planta ornamental en maceta. El sistema de producción programada a lo largo del año con cultivares multiflora ha sufrido un gran incremento en los últimos años. Para planta ornamental en maceta hay un gran aumento en la producción y demanda en formato de bola. (14)

El número de colores y formas de flor del crisantemo de maceta sigue aumentando. Los seleccionadores holandeses ensayan, en pruebas de surtido y a gran escala, la calidad del crisantemo de maceta. Por eso se han lanzado nuevas variedades al mercado que se conservan mejor. Las variedades se comercializan más por el nombre; sin embargo la mayoría del surtido se ofrece aún mezclada. Uno de los cultivares más importante es "Vymini", un crisantemo de maceta amarillo con corazón negro y "Ringert", con corazón rojo. La mayoría de las variedades son aptas para el uso en jardineras de balcón y florecen por lo menos durante tres semanas (14).

#### 2.2.6.4 Oomycetos asociados a crisantemo.

Entre las especies reportadas para crisantemo, se encuentran varias especies de *Pythium* y *Phytophthora*. Según Crop Protection Compendium 2007, se han reportado a *Phytophthora cryptogea* y *Pythium splendens*, produciendo pudriciones a nivel de raíz y base del tallo (5).

### 2.2.7 Cultivo del clavel y Oomycetos asociados

#### 2.2.7.1 Origen

El clavel es originario de la cuenca mediterránea. Anteriormente sólo existía el clavel silvestre, que tras multitud de hibridaciones y procesos de selección se ha

convertido en la variedad actual. Los primeros claveles adaptados a la producción de flor cortada fueron seleccionados en Lyon alrededor del año 1845. A partir de 1942, William Sim, obtuvo por hibridaciones y selecciones una serie de claveles que llevan su nombre "Clavel Sim o Clavel Americano", que han dado origen al espectacular desarrollo de la producción en invernadero y bajo túneles (5).

#### 2.2.7.2 Taxonomía y morfología

El clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) pertenece a la familia *Cariophyllaceae* y al género *Dianthus* (5).

#### 2.2.7.3 Importancia económica y distribución geográfica

Los claveles estándar y miniatura, son una de las más importantes flores de corte en el comercio mundial. Además, debido a su fácil y rápida multiplicación, el clavel es objeto de un importante comercio internacional de esquejes.

Estados Unidos es el mayor mercado de clavel del mundo y en la actualidad Colombia, con más de 4.000 hectáreas dedicadas a este cultivo, es el principal proveedor y el principal productor mundial de clavel estándar. En el mercado de las importaciones norteamericanas a Colombia le siguen Ecuador y Guatemala, siendo también representativas las importaciones de Marruecos y España sobre todo en miniclavel o clavelina, también hay que destacar la incorporación de nuevos países, en lo que a importaciones se refiere como Costa Rica y Kenya, solo con variedades minis. En España se prevé una estabilización o ligero descenso de la producción debido a la diversificación de especies y a la competencia de países con mano de obra más barata. Holanda es el principal comercializador y distribuidor de clavel en Europa, destacando en los últimos años un descenso de las zonas de cultivo destinadas al clavel y la distribución de sus exportaciones (5).

#### 2.2.7.4 Oomycetos asociados con clavel

Se han reportado pudriciones a nivel de raíz y base del tallo provocadas por *Phytophthora cryptogea*, *P. megasperma*, *P. capsici*, *P. porri*, *Pythium aphanidermatum* y *P. irregulare* (27).

#### 2.2.7.4 Oomycetos asociados con clavel

Se han reportado pudriciones a nivel de raíz y base del tallo provocadas por *Phytophthora cryptogea*, *P. megasperma*, *P. capsici*, *P. porri*, *Pythium aphanidermatum* y *P. irregulare* (27).

### 2.2.8 Cultivo del lirio y Oomycetos asociados

#### 2.2.8.1 Origen

Se trata de una planta herbácea perenne con bulbos escamosos, llamada comúnmente azucena híbrida. El género *Lilium* comprende unas 100 especies distribuidas por las regiones templadas del hemisferio boreal; una docena de ellas son nativas de Europa y dos en América del Norte, mientras que 50-60 especies se encuentran en Asia (13).

#### 2.2.8.2 Taxonomía y morfología

-Familia: *Liliaceae*

-Género: *Lilium*

-Subgéneros: *Cardiocrinum*, *Eulirion* y *Liliocharis*.

-Especies: Las especies del género *Lilium* son alrededor de un centenar, y un gran número de ellas se cultivan para flor cortada o para planta en maceta o de jardín. Las más interesantes son *L. longiflorum*, de flores blancas y los híbridos producidos por cruzamientos entre varias especies, principalmente *L. speciosum* y *L. aurantum*, con llamativos colores que van del rojo al amarillo. (13)

#### 2.2.8.3 Importancia económica y distribución geográfica

Las flores más vendidas en el mundo son, en primer lugar, las rosas seguidas por los crisantemos, tercero los tulipanes, cuarto los claveles y en quinto lugar los *Lilium*. Esta es una flor muy apreciada por el consumidor, lo que asegura su demanda en el mercado, en el que hay competencia entre diferentes países. Son muy utilizadas

para arreglos y en los jardines. Holanda posee el monopolio de la producción de bulbos (3.500 ha), que se desarrollan, por otra parte hay también producciones de bulbos en Japón, en Estados Unidos y en Francia en las Landas. En cuanto a la producción para flor cortada, representa 20 ha en Holanda y más de 80 ha en Francia y en Italia. Los principales proveedores de la Unión Europea son: Israel, Kenia y Colombia; siendo el liliun la flor más exportada durante el año 2001. (13)

Las producciones exportables de Colombia y Costa Rica se han orientado hacia especies más caras y de mejor calidad, siendo el liliun una de las más cotizadas. Uno de los países en incrementar su cultivo es Chile, las ventas al exterior se realizan durante todo el año, aunque el 55% del volumen exportado se concentra entre diciembre y febrero. La velocidad de expansión de este cultivo está condicionada por el precio de los bulbos. Este precio, en general, se puede considerar alto, lo que constituye un freno al incremento de la superficie cultivada. (13)

A pesar del condicionamiento anterior, la gran aceptación por el público de esta flor y su buena cotización en los mercados, ha llevado a que en los últimos 10 años se haya triplicado su superficie de cultivo (13).

#### 2.2.8.4 Oomycetos asociados con lirio.

Patógenos como *Phytophthora parasitica* y *P. nicotianae*, han sido reportadas como causantes de una mancha de color malva oscuro en la base del tallo, que se va extendiendo hacia arriba, amarilleando las hojas inferiores. También produce manchas marrones en el tallo, que se quiebra con facilidad.

En el caso de *Pythium ultimum*, produce la pudrición de raíces con manchas marrones claras. Cuando el ataque es leve tiene lugar un retraso en el crecimiento, pero cuando es grave se ve afectada toda la planta, incluso los botones florales que se secan y caen. Adicionalmente, han sido reportadas *P. cactorum* y *P. capsici*, como patógenos en dicho cultivo (5).

## 2.2.9 Cultivo del gladiolo y Oomycetos asociados

### 2.2.9.1 Origen

El gladiolo es originario de la cuenca mediterránea y de África austral. Ya se cultivaba en la época de los griegos y de los romanos.

Comprende 180 especies nativas de África, Madagascar, Europa, Arabia y oeste de Asia, donde el gladiolo crece espontáneamente; aunque la mayor parte son de origen africano. (15)

*Gladiolus* es el diminutivo de “*gladius*”, que significaba "espada", por un lado se refiere a la forma de la hoja que es lanceolada terminando en punta y también al hecho de que la flor en la época de los romanos era entregada a los gladiadores que triunfaban en la batalla; por eso, la flor es el símbolo de la victoria. (15)

Los cultivares hortícolas del gladiolo se han obtenido desde comienzos del siglo XIX por cruzamientos entre diversas especies botánicas. Presentan gran diversidad de tamaños, colores y forma de las flores así como de épocas de floración (15).

### 2.2.9.2 Importancia económica y distribución geográfica

El cultivo de cormos de gladiolos es muy importante en Francia (más de 200 hectáreas) y Holanda cuenta aproximadamente con 1.400 hectáreas. Los cormos son importados principalmente desde Holanda, aunque en los últimos años también es un gran productor de cormos Brasil. (15)

El cultivo de la flor cortada del gladiolo ocupa en Francia más de 400 hectáreas. Debido al desarrollo tecnológico holandés en cuanto a la conservación de los cormos es posible su suministro en cualquier época del año. Este hecho, junto con una buena demanda de esta flor, el relativamente bajo precio del corno y la corta duración del cultivo han fomentado su gran expansión. (15)

En España, después del clavel y la rosa, es la flor más cultivada, en los últimos cinco años la superficie destinada a este cultivo se ha incrementado en un 30% debido al aumento en las zonas tradicionales y a la expansión de otras nuevas.

### 2.2.9.3 Taxonomía y morfología

Los gladiolos (*Gladiolus x hybridus*, *G. x hortulanus*, *G. x grandiflorus*) pertenecen a la familia Iridaceae, siendo plantas herbáceas que se desarrollan a partir de un tallo subterráneo llamado cormo (15).

Los gladiolos se caracterizan por su inflorescencia en espiga y sus cormos de renovación anual, que durante el curso de la vegetación dan lugar a multitud de "bulbillos"(15).

### 2.2.9.4 Oomycetos asociados a gladiolo.

Para el gladiolo han sido reportados *Phytophthora criptogea* y *P. porri*, asociados a daños al sistema radicular y base del tallo de la planta (5).

## 2.2.10 Cultivo del espárrago ornamental y Oomycetos asociados

### 2.2.10.1 Origen y Taxonomía.

El *Asparagus plumosus* pertenece a la familia Liliaceae/Asparagaceae y es originaria de África del Sur. Se le conoce también como espárrago fino o helecho plumoso. Es una herbácea monocotiledónea perenne y trepadora que se desarrolla principalmente en zonas subtropicales y templadas, siendo frecuentemente confundida con helecho. Especie dioica de raíces tuberosas y tallos verticales de aproximadamente 1 cm de diámetro, que llegan a los 5 m de altura. (1)

### 2.2.10.2 Morfología

Durante mucho tiempo se usó como follaje, pero actualmente ha caído un tanto en desuso, sin embargo aún se cultiva en jardines tanto interiores como exteriores, en maceta o suelo directo, con buen resultado ornamental.

De cladodios (ramas que asumen la función de hojas) filiformes dispuestos en distintos niveles en forma horizontal, las verdaderas hojas están reducidas a espinas. Posee flores muy pequeñas, solitarias o en ramos de dos a tres, blancas o blanco-amarillentas con algo de aroma, con 6 tépalos formando estrella. Fruto en baya, esférica roja al



madurar, conteniendo semillas esféricas negras. Florece en verano pudiendo continuar hasta principios de otoño. Ama la luz, pero no el sol directo, por lo cual la ubicación ideal es aquella en que reciba luz brillante filtrada. Admite sombra; de hecho es preferible ubicarla a la sombra antes que en el sol pleno, que hará amarillar su follaje. Tolera hasta 0°C de temperatura, pero no tolera heladas prolongadas. (1)

Se desarrolla mejor en suelo fértil, con buen drenaje, aceptando un pH de neutro a levemente ácido, mientras que el suelo alcalino le produce clorosis. Una buena mezcla de sustrato es turba, humus y arena en partes iguales.

Durante el verano es conveniente mantener su suelo levemente húmedo mediante riegos cortos pero frecuentes, y en época fría disminuir los riegos en cantidad y en frecuencia. Tolera más la escasez de agua que el exceso. (1)

Se multiplica por semillas en otoño, las que previamente se ponen a remojo en agua tibia (30°C) por 24 horas, sembrándolas en sustrato de partes iguales de humus y arena, con una temperatura promedio de 18°C. También por división de mata en primavera. Cuando se cultiva en maceta, sus tubérculos la llenarán en pocos años, al hacer el cambio de recipiente se puede aprovechar a multiplicar por división de tubérculos. (1)

#### 2.2.10.3 Oomycetos asociados con Espárrago Ornamental.

Se han reportado diversas especies de *Pythium* que causan problema en el desarrollo de este follaje ornamental. (2)

## 2.3 OBJETIVOS

### General

Establecer la presencia, distribución e incidencia de especies de *Pythium* y *Phytophthora* asociados a flores de corte, en el municipio de San Juan Sacatepéquez, Guatemala.

### Específicos

-Establecer la patogenicidad de los especímenes de *Pythium* aislados durante el estudio.

-Generar un protocolo para muestreo, aislamiento y conservación de especímenes de *Pythium* y *Phytophthora*.

-Establecer un protocolo de pruebas de patogenicidad para el género *Pythium*

## 2.4 METODOLOGIA

### 2.4.1 Descripción del muestreo

Para determinar la presencia de agentes fitopatógenos en un área determinada, se utilizaron mecanismos similares a los empleados para vigilancias fitosanitarias, análisis de riesgo de plagas y áreas libres de plagas. Esto es, empleando muestreos dirigidos, con el respaldo de fuentes que verificaron la información de la presencia de determinada enfermedad o sintomatología. (9).

Las áreas de muestreo fueron seleccionadas a partir de la información obtenida en ASOFLORSA (Asociación de Floricultores de San Juan), en donde se estableció que este grupo cuenta con 200 miembros asociados en todo el municipio.

El muestreo dirigido se inició con una inspección visual, búsqueda de signos o síntomas antes mencionados por medio de los cuales el daño pudo ser reconocido, y la recolección de la planta completa y suelo de la misma. (9)

Para obtener el tamaño de muestra, se empleó la fórmula siguiente:

$$n = \frac{NZ^2_{\alpha/2} pq}{Nd^2 + Z^2_{\alpha/2} pq}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

N = población

$Z_{\alpha/2}$  = valor tabular

p = probabilidad de éxito.

q = probabilidad de fracaso.

d = precisión expresada en porcentaje.

$$n = \frac{NZ^2_{\alpha/2} pq}{Nd^2 + Z^2_{\alpha/2} pq} = \frac{200(1.96)^2(0.5)(0.5)}{200(0.1)^2 + (1.96)^2(0.5)(0.5)} = 65$$

El número de muestras fue de 65, distribuyéndose en las plantaciones e invernaderos de los socios de ASOFLORESA , en las comunidades de mayor producción de flores: 6 en Comunidad de Zet, 11 en Sajcavillá, 14 en Camino de San Pedro, 8 en Loma Alta, 3 en Los Guamuches, 3 en El Pilar 1, 3 en El Pilar 2, 4 en Santa Fe Ocaña, 4 en Pacajay, 2 en Cruz Blanca, 3 en Cruz Verde y 4 en Los Pajoques.

#### **2.4.2 Toma de muestra**

Para efectuar la toma de muestra se utilizaron palines, machetes, tijeras de podar, navaja, bisturí, así como bolsas de polietileno para empacar las plantas y etiquetas para identificarlas; además de una hielera para la conservación de las mismas durante el traslado al laboratorio.

Por tratarse de enfermedades localizadas en el sistema radical y partes basales del tallo, se tomó la muestra de toda la planta, incluyendo rizósfera y el suelo adyacente a una profundidad no menor de 10 cm. En el caso de semilleros y plántulas de vivero, se colectaron completas así como el substrato donde se desarrollan. En plantas en macetas, se trasladaron completas para su proceso.

Las muestras fueron colectadas e introducidas a bolsas de polietileno o papel de aluminio, identificadas correctamente y colocadas en una hielera.

Se tomaron fotografías en el lugar del muestreo para obtener la mayor cantidad de información. Se registraron las coordenadas de cada uno de los sitios de colecta, para crear un registro georeferenciado de la presencia de cada una de las especies colectadas.

El período de muestreo comprendió los meses de febrero a diciembre, y la mayor incidencia de la presencia de los Oomycetes es en la época lluviosa, sin embargo, por las características climáticas y debido a que algunos cultivos se producen bajo invernadero y con riego, se observan síntomas en época seca. Con los datos obtenidos se llenó una ficha tipo encuesta, por área muestreada, como herramienta para recopilar información. (Ver Apéndice 1)

### **2.4.3 Fase de laboratorio**

#### 2.4.3.1 Procesamiento de las muestras

##### **a) Suelo**

1. Se separa la raíz del suelo sobre papel periódico inmediatamente que ingresa la muestra al laboratorio, se obtienen las raicillas y se separan.
2. Una vez separado el suelo de la raíz, éste se reserva en una bolsa plástica, debidamente identificada con los datos procedentes del campo, para posteriormente extraer *Phytophthora* y *Pythium*.

##### **b) Tejidos vegetales (raíces y tallos)**

1. Se lavan las plantas primero con agua corriente y luego con agua destilada, con el fin de eliminar completamente cualquier residuo de suelo que se encuentre en las raíces.
2. Se deja secar sobre papel absorbente por 30 minutos, para posteriormente extraer *Phytophthora* y *Pythium*.

### 2.4.3.2 Técnicas de aislamiento de *Pythium* y *Phytophthora*

#### A. A partir de suelo

##### a) Técnica del cultivo trampa. (Técnica de la manzana)

La fruta utilizada para hacer el aislamiento de *Pythium* y *Phytophthora* fue manzana verde o amarilla según la técnica propuesta por Erwin y Ribeiro:

1. Se utilizan frutas de manzana verde maduras .
2. Se lavan con agua corriente y desinfectan con alcohol al 70%.
3. Con un sacabocados a cada fruta se le hacen de 3 a 4 perforaciones, (1x1 cm.) y con una profundidad de 1.5 cm, sin desechar las porciones de fruta retirada.  
En la Figura 4 se muestra cómo se realizan las perforaciones.



**Figura 3:** Perforado de la fruta con sacabocados para inocular cada muestra. Fuente: L Reyes.

4. En cada una de las perforaciones se introducen 5 g de suelo de cada una de las muestras colectadas, como lo muestra la figura 5.



**Figura 4:** Inoculación de cada muestra de suelo colectada en las perforaciones hechas a la fruta. Fuente: L. Reyes.

5. Cada perforación con suelo se hidrata con agua destilada, se coloca el trozo de fruta que se retiró y se cubre con cinta adhesiva, como se observa en la Figura 6.



**Figura 5:** Sellado de cada perforación en la manzana inoculada con suelo, con cinta adhesiva. Fuente: L. Reyes.

6. La figura 7 muestra cómo se identifican las manzanas con el código de cada muestra y se dejan a temperatura ambiente por espacio de 36 a 48 horas, luego de las cuales pueden verse las lesiones ocasionadas por *Pythium* o *Phytophthora* alrededor de los puntos de inoculación.



**Figura 6:** Fruto de manzana inoculado con suelo, hidratado y sellado. Fuente: L. Reyes.

Cuando la inoculación resulta positiva y el agente coloniza dentro de la manzana, pueden observarse lesiones firmes color marrón rodeando los puntos de inoculación. Se procede a purificarlo en medio de cultivo semiselectivo (PARPB) y a solución de suelo para que produzca estructuras reproductivas.

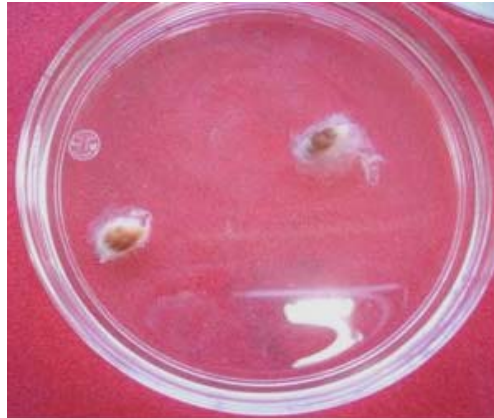
b) Técnica de solución de extracto de suelo

Esta técnica se utiliza para obtener estructuras reproductivas, como los esporangios. Se depositan semillas de la manzana colonizada, que presenten micelio, y así hacer un análisis preliminar del agente presente.

1. Se pesan 50 g de suelo y se mezclan con 500 cc de agua.
2. Se deja por 24 horas reposando la solución.
3. Se toman 100 cc de la solución y se afora a 1000 cc con agua destilada
4. Se esteriliza en autoclave por 20 minutos a 15 psi
5. La solución se deja enfriar y está lista para utilizar.
6. Para provocar desarrollo de esporangios, se colocan en una caja de Petri 10 cc de la solución y se depositan en ella las semillas con micelio de *Pythium* y *Phytophthora*, provenientes de las manzanas inoculadas con suelo o raíces y que dieron positivo.



7. Se identifican las cajas y se dejan en incubadora a 23° C. El micelio crece en el término de 24-48 hrs. (Ver Figura 8)

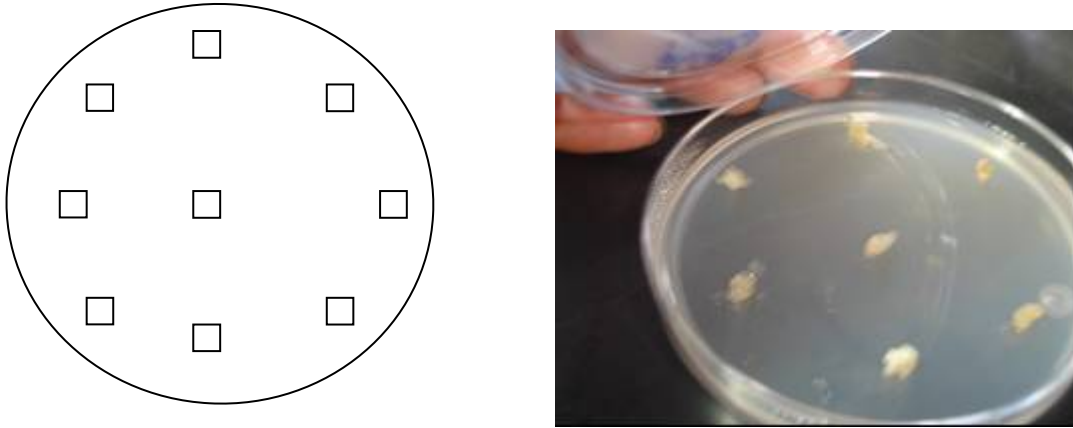


**Figura 7:** Semillas de manzana con micelio desarrollado en solución de extracto de suelo, proveniente de muestras colectadas. Fuente: L. Reyes.

#### B. A partir de tejido vegetal

Para procesar muestras de tejido vegetal (raíces, tallos, hojas etc.) se trabaja de la siguiente forma:

1. Se lava la muestra colectada.
2. Seguidamente se detecta la zona de avance de la enfermedad.
3. Se toman trozos de aproximadamente de 5 x 5 mm.
4. Se desinfectan los fragmentos de tejido vegetal con etanol al 95% por 20 seg.
5. Se secan los fragmentos en papel absorbente por 30 minutos.
6. El tejido vegetal infectado se inserta en manzanas verdes o amarillas (utilizando la técnica de la manzana, descrita en el inciso 6.3.2.1), elaborando para ello incisiones que se ajusten al tamaño de los fragmentos.
7. A las 24-48 horas se observaron lesiones en la fruta ocasionados por la colonización de *Pythium* o *Phytophthora*.
8. A continuación se colocaron de 5 a 7 porciones de pulpa de manzana con área de avance de la colonización en medio selectivo PARPB, como lo muestra la figura 9.



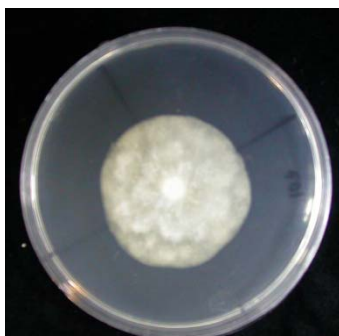
**Figura 8:** Forma de colocación de fracciones de tejido de manzana infectada sobre medio de cultivo selectivo para su aislamiento. Fuente: L. Reyes.

Para obtener colonias puras de *Pythium* y *Phytophthora*, procedentes tanto de suelo como de tejido vegetal, se reaislan en medio PDA, colocando un disco de 5 mm en la parte central de la placa de PDA con el objeto de observar y documentar los patrones de crecimiento característico de cada especie: petaloide, rosáceo, radiado, estolonífero; como se observa en la Figura 10. Simultáneamente se realizan siembras en solución de suelo y agar V8, para estimular la producción de estructuras sexuales y asexuales.

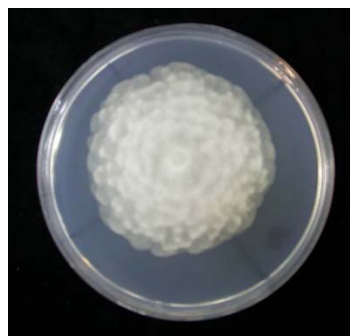
Petaloides



Semipetaloides



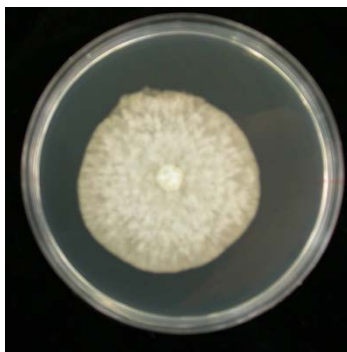
Rosáceo



Semirosáceo



Estelado



Radiado



Sin patrón



Estolonífero



**Figura 9:** Descripción pictográfica de las características de crecimiento que se utilizan como uno de los parámetros para identificar especies de *Phytophthora* desarrolladas en medio PDA. (7) Fuente: Dr. Luis Álvarez.

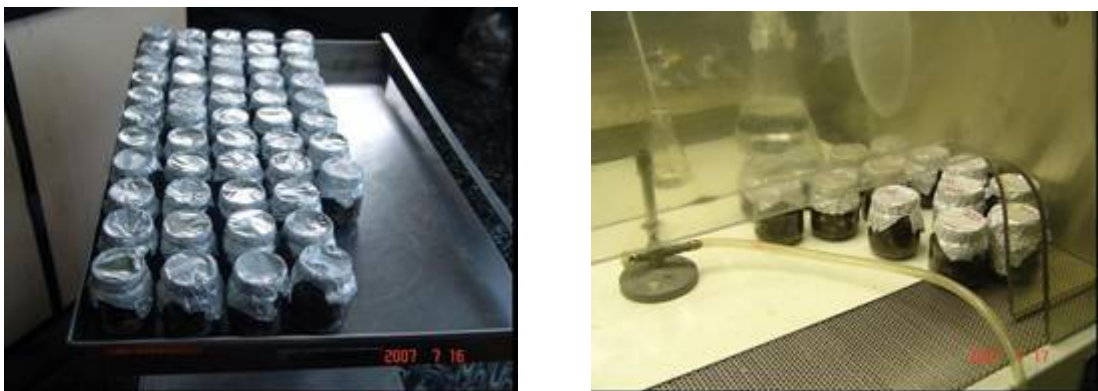
### 2.4.3.3 Conservación de los aislamientos

*Pythium* y *Phytophthora*, son muy sensibles a los cambios de temperatura, por lo tanto los aislamientos no deben mantenerse a temperaturas menores de 24° y no mayores de 30° C, aunque hay especies que deben mantenerse a temperaturas menores para un mejor desarrollo.

La conservación de los aislamientos se puede realizar de diferentes formas:

1. Viales con solución de extracto de suelo: Este método se emplea para la conservación del aislamiento por 1 mes. se colocan de 15 a 20 discos de agar proveniente del aislamiento.
2. Tubos de Ensayo con PDA: Con este método, el aislamiento tiene un período de vida de 3-6 meses. Se coloca PDA en tubos de ensayo y se deja que solidifique, a un ángulo de 45<sup>0</sup>, (aproximadamente) y se introducen de dos a tres discos de agar proveniente del aislamiento.
3. Frascos con turba: Utilizando este procedimiento, se garantiza la vida del aislamiento por 1 año. Se coloca en ellos una mezcla de turba, arena y jugo V8, en relación de 3 partes de turba por 1 parte de jugo V-8, y se esteriliza tres veces por tres días consecutivos. Introducir discos de agar provenientes del aislamiento (8) (4). (Ver Figura 9)

El medio de conservación utilizado en este estudio fue el de turba, arena y V-8.



**Figura 10:** Conservación de aislados de *Pythium* y *Phytophthora* provenientes de las muestras colectadas, en frascos conteniendo turba, jugo V-8 y agar. Fuente: L. Reyes.

#### 2.4.3.4 Pruebas de patogenicidad para *Pythium* spp.

##### **A. Materiales y métodos.**

En el caso del género *Pythium*, todos los aislamientos provenientes de los muestreos fueron sometidos a prueba de Patogenicidad para comprobar si dichos aislamientos corresponden a las especies patógenas de los cultivos con síntomas que fueron sujeto de muestreo, y de donde se aislaron inicialmente.

Para tal efecto, se procedió a obtener plantas sanas de la misma especie de todas y cada una de las que durante el proceso de muestreo dieron positivo para la presencia de dicho agente y se procedió a inocular.

Para ello fue necesario preparar inóculo de los aislamientos iniciales en medio básico Agar V-8 avena y plántulas sanas de cada una de las especies de donde se originaron los aislamientos.

Para dicho efecto se utilizaron, manzanas verdes, cajas plásticas y transparentes, cajas de Petri de 90 mm x 15 mm , agua destilada, semilla de cebolla, esquejes de crisantemo de partes aéreas, bandejas piloneras de plástico de 105 plántulas, macetas de ½ galón (14 cm. de diámetro), sustrato estéril para germinación, sustrato estéril para trasplante, cinta adhesiva transparente, bolsas plásticas de 2 libras para colecta de muestras, cinta selladora Parafilm, hielera, regadera y cámara fotográfica.

##### **B. Obtención y propagación del inóculo de *Pythium*.**

- De cada placa madre de PDA conteniendo las cepas de *Pythium* sp., se traslada un trozo a cada placa de agar V-8 avena.
- Al presentar crecimiento de micelio, se procede a inocular trozos del aislamiento a plantas sanas.

### C. Obtención de plántulas sanas para prueba de patogenicidad en crisantemo.

- Se procede a la colecta de esquejes de partes aéreas de plantas madre de crisantemo (Ver Figura 12).



**Figura 11:** Obtención en el campo de esquejes de partes aéreas de crisantemo para su posterior enraizamiento e inoculación. Fuente: L. Reyes.

- Se colocan los esquejes en cámaras húmedas y transportadas en hieleras al laboratorio.
- Ya en el laboratorio, se prepara sustrato estéril y se llenan las bandejas piloneras, como se observa en la figura 13.



**Figura 12:** Preparación en el laboratorio de bandejas piloneras con sustrato estéril para la siembra de semillas de cebolla y esquejes de crisantemo. Fuente: L. Reyes.

- Los esquejes obtenidos son colocadas en las bandejas con sustrato estéril, en cantidad suficiente para prevenir pérdidas. El riego se realiza diariamente. (Ver Figuras 14 y 15)



**Figura 13:** Siembra de esquejes de crisantemo para su enraizamiento en las bandejas piloneras, para su posterior inoculación. Fuente: L. Reyes.



**Figura 14:** Esquejes de crisantemo enraizando en sustrato estéril para su posterior inoculación. Fuente: L.Reyes

**D. Obtención de plántulas sanas para prueba de patogenicidad en liliáceas:**

- a. Se utilizan semillas de cebolla (*Allium* sp.) para la obtención de plántulas.
- b. Se colocan semillas (3-4) en bandejas piloneras en sustrato estéril, como lo muestra la figura 16.



**Figura 15:** Siembra de semillas de cebolla desinfectadas en bandejas piloneras, para la obtención de plántulas sanas. Fuente: L. Reyes.

- c. Se colocan las bandejas en invernadero, controlando aireación y riego.
- d. Se procede a inocular el patógeno en la plántula al apareamiento de las primeras hojas verdaderas, seleccionando las plántulas que presentaron mejor crecimiento y condiciones en general (Ver Figuras 17 y 18)



**Figura 16:** Plántulas de cebolla con desarrollo idóneo para ser inoculadas con los aislamientos de *Pythium* sp. provenientes del muestreo. Fuente: L. Reyes.





**Figura 17:** Plántula de crisantemo enraizada y lista para ser inoculada con los aislados de *Pythium* sp. provenientes del muestreo. Fuente: L. Reyes.

#### **E. Inoculación de la cepa de *Pythium* a las plántulas.**

- a. Las plántulas se extraen de las bandejas y se colocan en macetas conteniendo sustrato estéril (turba + vermiculita) y cada inóculo de *Pythium* en agar V-8 Avena , cortados en pequeños trozos. (Ver Figura 19 y 20).



**Figura 18:** Inoculación de cada aislado de *Pythium* en macetas con sustrato estéril. Fuente: L. Reyes.



**Figura 19:** Siembra de 10 plántulas de crisantemo en cada maceta con sustrato inoculado con cada aislado de *Pythium*. Fuente: L. Reyes.

- b. Se colocaron las macetas en el invernadero ubicado en el Centro Experimental Docente de Agronomía (CEDA), se regaron con agua destilada 2 veces al día a capacidad de campo (Ver Figura 21).



**Figura 20:** Prueba de patogenicidad de cepas de *Pythium* provenientes del muestreo, en plantas de cebolla y crisantemo, instalado en el invernadero ubicado en el Centro Experimental Docente de Agronomía, FAUSAC. Fuente: L. Reyes.

- c. Se evalúa el desarrollo final de las plántulas a 20 días de la inoculación, período en el que se observaron síntomas del daño.
- d. Después de extraídas las plántulas para su evaluación, a los 20 días de la inoculación de los aislamientos, se procede a reaislar y purificar el agente patógeno causante del daño. Las plantas que presentan síntomas son sometidas a proceso de reaislamiento, siguiendo la metodología establecida para aislamiento de *Pythium* y *Phytophthora*, a partir de suelo. (Inciso 6.3.2.1)

#### **2.4.4 Proceso de Identificación a nivel molecular.**

La extracción de ADN de los cultivos de *Pythium* y *Phytophthora* se realizó a partir del micelio recogido de una placa Pétri y se llevó a cabo con el kit de extracción EZNA (Omega Bio-tek) siguiendo las instrucciones sugeridas por el proveedor. Para amplificar por PCR el ADN ribosómico de las cepas, se utilizaron los oligonucleótidos its5 e its4. Estos cebadores amplifican una región del ADN ribosómico que contiene los espaciadores internos y el gen que codifica los RNA ribosómicos. El trabajo se realiza con el secuenciador automático ABI 373 DNA sequencer. (4)

Este trabajo fue realizado para algunas de las especies colectadas por los fitopatólogos de la Universidad Politécnica de Valencia, España, quienes trabajan en conjunto con la facultad de Agronomía, USAC.

## 2.5 RESULTADOS

Se llevó a cabo el muestreo en 65 áreas de cultivo de flores de corte, entre invernaderos y campo, pertenecientes a miembros de ASOFLORSA. En la figura 22 se muestra un panorama de los invernaderos muestreados en la aldea Cruz Blanca. Las comunidades en que se realizó la toma de muestras fueron Loma Alta, Cruz Blanca, Cruz Verde, Sajcavillá, Camino de San Pedro, Santa Fe Ocaña, Pacajay, Los Pajoques, que son las comunidades que se dedican a la actividad de producción de flores de corte en el municipio (ver Figura 23).

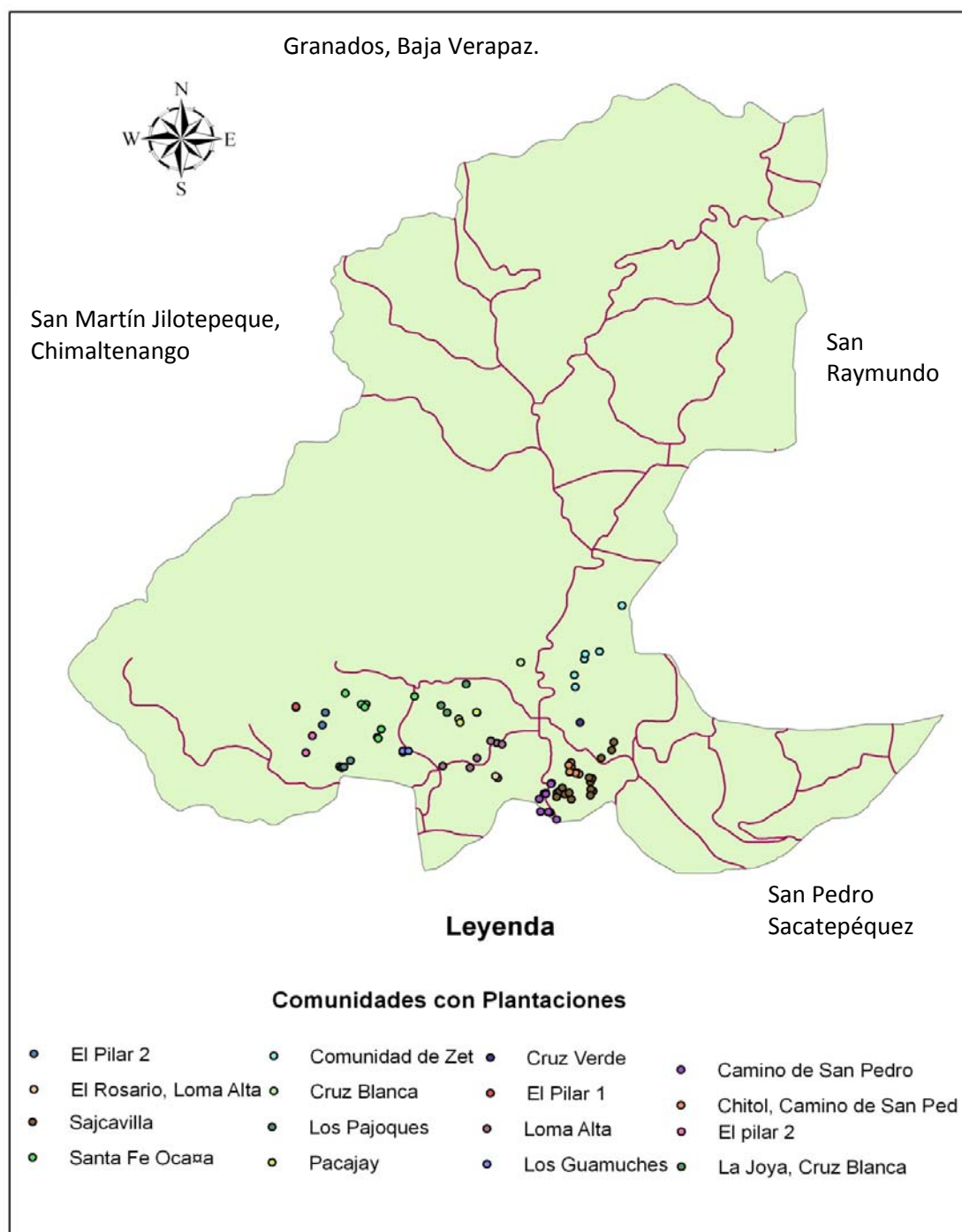


**Figura 21:** Uno de los sitios muestreados en las comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.

En el cuadro 1 se presentan los datos de las comunidades, coordenadas de muestreo y los cultivos bajo estudio.

**Cuadro 7:** Presentación de datos del muestreo realizados en San Juan Sacatepéquez: correlativo, hospedante, procedencia, altitud y coordenadas.

MUESTRA	CULTIVO	PROCEDENCIA	COORDENADAS		ALTURA
			15 P	UTM	Altura mt
1	Crisantemo	Comunidad de Zet	756017	1631683	1482
2	Crisantemo	Comunidad de Zet	754989	1630169	1673
3	Crisantemo	Comunidad de Zet	755012	1630309	1678
4	Azucena	Comunidad de Zet	755402	1630378	1654
5	Crisantemo	Comunidad de Zet	754718	1629712	1789
6	Crisantemo	Comunidad de Zet	754736	1629367	1792
7	Crisantemo	Saicavillá	754245	1626384	1979
8	Crisantemo	Saicavillá	754375	1626498	1976
9	Crisantemo	Saicavillá	754313	1626425	1964
10	Lirio	Saicavillá	754627	1626189	2016
11	Crisantemo	Saicavillá	755156	1626681	1969
12	Crisantemo	Saicavillá	755205	1626781	1951
13	Crisantemo	Saicavillá	755229	1626430	2005
14	Crisantemo	Saicavillá	755168	1626472	2009
15	Crisantemo	Saicavillá	755148	1626310	1977
16	Crisantemo	Saicavillá	754233	1626261	2007
17	Crisantemo	Saicavillá	754574	1626376	1914
18	Crisantemo	Camino de San Pedro	753759	1626206	2022
19	Crisantemo	Camino de San Pedro	754056	1625824	2040
20	Crisantemo	Camino de San Pedro	753892	1626359	1981
21	Crisantemo	Camino de San Pedro	753932	1626366	1971
22	Crisantemo	Camino de San Pedro	754092	1626656	1950
23	Crisantemo	Camino de San Pedro	753798	1625843	2034
24	Crisantemo	Camino de San Pedro	754580	1626956	1862
25	Crisantemo	Camino de San Pedro	754625	1626998	1867
26	Crisantemo	Camino de San Pedro	754783	1626949	1890
27	Crisantemo	Camino de San Pedro	754851	1626909	1903
28	Crisantemo	Camino de San Pedro	754745	1626938	1877
29	Crisantemo	Camino de San Pedro	754634	1627127	1870
30	Crisantemo	Camino de San Pedro	754622	1627227	1872
31	Crisantemo	Camino de San Pedro	754229	1625621	1940
32	Rosa	Loma Alta	752600	1627784	1890
33	Crisantemo	Loma Alta	752745	1627753	1886
34	Gladiola	Loma Alta	752429	1627851	1898
35	Rosa	Loma Alta	752618	1626798	1926
36	Crisantemo	Loma Alta	752059	1627359	1959
37	Rosa	Loma Alta	751869	1627085	1973
38	Rosa	Loma Alta	751122	1627136	1954
39	Crisantemo	Loma Alta	751122	1627136	1954
40	Rosa	Los Guamuches	750025	1627525	1821
41	Rosa	Los Guamuches	750030	1627563	1793
42	Crisantemo	Los Guamuches	750184	1627557	1816
43	Crisantemo	El Pilar 1	747113	1628791	1867
44	Crisantemo	El Pilar 1	747110	1628816	1872
45	Gladiola	El Pilar 1	747110	1628816	1872
46	Gladiola	El Pilar 2	747554	1627982	1917
47	Crisantemo	El Pilar 2	747382	1627511	1901
48	Rosa	El Pilar 2	747382	1627511	1901
49	Rosa	Santa Fe Ocaña	748460	1629192	1843
50	Rosa	Santa Fe Ocaña	749029	1628882	1825
51	Rosa	Santa Fe Ocaña	748895	1628890	1846
52	Rosa	Santa Fe Ocaña	748989	1628805	1846
53	Crisantemo	Pacaiav	752036	1628657	1735
54	Rosa	Pacaiav	751559	1628469	1781
55	Rosa	Pacaiav	751589	1628370	1798
56	Crisantemo	Pacaiav	751589	1628370	1798
57	Rosa	La Jova Cruz Blanca	751763	1629455	1709
58	Rosa	La Jova Cruz Blanca	751241	1628655	1801
59	Rosa	Cruz Verde	754867	1628371	1817
60	Rosa	Cruz Verde	754867	1628371	1817
61	Esparrago O	Cruz Verde	754867	1628371	1817
62	Rosa	Los Paioques	748309	1627126	1921
63	Clavel	Los Paioques	748367	1627093	1919
64	Crisantemo	Los Paioques	748423	1627117	1932
65	Gladiola	Los Paioques	748423	1627117	1932



**Figura 22:** Mapa de localización de comunidades muestreadas en el Municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala.

Las especies que se estudiaron fueron: crisantemo (*Chrysanthemum* sp.), lirio (*Lilium* sp.), rosa (*Rosa* sp.), clavel (*Dianthus* sp.) gladiola (*Gladiolus* sp) y espárrago ornamental (*Asparagus plumosus*), por ser en las que se presentan más frecuentemente pudrición de base del tallo y raíces ocasionado por *Pythium* y *Phytophthora* y además muerte descendente para *Phytophthora*. (Ver Figuras 24 y 25)



**Figura 23:** Sintomatología del daño causado en crisantemo por la presencia de *Pythium*, observada durante los muestreos. Fuente: L. Reyes.



**Figura 24:** Sintomatología del daño causado en lirios por la presencia de *Pythium*, observada durante los muestreos. Fuente: L. Reyes.

### 2.5.1 Agentes detectados en el muestreo.

En el Cuadro 2 se presenta el resultado de presencia de *Phytophthora* y en el Cuadro 3 se presentan los resultados de la detección de *Pythium*. Además se pueden ubicar las comunidades con presencia de ambos patógenos. (Ver Figura 26 y Figura 27)

De ambos agentes, el de mayor incidencia fue el género *Pythium*, del cual se determinaron las especies: *Pythium splendens* y *Pythium sylvaticum* en espárrago ornamental (*Asparagus plumosus*) y *Pythium ultimum* en crisantemo (*Chrysanthemum* sp.) y lirio (*Lilium* sp.). Estas especies se determinaron con la cooperación de fitopatólogos de la Universidad Politécnica de Valencia, España, quienes realizaron una identificación a nivel molecular, como se detalla en la metodología. (4)

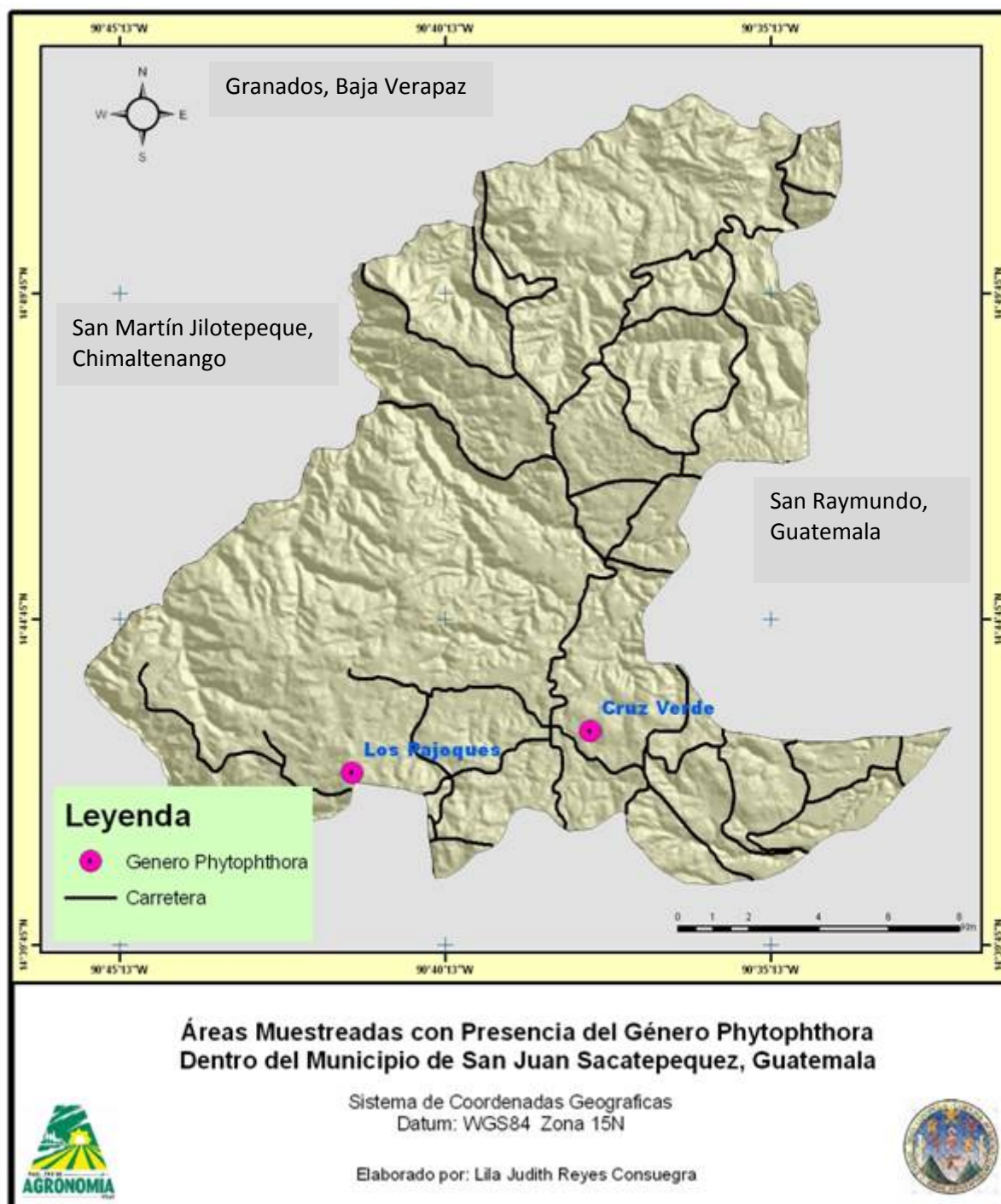
**Cuadro 8:** Coordenadas latitud-longitud de áreas muestreadas con presencia del género *Phytophthora*.

MUESTRA	CULTIVO	PROCEDENCIA	COORDENADAS	
			15 P	UTM
59	ROSA	CRUZ VERDE	754867	1628371
60	ROSA	CRUZ VERDE	754867	1628371
63	CLAVEL	LOS PAJOQUES	748367	1627093

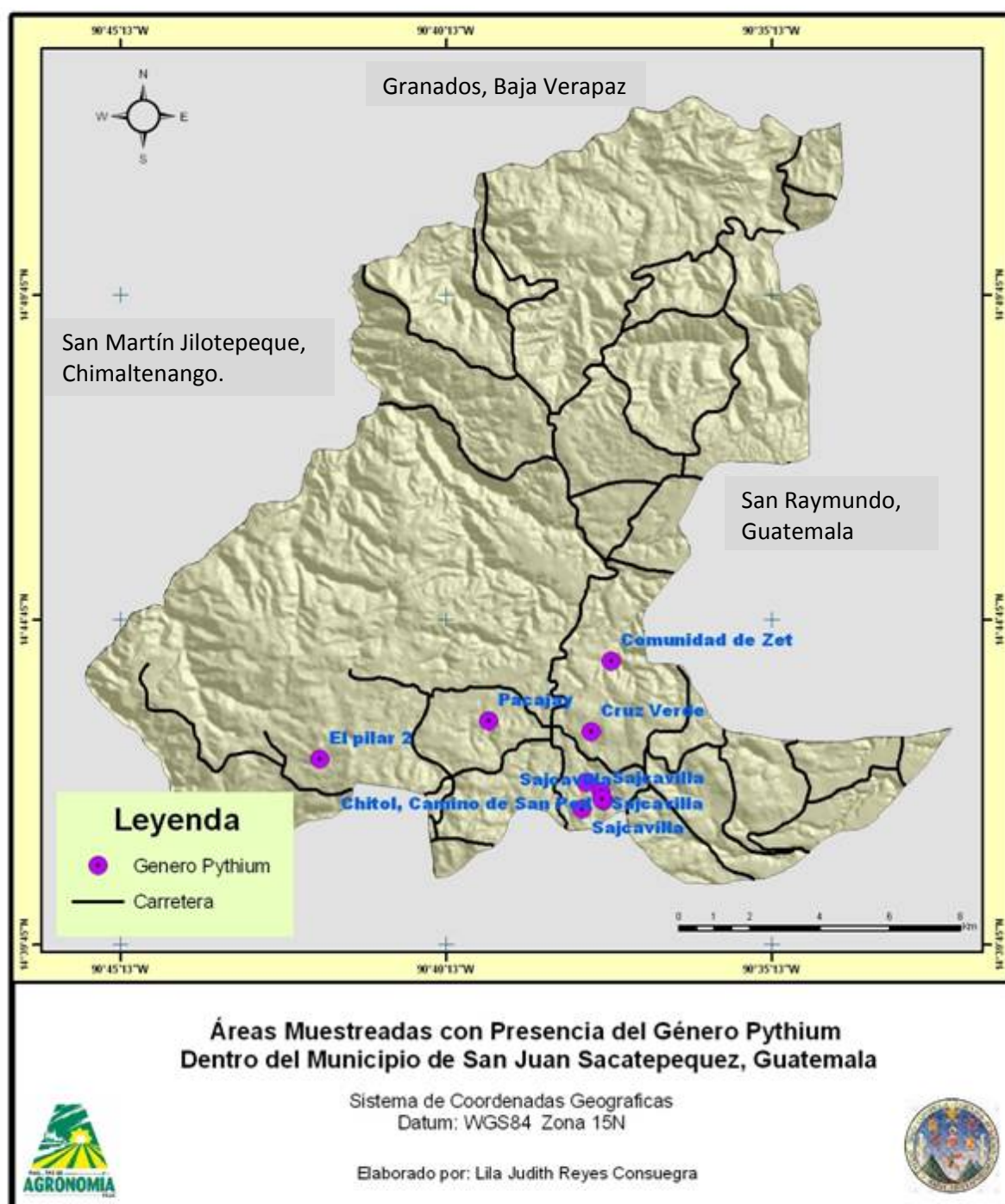
**Cuadro 9:** Coordenadas latitud-longitud de áreas muestreadas con presencia del género *Pythium*.

MUESTRA	CULTIVO	PROCEDENCIA	COORDENADAS	
			15 P	UTM
4	AZUCENA	COMUNIDAD DE ZET	755402	1630378
10	LIRIO	SAJCAVILLA	754627	1626189
11	CRISANTEMO	SAJCAVILLA	755156	1626681
13	CRISANTEMO	SAJCAVILLA	755229	1626430
14	CRISANTEMO	SAJCAVILLA	755168	1626472
28	CRISANTEMO	CAMINO DE SAN	754745	1626938
47	CRISANTEMO	EL PILAR 2	747382	1627511
53	CRISANTEMO	PACAJAY	752036	1628657
61	ESPARRAGO	CRUZ VERDE	754867	1628371





**Figura 25:** Mapa de localización de comunidades muestreadas con presencia de *Phytophthora*, en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala. Fuente: L. Reyes.



**Figura 26:** Mapa de localización de comunidades muestreadas con presencia de *Pythium*, en el municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala. Fuente: L. Reyes.

### 2.5.1.1 Comunidad Cruz Verde y Los Pajoques.

Se detectó la presencia de *Phytophthora tropicalis* asociada al cultivo de rosa y clavel, que causa pudrición radicular y muerte descendente.

En el cultivo de rosa, ya desde 1988, han sido reportados daños ocasionados por *Phytophthora* sp. (16) Sin embargo, la especie de *Phytophthora* que más frecuentemente se reporta en rosa es *Phytophthora ramorum*, agente que es sujeto de cuarentena en muchos países importadores de rosas. (19)

Por otra parte, en clavel se han reportado *Phytophthora cryptogea*, *P. megasperma*, *P. capsici*, *P. porri*, *Pythium aphanidermatum* y *P. irregulare* (27).

*P. tropicalis*, sin embargo, no había sido reportada en la región, por lo que el hecho es de suma importancia, además por el impacto que causa, al ser tan destructiva en plantaciones ya establecidas. (Ver Figuras 28, Figura 29 y Figura 30).

*Phytophthora tropicalis* se asocia a especies forestales y especies frutales, tales como: *Annona cherimola* (anona), *Anthurium andraeanum* (anturio), *Carica papaya* (papaya), *Dianthus caryophyllus* (clavel), *Hedera hélix* (hiedra), *Leucospermum* sp. (leucospermo), *Macadamia integrifolia* (macadamia), *Solanum melongena* (berenjena) y *Theobroma cacao* (cacao), entre otros. (11)(6)(20)

Con ello, podemos afirmar que el rango de hospedantes es muy extenso, y las áreas donde ha sido reportado este agente patógeno es igual de amplio: Samoa, España, Dinamarca, Hawaii, Brasil, Estados Unidos, y desde allí hasta Chile y Argentina. (8)(6)(20)



**Figura 27:** Esporangio de *Phytophthora tropicalis* aislado del cultivo de rosa en Comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: Dr. Luis Álvarez, UPV.



**Figura 28:** Planta de rosa que presentó la sintomatología de daño ocasionado por *P. tropicalis*, en la comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.



**Figura 29:** Sintomatología en el campo, de daño ocasionado por *P. tropicalis* en rosa, en la comunidad de Cruz Verde. Fuente: L. Reyes.

En la comunidad Cruz Verde también se encontró el género *Pythium* en espárrago ornamental (*Asparagus plumosus*) y se detectaron dos especies: *Pythium splendens* y *Pythium sylvaticum*, responsables del mal desarrollo de la planta y pobre crecimiento radicular. (Ver Figura 31). El género *Pythium* ha sido relacionado con damping-off y pudrición radical en espárrago ornamental. (2)



**Figura 30:** Sintomatología del daño causado por *Pythium* en Espárrago Ornamental en la comunidad Cruz Verde, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.

### 2.5.1.2 Comunidad de Sajcavillá

En la comunidad de Sajcavillá se encontraron 4 áreas con presencia de *Pythium* en crisantemo, identificándose del mismo a *P. ultimum*. Cabe mencionar que el género *Pythium* en crisantemo se detectó únicamente en camas de propagación, en donde es fitopatógeno, causando damping off y pudrición de la base del tallo y raíces, los cuales aún no poseen lignina en su estructura, por lo que el patógeno los ataca agresivamente.(26) (Ver Figuras 32 y 33)



**Figura 31:** Sintomatología del daño ocasionado por *Pythium* en crisantemo en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez. Fuente: L. Reyes.



**Figura 32:** Pudrición de tallo y raíces como resultado del ataque de *Pythium* en plantas de crisantemo tomadas de camas de propagación. Fuente: L. Reyes.

#### 2.5.1.3 Comunidad de Zet

En la Comunidad de Zet, se encontró en lirio la presencia del género *Pythium*, particularmente la especie *Pythium ultimum*, la cual es la causante del poco crecimiento de las plantas y pudriciones radicales. (26) (Ver Figuras 34 y 35).

*Pythium ultimum* en lirios produce la putrefacción de raíces con manchas marrones claras. Cuando el ataque es leve tiene lugar un retraso en el crecimiento, pero cuando es grave se ve afectada toda la planta, incluso los botones florales que se secan y caen. (5)



**Figura 33:** Sintomatología del daño a nivel de raíz y desarrollo de planta, causado por *Pythium* en lirio, en la Comunidad de Zet. Fuente: L. Reyes.



**Figura 34:** Sintomatología del daño a nivel de raíz y desarrollo de plantas causado por *Pythium* en lirio, en la Comunidad de Zet. Fuente: L. Reyes.

### 2.5.2 Pruebas de patogenicidad para el género *Pythium*.

Del total de inoculaciones, se determinó que 7 fueron fitopatógenas (Ver cuadro 3). Las 50 muestras restantes fueron aislados de *Pythium* no fitopatógenos.



La muestra 10, que corresponde a un aislamiento efectuado en lirio, resultó positivo para la prueba de patogenicidad en plantas de cebolla. Como puede observarse en la Figura 36, se presentó un marcado deterioro en el sistema radical y pobre desarrollo general de la plántula.



**Figura 35:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de lirio, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de cebolla. Muestra 10. A la derecha plantas testigo, a la izquierda plantas inoculadas. Fuente: L. Reyes

Para las muestras 11, 13, 14, 28, 47 y 53 que corresponden a plantas de crisantemo, la inoculación resultó positiva, observándose un desarrollo radical deficiente, comparándola con los respectivos testigos, los que presentaron una marcada diferencia, como lo muestran la Figura 37, Figura 38, Figura 39, Figura 40, Figura 41 y Figura 42.

En todos los casos, la incidencia de *Pythium* se relacionó con el exceso de humedad en el sustrato, en las camas de propagación para el caso de crisantemo, y en el campo

con áreas de poco drenaje o partes bajas del cultivar en donde se saturaba el suelo por exceso de agua, para espárrago ornamental y lirio.



**Figura 36:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 11. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.



**Figura 37:** Efecto del daño causado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 13. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.



**Figura 38:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 14. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.



**Figura 39:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en Camino de San Pedro, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 28. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.



**Figura 40:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en El Pilar, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 47. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.



**Figura 41:** Efecto del daño ocasionado por el género *Pythium*, colectado en suelo de crisantemo, en Pacajay, San Juan Sacatepéquez, inoculado en plantas de crisantemo. Muestra 53. A la derecha plantas inoculadas, a la izquierda plantas testigo. Fuente: L. Reyes.

## 2.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se estableció la presencia y el asocio de los géneros *Pythium* y *Phytophthora* en flores de corte en San Juan Sacatepéquez, Guatemala.
2. Se detectó la presencia de la especie *Phytophthora tropicalis*, asociada al cultivo de rosa y clavel, en la comunidad de Cruz Verde y Los Pajoques, San Juan Sacatepéquez, respectivamente.
3. De los aislamientos de *Pythium* obtenidos, se estableció la patogenicidad y asocio de: *Pythium splendens*, asociadas al cultivo de espárrago ornamental, en la comunidad de Cruz Verde; *Pythium ultimum* que se detectó en crisantemo y lirio, en Sajcavillá y Comunidad de Zet, respectivamente; *Pythium sylvaticum*, también en espárrago ornamental, en Cruz Verde; y *Pythium sp.* en crisantemo, en las comunidades de Sajcavillá, Camino de San Pedro, El Pilar y Pacajay.
4. Se valida el protocolo para los métodos de aislamiento y conservación de especímenes desarrollado en la presente investigación. (ver Capítulo III, Servicio No. 1, del presente documento)
5. Se valida el protocolo para pruebas de patogenicidad para *Pythium* desarrollado en la presente investigación. (ver Capítulo III, Servicio No. 1, del presente documento)
6. Se recomienda continuar con los estudios para establecer la incidencia, dispersión e impacto de estos agentes patógenos en el área.
7. Realizar evaluaciones y estudios para establecer el grado de importancia de *Pythium* y *Phytophthora* y además formular y evaluar planes de manejo para dichas especies.

## 2.7 BIBLIOGRAFIA

1. Abad, R. 2007. Espárrago ornamental (en línea). Uruguay. Consultado 10 feb 2008. Disponible en: <http://plantasadiario.blogspot.com/2007/08/esprrago-ornamental.html>
2. Acosta Bernal, F. 2002. Tropical flowers and foliage in Putumayo (en línea). Colombia. Consultado 7 abr 2008. Disponible en: [http://pdf.dec.org/pdf\\_docs/PNACX701.pdf](http://pdf.dec.org/pdf_docs/PNACX701.pdf)
3. Agrios, G. 2005. Plant pathology. US, Elsevier Academic Press. 922 p.
4. Álvarez, LA; Vicent, A; Roca, E De la; Bascón, J; Abad-Campos, P; Armengol, J; García-Jiménez, J. 2008. Muerte de árboles cítricos causada por ataques de *Phytophthora citrophthora* a ramas principales. Plant Pathology 57(1):84-91. Consultado 8 abr 2008. Disponible en: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3059.2007.01702.x>
5. CABI, UK. 2007. Crop protection compendium (CPC). UK. 2 CD.
6. Cerqueira, AO; Luz, EDMN; Souza, JT De. 2006. 2006. First record of *Phytophthora tropicalis* causing leaf blight in fruits in Brazil (en línea). New Disease Reports. Consultado 20 mar 2008. Disponible en: <http://www.bspp.org.uk/ndr/jan2006/2005-73.asp>
7. Concohá Chet, FE. 1995. Evaluación de niveles de nitrógeno, fósforo y gallinaza sobre el rendimiento de hierba mora (*Solanum* sp.) en San Juan Sacatepéquez, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 38 p.
8. Erwin, D; Ribeiro, O. 1996. Phytophthora diseases worldwide. US, American Phytopathological Society. 456 p.
9. FAO, Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, IT. 2006. Normas internacionales para medidas fitosanitarias: directrices para la vigilancia. Roma, Italia. 8 p.
10. Holt, J; Iudica, C. 2008. Taxa of life (en línea). US. Consultado 23 set 2008. Disponible en: <http://comenius.susqu.edu/bi/202/Taxa.htm>
11. Hong, X; Richardson, PA; Kong, P. 2006. *Phytophthora tropicalis* isolated from diseased leaves of *Pieris japonica* and *Rhododendron catawbiense* and found in irrigation water and soil in Virginia (en línea). Plant Disease 90:525. APS Net. Consultado 5 abr 2008. Disponible en: <http://www.apsnet.org/pd/searchnotes/2006/PD-90-0525C.asp>
12. Infoagro.com. 2003. El cultivo de la rosa (en línea). Consultado 4 abr 2007. Disponible en: <http://www.infoagro.com/flores/flores/rosas.htm>
13. \_\_\_\_\_. 2003. El cultivo de liliium (en línea). Consultado 5 abr 2007. Disponible en: <http://www.infoagro.com/flores/flores/liliium.htm>

14. \_\_\_\_\_. 2003. El cultivo del crisantemo (en línea). España. Consultado 4 abr 2007. Disponible en: <http://www.infoagro.com/flores/flores/crisantemo.htm>
15. \_\_\_\_\_. 2003. El cultivo del gladiolo (en línea). España. Consultado 6 abr 2007. Disponible en: <http://www.infoagro.com/flores/flores/gladiolo.htm>
16. ISHS (International Society for Horticultural Science, US). 1995. *Gnomonia radicicola* and *Phytophthora* species as a causal agents of root rot on roses in artificial substrates (en línea). US, Acta Horticulturae. Consultado 5 abr 2008. Disponible en: [http://www.actahort.org/members/showpdf?booknr=382\\_23](http://www.actahort.org/members/showpdf?booknr=382_23)
17. Jaramillo, S. 2003. Monografía sobre *P. infestans* (Mont) de Bary (en línea). Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Consultado 5 abr 2007. Disponible en: [www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/Monografia.pdf](http://www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/Monografia.pdf)
18. Mejía Ajcucún, L. 2005. San Juan Sacatepéquez, datos importantes e historia (correspondencia personal). Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 22 p.
19. Ministeriet for Fodevarer, Landbrug og Fiskery, DK. 2005. Danish roses can again be exported to Canada. Denmark. Consultado 6 abr 2008. Disponible en: [www.fv.dk/Default.aspx?ID=16445&M=News&NewsID=4443](http://www.fv.dk/Default.aspx?ID=16445&M=News&NewsID=4443)
20. NAPPO (North American Plant Protection Organization, US). 2006. *Phytophthora tropicalis* (en línea). Phytosanitary Alert System. Consultado 5 abr 2008. Disponible: <http://www.pestalert.org/viewNewsAlert.cfm?naid=14>
21. Robertson, GI. 1980. The genus *Pythium* in New Zealand (en línea). New Zealand Journal of Botany 18:73-102. Consultado 8 abr 2008. Disponible en: [www.rsnz.org/publish/nzjb/1980/8.pdf](http://www.rsnz.org/publish/nzjb/1980/8.pdf)
22. Simmons, C; Tárano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimientos de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José De Pineda Ibarra. 1000 p.
23. Singleton, L; Mihail, J; Rush, C. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. US, American Phytopathological Society Press. 265 p.
24. Stamps, DJ; Waterhouse, G. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. England, CAB International. 28 p.
25. Streets, R. 1978. The diagnosis of plant diseases. US, The University of Arizona Press. 245 p.
26. Takao, T; Yoshiaki, C. 2007. Root and stem rot of chrysanthemum caused by five *Pythium* species in Japan. Consultado 8 abr 2008. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/c85r80l514617685/>
27. Universidad de Almería, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, ES. 2004. Clasificación de los hongos (en línea). España, MYCO-UAL. Consultado 2 abr 2007. Disponible en: <http://www.ual.es/GruposInv/myco-ual/index.htm>

28. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Fitotecnia, CO. 1998. Aislamiento, esporulación y patogenicidad de *Phytophthora* sp. en manzana Anna sobre patrón MM106 en Caldas (en línea). Fitotecnia no. 20. Consultado 6 abr 2008. Disponible en: <http://acad.ucaldas.edu.co/jcg/fitotecnia/boletin/20/AISLAMIENTO,%20ESPORULACION%20Y%20PATOGENICIDAD%20DE%20phytophthora%20s.htm>





**CAPITULO III: SERVICIOS REALIZADOS EN EL CENTRO DE DIAGNOSTICO  
PARASITOLOGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE  
SAN CARLOS DE GUATEMALA (CDP-FAUSAC) DURANTE EL PERIODO  
FEBRERO-NOVIEMBRE DE 2007.**

### 3.1 PRESENTACION

Durante los meses comprendidos entre febrero y noviembre de 2007 se llevaron a cabo los servicios asignados en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la USAC (CDP-FAUSAC). Según las necesidades en ese período, las actividades de servicio realizadas fueron:

- Elaboración de “Protocolo de toma de muestra, procesamiento, aislamiento y conservación de cepas de *Pythium* y *Phytophthora*” y elaboración de “Protocolo de pruebas de patogenicidad para *Pythium* y *Phytophthora*”.
- Apoyo técnico al proyecto “DETECCION Y CARACTERIZACION DE ESPECIES DE OOMYCETOS ASOCIADOS A CULTIVOS DE EXPORTACION EN LA REGION CENTRAL DE GUATEMALA”, tanto en la fase de campo como en la fase de laboratorio.
- Realización de diagnósticos fitopatológicos de muestras ingresadas al CDP-FAUSAC y provenientes de usuarios particulares y de estudiantes que realizaron en ese período su EPS, como apoyo a su trabajo en campo.
- Elaboración de logotipo del CDP-FAUSAC.

Estas actividades fueron realizadas en campo, durante los muestreos realizados en el área central, que comprende los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez y Chimaltenango, así como en las instalaciones del CDP-FAUSAC, en el Campus Universitario, zona 12.

### **3.2 SERVICIO No. 1: PROTOCOLOS DE MUESTREO, PROCESAMIENTO DE MUESTRA, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN, DETERMINACIÓN DE PATOGENICIDAD Y CONSERVACIÓN DE CEPAS DE *PYTHIUM* Y *PHYTOPHTHORA***

#### **3.2.1 OBJETIVOS**

- General:

Desarrollar un protocolo para el muestreo, aislamiento, identificación, determinación de patogenicidad y conservación de cepas de *Pythium* y *Phytophthora*.

- Específicos
  - Definir detalladamente cada fase del proceso de determinación de presencia de *Pythium* y *Phytophthora*.
  - Adaptar los métodos y procedimientos definidos en los protocolos a los recursos disponibles en el proyecto Fodecyt 01-2007 y en el CDP-FAUSAC.
  - Integrar la información obtenida en un documento, que será parte de los manuales de procedimiento del CDP-FAUSAC.

#### **3.2.2 METODOLOGÍA**

1. Se reunió toda la información disponible acerca de procedimientos y técnicas para el correcto muestreo, procesamiento y conservación de oomicetos, particularmente para *Pythium* y *Phytophthora*, patógenos en raíces y tallos, a través de consultas bibliográficas, consultas a especialistas nacionales e internacionales y consultas en línea, a través del servicio de Internet.
2. Como parte del Proyecto de la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI), se contó con la participación del equipo de fitopatólogos de la Universidad Politécnica de Valencia, quienes capacitaron a los miembros del equipo en cuanto a las técnicas y procedimientos de procesamiento de muestras, desde la colecta de las mismas hasta las pruebas de patogenicidad,

por lo que estas horas de entrenamiento sirvieron de base para el establecimiento del protocolo final.

3. Con las técnicas e información ya definidas, se procedió a adaptarlas a las condiciones y recursos con que cuenta el proyecto y el CDP-FAUSAC, en cuanto a procedimientos, instalaciones, reactivos, medios de cultivo, equipo necesario, etc.
4. Se culminó esta actividad con el desarrollo del protocolo final, compilando todas las etapas del proceso y detallando cada una de ellas para que, finalmente, el documento quedara como parte de los procedimientos del laboratorio CDP-FAUSAC, siguiendo las normas establecidas para la organización y desarrollo de protocolos de diagnóstico fitopatológico, según la FAO.

### **3.2.3 RESULTADOS**

#### **Protocolo de determinación, aislamiento y conservación de *Pythium* y *Phytophthora*, a partir de tejido vegetal y suelo.**

##### **1. Introducción**

El presente documento está elaborado con el fin de lograr la correcta identificación, aislamiento y conservación de los organismos pertenecientes a los géneros *Pythium* y *Phytophthora*, así como determinar, cuando sea necesario, su patogenicidad, a través de las pruebas o test de patogenicidad.

Los procedimientos describen el adecuado procesamiento de las muestras desde que ingresan al laboratorio de diagnóstico hasta llegar a la conservación de cepas puras y en algunos casos, a la práctica de bioensayos para confirmar la patogenicidad de los mismos.

Esta recopilación de metodologías está sujeta a variaciones según las necesidades del investigador así como a correcciones por personal especializado.

## 2. Objetivo

Lograr la estandarización de procedimientos y metodologías para la adecuada identificación, aislamiento y conservación de organismos patógenos de los géneros *Pythium* y *Phytophthora*.

## 3. Información sobre los agentes fitopatógenos.

El Phylum Oomycota, perteneciente al reino Cromista, comprende más de 700 especies, las cuales no tienen pigmentos fotosintéticos, poseen dos flagelos en las zoosporas, los gametos masculinos poseen paredes formadas por celulosa o polímeros similares a celulosa y que tienen hábitos acuáticos y terrestres, aunque siempre necesitan la presencia de agua.

Como aspectos generales, este filo engloba especies tanto saprófitas como parásitas, muy vinculadas al medio acuoso. Como parásitos actúan contra animales acuáticos y plantas. Presentan una gran importancia económica pues engloban a parásitos de plantas vasculares, muchas de ellas de interés agrícola.

La clase Oomycete, donde se ubican *Pythium* y *Phytophthora*, incluye organismos acuáticos y mildius lanosos, posee un micelio no septado y elongado y produce las zoosporas en zoosporangios. Las oosporas o esporas sexuales son producidas por la unión de gametangios morfológicamente distintos llamados anteridios (masculino) y oogonios (femeninos).

### ***Pythium***

El género *Pythium* presenta características distintivas, y al ser un organismo acuático cuenta con estructuras muy bien desarrolladas que determinan su identificación. Las hifas de *Pythium* son hialinas y tienden a ser de 5-7 micras de diámetro y ocasionalmente mayores de 10 micras y sin septos. Los esporangios son esporas asexuales producidos en diversidad de formas (filamentosas, filamentosas infladas, globosas y esféricas) y tamaños, dependiendo de las especies.

El micelio da origen al esporangio, el cual germina directamente y desarrolla uno o varios tubos germinales o hifas cortas, al final de las cuales se forman estructuras esféricas, que son esporangios secundarios, llamados vesículas. En la vesícula se generan 100 o más zoosporas, las que germinan a través de un tubo germinativo. Este

tubo usualmente penetra el tejido de la planta hospedera y empieza una nueva infección o produce otra vesícula con nuevas zoosporas.

Las oosporas son resistentes a condiciones de temperaturas y humedad adversas, y aseguran la sobrevivencia en la etapa de latencia del organismo. La oospora germina de manera similar que el esporangio, y esta germinación está determinada por la temperatura; temperaturas sobre los 18° C favorecen la emergencia de tubos germinativos, mientras que temperaturas entre 10° C y 18° C favorecen la formación de zoosporas.

Diversas especies de *Pythium* causan damping-off pre y post emergente. Ciertamente otros oomycetos y hongos como *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Fusarium* pueden presentar síntomas similares, e inclusive bacterias. Sin embargo *Pythium* produce un micelio blanco de rápido crecimiento. Las especies de *Pythium* se desarrollan en aguas superficiales y suelos de todo el mundo. Ellas viven en plantas muertas y en restos animales como saprofitas o como parásitas de raíces fibrosas de plantas. El patógeno necesita de agua corriente para que las zoosporas nadan e infecten otras plantas. Cuando un sustrato húmedo está infectado por *Pythium*, cualquier semilla o plántula joven está expuesta al ataque de este agente patógeno.

### ***Phytophthora***

El nombre *Phytophthora* significa destructor de plantas, y por una buena razón. Las especies de *Phytophthora* son causantes de enfermedades devastadoras en muchas variedades de plantas, desde especies de vegetales anuales, ornamentales hasta especies arbóreas y frutales.

Más de 80 especies de *Phytophthora* han sido descritas como patógenas en plantas desde de Bary (1876), quien estableció el género con *P. infestans*.

Las características comunes en especies de *Phytophthora* incluyen hifas no septadas con constricciones delgadas en la base del ángulo recto de las ramificaciones, sus esporangios son ovoides de piriforme a limoniforme, producidas en sucesión, con zoosporas biflageladas laterales dentro del esporangio; con oogonio globoso y con oosporas esféricas e individuales.

El micelio de *Phytophthora* produce esporangióforos ramificados que generan esporangios en forma de limón en las puntas. En los lugares donde los esporangios se producen, los esporangióforos forman inflamaciones, y ésta es una característica distintiva de este oomyceto. La germinación de los esporangios produce de 3 a 8 zoosporas a temperaturas arriba de 12 o 15 °C, y sobre los 15° C los esporangios germinan directamente produciendo un tubo germinal.

#### 4. Información Taxonómica. (Según Taxa of Life)

##### *Pythium*

REINO	Cromista
GRUPO	Stramenopile
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Peronosporales
GENERO	<i>Pythium</i>

##### *Phytophthora*

REINO	Cromista
GRUPO	Stramenophyle
PHYLUM	Oomycota
CLASE	Oomycete
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Peronosporales
GENERO	<i>Phytophthora</i>



## 5. Detección en Campo.

### ***Pythium***

*Pythium* es un parásito facultativo, es decir, que puede desarrollarse en muchos individuos, materia orgánica, incluyendo medios de cultivo selectivos. Es uno de los responsables más comunes de pudrición en semillas, decaimiento en semilleros o almácigos (damping-off), y pudrición de raíces en muchas plantas de importancia, así como ablandamiento en tallos y frutos que están en contacto con el suelo. Esta sintomatología en las plantas ocurre en todo el mundo, en valles, bosques, en el trópico y en temperaturas templadas, incluyendo invernaderos. La enfermedad afecta semillas, semilleros y raíces de plantas. Sus efectos varían considerablemente por la humedad del suelo y por la temperatura, entre otros factores. Muy frecuentemente, los semilleros son completamente destruidos por damping-off o mueren prematuramente después de ser trasplantadas las plántulas. Las plantas adultas desarrollan lesiones en la raíz y el tallo y pudriciones de raíz, su crecimiento se ve retrasado considerablemente y las cosechas reducidas considerablemente.

Cuando las semillas o plantas susceptibles son sembradas en sustratos contaminados y son atacadas por estos patógenos, no hay germinación, se tornan suaves y cremosas y de color marrón y finalmente se desintegran.

Los almácigos pueden ser atacados después de la emergencia de las plántulas en cualquier lugar de la planta y la infección se dispersa rápidamente, las células invadidas colapsan y los semilleros finalmente mueren.

Las semillas que han logrado emerger, por otra parte, son usualmente atacadas en su sistema radical o en la base del tallo. Las áreas invadidas se tornan acuosas y sin color y pronto colapsan. La base del tallo se torna muy suave y muy delgada, y como resultado, la planta se dobla hacia abajo.

Cuando *Pythium* entra en contacto con semillas o plántulas, entra a ellas por penetración directa. Enzimas pectinolíticas secretadas por él, disuelven las pectinas que mantienen las células de los tejidos de las plantas unidas, con el resultado de la maceración de los tejidos. Este oomyceto crece entre células y dentro de ellas. Enzimas proteolíticas rompen los protoplastos de las células para luego desintegrar sus paredes de celulosa. Finalmente, semillas y plántulas mueren, convirtiéndose en una

masa de raíces y tejidos. Cuando el daño es a nivel de la base del tallo, el daño avanza hasta hacer caer la plántula y morir.

Cuando la infección ocurre al estar la planta ya desarrollada, con paredes endurecidas y células lignificadas, el avance del patógeno es frenado en el punto de infección, y solo desarrolla una lesión menor. Las raíces de las plantas pueden ser afectadas en cualquier etapa del desarrollo de la planta. El patógeno ingresa por las raicillas y las colapsa. En raíces principales daña a nivel superficial.

*Pythium* puede infectar frutos carnosos y otros órganos en el campo, en almacenamiento, en tránsito y en el mercado. Las infecciones inician cuando hay contacto del fruto con suelo húmedo infectado con el oomyceto o con otro fruto contaminado. Las enzimas secretadas por este patógeno maceran los tejidos, volviéndose acuosos y suaves. Mientras la enfermedad avanza, los esporangios comienzan a aparecer, seguidos por la producción de oosporas, dentro y fuera del tejido del hospedero, o ambos.

En plantas ya desarrolladas el damping-off por oomycetos puede matar el sistema radical o inducir lesiones en raíz y tallo, y además dañar órganos que estén en contacto con el suelo, como frutos, tubérculos, vainas, etc., siendo el síntoma más común el desarrollo de un crecimiento algodonoso en la superficie del órgano, mientras su interior se torna suave, acuoso y cremoso.

Las enfermedades y pérdidas causadas por *Pythium* son más severas cuando el suelo es mantenido saturado por períodos prolongados, cuando la temperatura es desfavorable para la planta, cuando hay exceso de nitrógeno en el suelo o por el monocultivismo prolongado.

### ***Phytophthora***

Muchas especies de *Phytophthora* están relacionadas con daños causados a raíces, damping-off en almácigos y pudriciones en la base de los tallos y tubérculos, similares a los causados por *Pythium spp.* Otras causan pudriciones en brotes o frutos, y daños en el follaje, ramas jóvenes y frutos. Algunas especies atacan solamente uno o dos

hospederos y otras causan síntomas similares a un rango muy amplio de plantas hospederas. Entre ellas podemos mencionar *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cinnamoni*, *P. citrophthora*, etc. Todas estas especies pueden causar pudriciones primarias en raíces y base del tallo, pero algunas producen tumores, pudriciones en frutales, ornamentales, etc.

Las pérdidas causadas por las pudriciones de raíces y tallos son considerables, especialmente en árboles y arbustos. En muchos casos, sin embargo, el patógeno no es detectado ni identificado a tiempo. Las plantas infectadas muestran al principio síntomas de sequía y falta de nutrientes, se debilitan y quedan expuestas al ataque de otros patógenos.

Estos daños pueden observarse en cualquier parte del planeta en donde el suelo pueda inundarse y se mantengan temperaturas entre los 15 y 23 ° C.

Plantas anuales y plántulas de árboles pueden morir por estas enfermedades en unos cuantos días, semanas o meses. En algunos casos, este oomiceto causa daños parciales o totales a los frutos en pimientos, cucurbitáceas, tomate, fresa, cítricos, cacao, aguacate, entre otras.

En árboles adultos, la muerte de raíces puede ser rápida o lenta, dependiendo de la cantidad de patógenos presentes en el suelo y de las condiciones ambientales. Como resultado muestran escaso follaje, amarillo y muy corto y muerte de ramas. Pueden presentar pudriciones en forma de anillo, pudrición en la base del tallo y pudrición de raíces y tallos, el crecimiento se retrasa y finalmente mueren.

En todos los hospederos afectados por *Phytophthora* que presentan pudrición de raíces, muchas de las raicillas están muertas mientras que las raíces primarias muestran lesiones necróticas oscuras. En plantas grandes o árboles, el área infectada y oscura puede convertirse en una llaga y de allí dispersarse en toda la planta.

*Phytophthora* es capaz de sobrevivir crudos inviernos y cálidos veranos a través de oosporas y clamidosporas y micelio en partes de plantas. En primavera estos patógenos germinan y producen zoosporas. Las zoosporas nadan en el suelo saturado y llegan a las raíces de las plantas.

Los síntomas en el campo inician con manchas de salpicadura en las hojas bajas. En climas húmedos, las manchas se agrandan y forman lesiones marrón. Se da el crecimiento de micelio lanoso de 3-5 mm. Luego, toda la hoja está infectada. Si el clima húmedo persiste, colapsan las raíces, tallos y en días o a lo sumo semanas, la planta muere. En clima seco, la enfermedad se frena o se detiene, pero el patógeno se encuentra latente.

Al afectar tubérculos, los vuelve acuosos y suaves, púrpuras o marrones, y la pudrición continúa aún después de cosechado. Otros agentes pueden aparecer, como hongos secundarios y bacterias, causando un olor ofensivo.

## 6. Materiales

Para lograr la identificación, aislamiento y purificación de especímenes de *Pythium* y *Phytophthora*, se hacen necesarios los siguientes materiales:

- Estereomicroscopio
- Microscopio
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Agujas de disección
- Hojas de Gillette o bisturí
- Gotero con lactofenol azul
- Gotero con lactofenol claro
- Gotero con agua
- Cajas de camisas plásticas
- Cajas petri de vidrio o de plástico
- Bolsas de polietileno
- Frascos de vidrio
- Hipoclorito de Sodio al 1%
- Alcohol al 95%.
- Medio de cultivo PDA

- Medio de cultivo PARPBH
- Medio de cultivo Agar V-8
- Medio de cultivo V-8 Avena
- Sustrato esteril (Peat mose)
- Cinta Parafilm
- Semillas de *Cannabis* sp.
- Viales autoclaveables

## 7. Identificación.

Para lograr la correcta identificación del daño ocasionado por los géneros *Pythium* y *Phytophthora* en muestras vegetales y de suelo se hace necesaria la observación acuciosa para la detección de síntomas y/o signos.

Por tratarse de enfermedades localizadas generalmente en el sistema radical y partes basales del tallo, se deberá hacer énfasis en la observación de esas áreas, tomando en cuenta: pudriciones, ahorcamientos de tallo, pobre o nulo desarrollo radical, lesiones en raíz y raicillas, y a nivel foliar muertes descendentes y lesiones en flores y frutos.

Ya detectada la sintomatología se procede a identificar la muestra, si es de suelo, de tallos, de raíces, etc. con un correlativo particular. Las raíces y raicillas deberán ser colocadas en cámara húmeda, en agua o en solución de suelo.

### 7.1 Procesamiento de las muestras.

- A partir de Suelo

-Se separa la raíz del suelo sobre papel periódico inmediatamente que ingresa la muestra al laboratorio, se obtienen las raicillas y se separan.

-Una vez separado el suelo de la raíz, éste se reserva en una bolsa plástica, debidamente identificada con los datos procedentes del campo, para posteriormente extraer *Phytophthora* y *Pythium*.

- A partir de Tejidos vegetales (Raíces y tallos)

1. Se lavan las plantas primero con agua corriente y luego con agua destilada, con el fin de eliminar completamente cualquier residuo de suelo que se encuentre en las raíces.
2. Se deja secar sobre papel absorbente por 30 minutos, para posteriormente extraer *Phytophthora* y *Pythium*.

## 7.2 Técnicas de aislamiento de *Pythium* y *Phytophthora*.

- A partir de suelo.

### a) Técnica del cultivo trampa.

La fruta utilizada para hacer el aislamiento de *Pythium* y *Phytophthora* fue manzana verde o amarilla porque reúne las condiciones necesarias para el desarrollo del oomiceto.

1. Se utilizan frutas de manzana verde maduras
2. Se lavan y desinfectan con alcohol al 75%
3. Se le hacen de 3 a 4 perforaciones con ayuda de un sacabocados. No se desecha la porción de fruta retirada.
4. Se toman 5 g de suelo (con una espátula pequeña) y se inoculan en manzanas amarillas o verdes (una manzana por muestra) en pequeñas perforaciones en la fruta, (1x1 cm.) y con una profundidad de 1.5 cm.
5. Se hidratan con agua destilada y sellan con el trozo de fruta que se retiró y se cubren con cinta adhesiva.
6. Se identifica la manzana con el código de cada muestra y se deja a temperatura ambiente y a las 36-48 horas pueden verse las lesiones ocasionadas por oomicetos en la pulpa de la fruta.
7. A continuación se colocan de 5 a 7 porciones de pulpa de manzana con área de avance de la colonización en medio selectivo PARPB.
8. Se obtienen colonias de *Pythium* y *Phytophthora* al reaislarlas en medio PDA, colocando un disco de 5 mm en la parte central de la placa con el

objeto de observar y documentar los patrones de crecimiento característico de cada especie: petaloide, rosáceo, radiado, estolonífero, etc. Simultáneamente se realizan siembras en agar V8, para estimular la producción de estructuras sexuales y asexuales.

9. *Pythium* y *Phytophthora*, son muy sensibles a los cambios de temperatura, por lo tanto los aislamientos no deben mantenerse a temperaturas menores de 24° y no mayores de 30° C, aunque hay especies que deben mantenerse a temperaturas menores para un mejor desarrollo.

#### b) Técnica de solución de extracto de suelo

Esta técnica se utiliza para obtener estructuras reproductivas, como los esporangios. Se depositan semillas de la manzana colonizada, que presenten micelio, y así hacer un análisis preliminar del agente presente.

1. Se pesan 50 g de suelo y se mezclan con 500 cc de agua.
2. Se deja por 24 horas reposando la solución.
3. Se toman 100 cc de la solución y se afora a 1000 cc con agua destilada
4. Se esteriliza en autoclave por 20 minutos a 15 psi
5. La solución se deja enfriar y está lista para utilizar.
6. Para provocar desarrollo de esporangios, se colocan en una caja de Petri 10 cc de la solución y se depositan en ella las semillas con micelio de *Pythium* y *Phytophthora*, provenientes de las manzanas inoculadas con suelo o raíces y que dieron positivo.

Se identifican las cajas y se dejan en incubadora a 23° C. El micelio crece en el término de 24-48 hrs.

- A partir de Tejido Vegetal.

a) Cámara húmeda.

Se trata de colocar los tallos, raíces, frutos o cualquier estructura de la planta que pueda presentar síntomas o signos de la enfermedad en contenedores de plástico o vidrio transparentes (cajas plásticas, bolsas plásticas, cajas de Petrí, etc.) perfectamente limpios y desinfectados, en cuya base se coloca papel absorbente humedecido con agua destilada, para proporcionar las condiciones ideales para el desarrollo de estructuras observables del posible agente patogénico.

b) Raíces en agua.

Se lavarán las raíces y raicillas con abundante agua corriente, cuidando de no estropear la muestra. Ya limpias, se cortarán en trozos de 3mm y se colocarán en cajas de Petrí con una base de agua destilada, que cubra una buena parte de ellas.

c) Solución de suelo.

Se elaborará una solución de suelo, colocando 50 g de suelo en 1000 cc de agua por una noche. Luego se tomará la solución flotante y se esterilizará en autoclave por 20 minutos. En esta solución podrán colocarse trocitos de tejido afectado, ya sea de tallo, frutos, o cualquier estructura que presente área de avance de la enfermedad previamente desinfectados con alcohol al 70% y agua estéril y esperar que el posible agente patógeno desarrolle estructuras y empiece a colonizar.

d) Técnica de Cultivo Trampa.

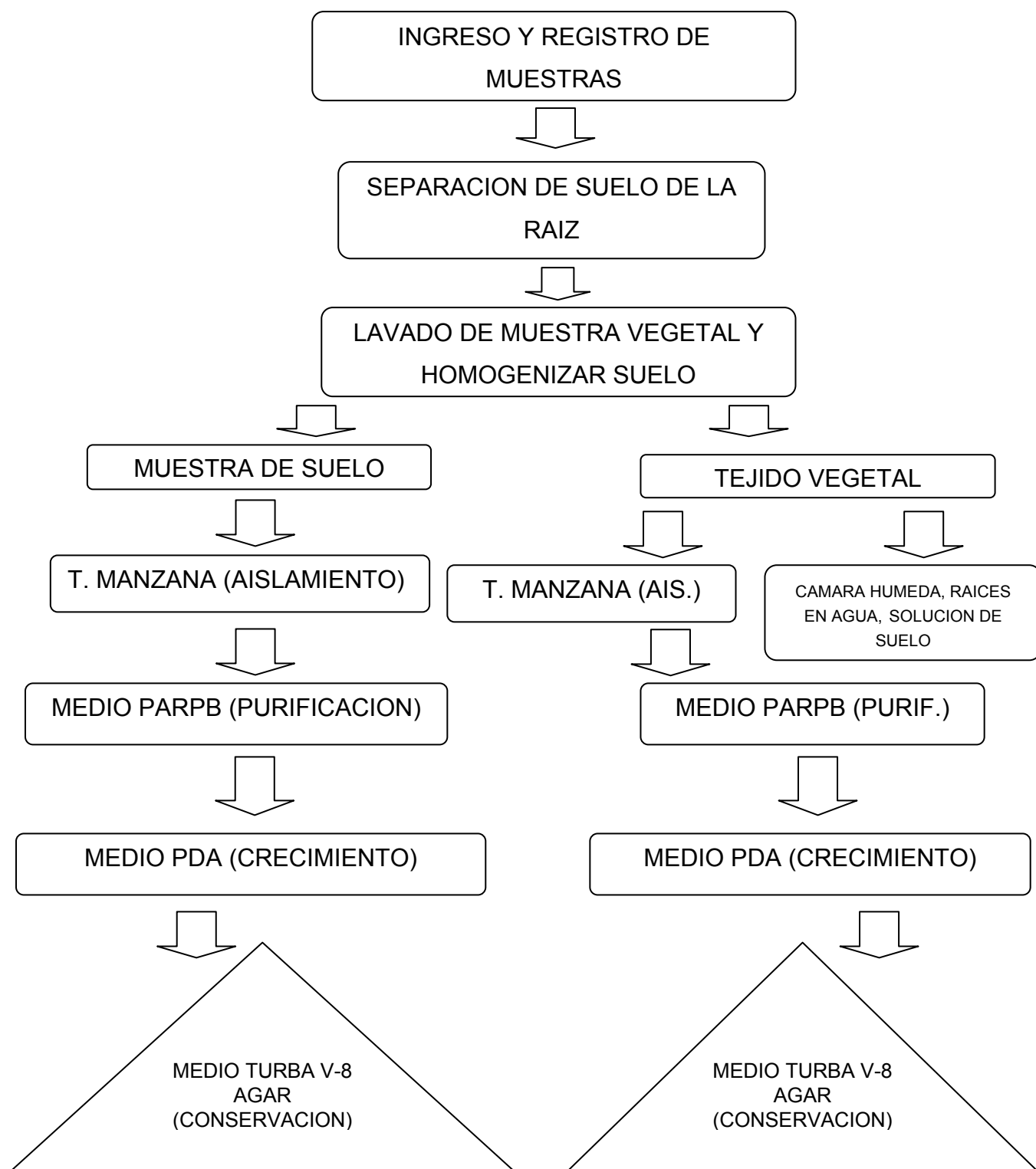
1. Se lava la muestra colectada.
2. Seguidamente se detecta la zona de avance de la enfermedad.
3. Se toman trozos de aproximadamente de 5 x 5 mm.
4. Se desinfectan los fragmentos de tejido vegetal con etanol al 95% por 20 seg.
5. Se secan los fragmentos en papel absorbente por 30 minutos.
6. El tejido vegetal infectado se inserta en manzanas verdes o amarillas (utilizando la técnica de la manzana, descrita en el inciso 7.2 , a partir de suelo), elaborando para ello incisiones que se ajusten al tamaño de los fragmentos.



7. A las 24-48 horas se observaron lesiones en la fruta ocasionados por la colonización de *Pythium* o *Phytophthora*.

A continuación se colocaron de 5 a 7 porciones de pulpa de manzana con área de avance de la colonización en medio selectivo PARPB. Para obtener colonias puras de *Pythium* y *Phytophthora*, procedentes tanto de suelo como de tejido vegetal, se reaislan en medio PDA, colocando un disco de 5 mm en la parte central de la placa de PDA con el objeto de observar y documentar los patrones de crecimiento característico de cada especie.

**DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCESAMIENTO, AISLAMIENTO, PURIFICACION Y CONSERVACION DE *Pythium* y *Phytophthora*.**



**Figura 42:** Diagrama de flujo de procesamiento de muestras para análisis de Oomicetos.  
Fuente: L. Reyes.

Medios de Cultivo utilizados para aislar y purificar *Pythium* y *Phytophthora*.

A. Caldo de papa agarizado y glucosado (PDA)

39 grs. De PDA

1000 ml de agua

Disolver el medio en el agua en un recipiente resistente apto para autoclave. Esterilizar por 15 min. En campana de flujo laminar llenar con el medio las cajas Petri para posteriormente realizar la siembra. Se puede modificar agregando PCNB para evitar contaminación.

B. Agar- guisante

100 g. de guisantes en conserva

20 gr. de agar-agar

1000 ml de agua

Escurrir los guisantes y hacerlos puré. Calentar con 300 ml de agua por 5-7 min. Evitando la ebullición, removiendo continuamente. Dejar reposar y filtrar por muselina o tamiz fino el sobrenadante. Repetir la operación y ajustar hasta 1000 ml y llevar a pH 5.5. El filtrado puede congelarse por 5 meses.

C. Medio de caldo agarizado de patata y zanahoria (PZA)

20 gr., de papa

20 gr. de zanahoria

15 gr. de agar

1000 ml de agua

Es un medio excelente para aislar *Pythium*. Las papas y zanahorias se pelan y se cortan en rodajas, se cocinan a ebullición durante 10 min. En un litro de agua. Filtrar el caldo y enrasar hasta el volumen proporcional del peso de tubérculos y raíces cocidos.

D. Medio agarizado del jugo o zumo V-8 (V-8 agar)

200 ml de V-8 Jugo Vegetal

3 gr. de carbonato de calcio

20 gr. de agar

Agua hasta 1000 ml

Se utiliza para aislar *Phytophthora* y para la producción de esporocitos y zoosporas en especies del género. Filtrar por muselina fina la cantidad deseada según la fórmula.

Clarificar con un segundo filtrado a través de algodón hidrófilo. (En este caso el algodón deberá ser escurrido con la mano, pues empapa una importante cantidad de líquido. Aforar al volumen de un litro con agua. Añadir los otros ingredientes y esterilizar.

E. Medio agarizado de harina de avena.

40 gr. de hojuelas de avena

15 gr. de agar

1000 ml de agua

Es muy utilizado para la taxonomía de *Pythium* y *Phytophthora*. Calentar las hojuelas de avena en 1000 ml de agua por 30-45 min. Debe removerse para evitar la ebullición

(o a Baño de María por 2 hrs.) Filtrar por muselina sucesivas veces para clarificar el líquido. Enrasar con agua hasta 1000 ml. Agregar 1 garbanzo por caja Petri.

#### F. Cornmeal Agar.

19 g de cornmeal agar (Diffco)

1000 ml de agua destilada

Mezclar los ingredientes hasta homogeneizar. Llevar a autoclave y esterilizar durante 15 min a 125 ° C.

#### G. PARPBH

(CMA+PIMARICINA+AMPICILINA+RIFAMPICINA+PCNB+BENOMILO+HYMEXAZOL)

CMA	1 l
Pimaricina	0.4 ml
Ampicilina	0.150g
Rifampicina	0.01 g
PCNB	0.1 g
Benomilo	0.2 g
Hymexazol	0.069 ml

Al momento de agregar los antibióticos el medio CMA deberá estar a una temperatura no mayor de 40 0C, pues los antibióticos y fungicidas utilizados son termolábiles. Los reactivos deberán agregarse en el orden establecido. El PCNB y benomilo deberán ser disueltos previamente en 10 cc de etanol al 95% y 10 cc de agua destilada. Luego colocar el medio de cultivo selectivo en cajas de Petri.

H. Agar V-8 Avena.

20 g de avena instantánea molida

20 g de agar

300 ml de jugo V-8

Mezclar los ingredientes hasta homogeneizar. Llevar a autoclave y esterilizar durante 15 min a 125 ° C.

7.3 Pruebas de patogenicidad.

#### INTRODUCCION.

Como parte de los procedimientos y métodos que se tienen contemplados en este protocolo, se incluyen las pruebas de patogenicidad. Estas se deben realizar cuando no se cuente con las condiciones necesarias básicas para llegar a determinar la patogenicidad en campo, es decir, cuando no se esté seguro que el agente causal de la sintomatología es el patógeno que aislamos. Este procedimiento consta de varias etapas:

- a. Obtención de plantas sanas y libres de contaminantes.
- b. Obtención del inóculo (Cepa aislada y purificada).
- c. Inoculación del aislado a la planta.
- d. Observación de Resultados.
- e. Reaislamiento.
- f. Conclusiones.

## MATERIALES.

Para realizar el bioensayo se utiliza manzanas verdes, cajas plásticas transparentes, cajas de Petri de 90 mm x 15 mm , agua destilada, bandejas piloneras de plástico, macetas de ½ galón (14 cm. De diámetro), sustrato estéril para germinación, sustrato estéril para trasplante, medios de cultivo selectivo (PARPBH) y general (PDA; V-8), cinta adhesiva transparente, bolsas plásticas de 2 libras para colecta de muestras, cinta selladora Parafilm, hielera, regadera y cámara fotográfica.

## METODOS.

### a. Obtención de plantas sanas y libres de contaminantes.

Esta etapa se lleva a cabo según el cultivo que estemos trabajando. No podemos utilizar plántulas comerciales, porque no estamos seguros de su inocuidad. Por lo tanto se hace necesario obtener las plantas libres de cualquier agente patógeno ni en el suelo ni en la planta. Las obtendremos a partir de semillas o esquejes. Tanto las semillas como los esquejes deberán ser colocadas en bandejas piloneras con sustrato estéril y regadas con agua pura esterilizada. Las plantas estarán listas para ser inoculadas cuando tengan desarrolladas sus dos hojas verdaderas.

### b. Obtención del inóculo (Cepa aislada y purificada).

1. Con el suelo proveniente de plantas o viveros con presencia de *Pythium*, basados en la sintomatología procedemos a preparar las muestras.
2. Se homogeniza el sustrato, para proceder a la inoculación.
3. Utilizando la metodología del cultivo trampa, se colocaron porciones de sustrato en orificios hechos en la manzana verde, hidratados con agua destilada y sellados con cinta adhesiva; claramente identificados.
4. Se colocan todas las manzanas inoculadas en cajas plásticas a temperatura ambiente, y bajo constante observación.
5. A los 2-4 días se observan lesiones de color marrón en el tejido de la manzana circundando los orificios con sustrato.

6. Se parte cada manzana en trozos y se toman porciones del área de avance de la lesión, colocándolas en medio de cultivo semiselectivo PARPB. (3, 22, 26)
7. Se observan las placas cada 24 horas.
8. Al desarrollar micelio, se trasladan de la placa madre de PARPB al medio Agar V-8 Avena. (Anexo 11.2)
9. Se procede a inocular el aislamiento a plantas sanas.

c. Inoculación del aislado a la planta.

Ya enraizadas las plántulas, se extraen de las bandejas y se colocan en macetas conteniendo sustrato estéril (turba + vermiculita) y cada inóculo de *Pythium* en agar V-8 Avena, cortados en pequeños trozos. Se evalúan 10 inoculados y 10 sin inoculación, que sirven de testigos. Se colocan las macetas y se riegan con agua destilada 2 veces al día a capacidad de campo.

d. Observación de Resultados.

Se evalúa el desarrollo final de las plántulas a 20 días de la inoculación según la severidad del daño ocasionado a nivel radical, o el pobre o ningún desarrollo radical. Principalmente la evaluación es a nivel de raíz y base del tallo.

e. Reaislamiento.

Después de extraídas las plántulas para su evaluación a los 10 días de la inoculación, se procedió a reaislar y purificar el agente patógeno causante del daño de la manera siguiente:

- Utilizando la metodología del cultivo trampa, se colocan porciones de sustrato homogenizado de la rizósfera de la planta, con porciones de raicillas, en orificios hechos en la manzana verde, se hidratan y sellan con cinta adhesiva; claramente identificados.
- Se colocan todas las manzanas inoculadas en cajas plásticas descubiertas y a temperatura ambiente, las cuales se observan cada 24 horas para



establecer el avance de la infección en los puntos de inoculación, y bajo constante observación.

- A los 4 días se observa si hay lesiones de color marrón en el tejido de la manzana circundando los orificios inoculados.
- Se parte la manzana infectada en trozos y se detecta el área de avance de la infección, se colocan porciones de esas lesiones en medio de cultivo semiselectivo PARPBH y se observa su desarrollo cada 24 horas.
- Cuando se obtiene micelio, que en promedio tarda 4 días en desarrollarse, se procede a reaislarlo en medio PDA para estimular su crecimiento.
- Una vez desarrollado el micelio se procede a pasar porciones de PDA con estructuras a Agar V-8 para inducir estructuras sexuales.
- A los 5 días se observa desarrollo de esporangios, se procede a observarlos al microscopio para confirmar que se trata del mismo agente patógeno que causó el daño originalmente.

#### f. Conclusiones.

En base a los resultados obtenidos de las observaciones se determina si el organismo inoculado y posteriormente reaislado es el responsable del daño observado originalmente en la planta.

### **8. Registro.**

Se debe mantener un correcto registro con la información de los patógenos identificados pertenecientes a los géneros *Pythium* y *Phytophthora* para posteriores referencias y para mantener actualizada la base de datos en cuanto a rango de hospedantes, ubicación entre otros aspectos importantes. Este registro debe incluir nombre científico, código de la muestra, la naturaleza del material infestado, su ubicación o procedencia, la descripción de los signos o síntomas, los métodos utilizados en el laboratorio para su identificación, la fecha de colección de la muestra y los medios utilizados para su aislamiento y reconocimiento. Estos registros deben mantenerse por lo menos por 1 año.

## 9. Puntos de referencia para información adicional.

Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, CDPFAUSAC, Campus Universitario, zona 12, Edificio T-8, Tercer nivel, oficina C-15. Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela.

## 10. Referencias.

1. FAO. Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. 2006. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. Protocolos de diagnóstico para las Plagas reglamentadas. 11 p.
2. Agrios, G. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. 922 p.
3. Alvarez, L. Vincent, A. Plant Pathology, 2008. Muerte de árboles cítricos causada por ataques de *Phytophthora citrophthora* a ramas principales. Consultado 8 de abril de 2008. Disponible en: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3059.2007.01702.x>
4. Crop Protection Compendium (CPC) 2007. Edition CAB International.
5. Erwin, D. Ribeiro, O. Phytophthora Diseases Worldwide. 1996. USA. American Phytopathological Society . 456 p.
6. Stamps, D.J. Waterhouse, G. 1990. Revised Tabular Key to the Species of Phytophthora. 1990. England. CAB International.

### 3.2.4 EVALUACION

Se llegaron a cumplir los objetivos en su totalidad, generando un documento que reúne paso a paso, el proceso completo para el tratamiento de muestras con sintomatología de daño ocasionado por *Pythium* y *Phytophthora*. Este documento detalla las diferentes etapas, desde la toma de muestra hasta la conservación del cepario y determinación de la patogenicidad de los agentes.

De suma importancia fue la búsqueda de alternativas y soluciones en cuanto a la disponibilidad de reactivos y equipo específico para el procesamiento de muestras y aislamiento de los patógenos.

Por último, el intercambio de información con el equipo de investigadores de la Universidad Politécnica de Valencia confirmó la validez del protocolo desarrollado, siendo un aval de su aplicabilidad y efectividad.

### **3.3 SERVICIO No. 2: APOYO TÉCNICO AL PROYECTO FODECYT 01-2007, TITULADO “DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE OOMYCETOS ASOCIADOS A CULTIVOS DE EXPORTACIÓN EN LA REGIÓN CENTRAL DE GUATEMALA” USAC-UPV.**

#### **3.3.1 OBJETIVOS**

- Proporcionar al proyecto el apoyo técnico necesario en la parte operacional.
- Coordinar y realizar muestreos, procesamiento de muestras, aislamiento y conservación de cepas de los patógenos detectados, como parte del proyecto.
- Procesar la información obtenida durante las diferentes fases del proyecto.

#### **3.3.2 METODOLOGIA**

- Con base a los protocolos elaborados previamente sobre muestreo, procesamiento de muestras, aislamiento y conservación de cepas de *Pythium* y *Phytophthora*, se procedió a coordinar y llevar a cabo los muestreos en la región central del país, en sectores con cultivos que reportaron la sintomatología típica del ataque de estos patógenos.
- Los departamentos muestreados fueron Guatemala, Chimaltenango y Sacatepéquez. Las muestras fueron tomadas y procesadas como lo indican los protocolos, a través de muestreos dirigidos.
- Se llevó un registro de muestras tomadas y que resultaron positivas, para luego elaborar un listado de patógenos detectados.
- Se realizaron pruebas de patogenicidad para determinar si los agentes detectados y aislados fueron los responsables del daño observado (Postulados de Koch).
- Se participó en la elaboración del informe final presentado conjuntamente con la Universidad Politécnica de Valencia, con los resultados obtenidos.

### 3.3.3 RESULTADOS

En el Cuadro 7 se definen los lugares muestreados, cultivo y agente detectado.

**Cuadro 10:** Listado general de muestreos proyecto FODECYT 01-2007.

LISTADO GENERAL DE MUESTREOS PROYECTO FODECYT 001-2007						
	CORRELATIVO	FECHA	CULTIVO	PROCEDENCIA	DEPARTAMENTO	PATOGENO AISLADO
Pp1	1	13/02/2007	Crisantemo	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	No presentó
Pp2	2	13/02/2007	Crisantemo	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	No presentó
Pp3	3	13/02/2007	Crisantemo	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	No presentó
Pp4	4	13/02/2007	Azucena	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>Pythium ultimum</i>
Pp5	5	13/02/2007	Crisantemo	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	No presentó
Pp6	6	13/02/2007	Crisantemo	Comunidad de Zet, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	No presentó
Pp7	7	15/02/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp8	8	15/02/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp9	9	15/02/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp10	10	12/03/2007	Lirio	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp11	11	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp12	12	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp13	13	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp14	14	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp15	15	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp16	16	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp17	17	12/03/2007	Crisantemo	Sajcavillá, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp18	18	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp19	19	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp20	20	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San	Guatemala	No presentó

				Pedro, San Juan Sacatepequez		
Pp21	21	20/07/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp22	22	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp23	23	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp24	24	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp25	25	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp26	26	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp27	27	20/02/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp28	28	17/07/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp29	29	17/07/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp30	30	17/07/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp31	31	17/07/2007	Crisantemo	Camino de San Pedro, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp32	32	06/03/2007	Rosa	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp33	33	06/03/2007	Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp34	34	06/03/2007	Gladiola	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp35	35	06/03/2007	Rosa	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp36	36	06/03/2007	Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp37	37	06/03/2007	Rosa	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp38	38	06/03/2007	Rosa	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp39	39	06/03/2007	Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp40	40	10/04/2007	Rosa	Los Guamuches, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp41	41	10/04/2007	Rosa	Los Guamuches, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp42	42	10/04/2007	Crisantemo	Los Guamuches, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp43	43	17/04/2007	Crisantemo	El Pilar 1, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó
Pp44	44	17/04/2007	Crisantemo	El Pilar 1, San Juan Sacatepequez	Guatemala	No presentó

Pp45	45	17/04/2007	Gladiola	El Pilar 1, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp46	46	17/04/2007	Gladiola	El Pilar 2, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp47	47	17/04/2007	Crisantemo	El Pilar 2, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp48	48	17/04/2007	Rosa	El Pilar 2, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp49	49	24/04/2007	Rosa	Santa Fe Ocaña, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp50	50	24/04/2007	Rosa	Santa Fe Ocaña, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp51	51	24/04/2007	Rosa	Santa Fe Ocaña, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp52	52	24/04/2007	Rosa	Santa Fe Ocaña, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp53	53	18/05/2007	Crisantemo	Pacajay, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp54	54	18/05/2007	Rosa	Pacajay, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp55	55	18/05/2007	Rosa	Pacajay, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp56	56	18/05/2007	Crisantemo	Pacajay, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp57	57	05/06/2007	Rosa	La Joya, Cruz Blanca, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp58	58	05/06/2007	Rosa	La Joya, Cruz Blanca, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp59	59	12/06/2007	Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Phytophthora tropicalis</i>
Pp60	60	12/06/2007	Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Phytophthora tropicalis</i>
Pp61	61	12/06/2007	Esparrago O.	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium sylvaticum</i> <i>Pythium splendens</i>
Pp62	62	19/07/2007	Rosa	Los Pajoques, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp63	63	19/07/2007	Gladiola	Los Pajoques, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp64	64	19/07/2007	Crisantemo	Los Pajoques, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp65	65	19/07/2007	Gladiola	Los Pajoques, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>No presentó</i>
Pp66	1	15/05/2007	Lechuga	Técpan	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp67	2	15/05/2007	papa	Técpan	Chimaltenango	<i>No presentó</i>
Pp68	3	15/05/2007	Güicoy	Técpan	Chimaltenango	<i>No presentó</i>
Pp69	4	15/05/2007	Arveja china	Técpan	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp70	5	15/05/2007	Haba	Técpan	Chimaltenango	<i>No presentó</i>
Pp71	6	12/06/2007	Repollo	Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp72	7	12/06/2007	Lechuga	Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp73	8	12/06/2007	Brocolí	Saragoza	Chimaltenango	<i>No presentó</i>

Pp74	9	12/06/2007	Brocolí	Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium cucurbitaciarum</i> <i>Pythium amazonianum</i>
Pp75	10	12/06/2007	Frijol ejotero	Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp76	11	12/06/2007	Guicoy	Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp77	12	12/06/2007	Papa	Saragoza	Chimaltenango	No Presentó
Pp78	13	12/06/2007	Brocolí	Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp79	14	12/06/2007	Arveja china	Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp80	15	12/06/2007	Arveja china	Saragoza	Chimaltenango	No Presentó
Pp81	16	12/06/2007	Papa	Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp82	17	19/06/2007	Repollo	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp83	18	19/06/2007	Lechuga	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp84	19	19/06/2007	Brocoli	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp85	20	19/06/2007	Brocoli	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp86	21	19/06/2007	Frijol	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp87	22	19/06/2007	Guicoy	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp88	23	19/06/2007	Papa	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp89	24	19/06/2007	Arveja china	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp90	25	19/06/2007	Arveja china	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp91	26	19/06/2007	Papa	Tululchè Saragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp92	27	24/06/2007	Arveja china	Párramos	Chimaltenango	No presentó
Pp93	28	24/06/2007	Tomate	Párramos	Chimaltenango	No presentó
Pp94	29	24/06/2007	Miltomate	Párramos	Chimaltenango	No presentó
Pp95	30	27/06/2007	Lechuga	Valle de Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp96	31	27/06/2007	Lechuga	Valle de Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp97	32	27/06/2007	Lechuga	Valle de Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp98	33	27/06/2007	Ejote	Valle de Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp99	34	27/06/2007	Ejote	Valle de Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp100	35	27/06/2007	Ejote	Valle de Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp101	36	27/06/2007	Ejote	Valle de Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp102	37	01/07/2007	Chile Pimiento	El Tejar	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp103	38	01/07/2007	Chile Pimiento	El Tejar	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp104	39	01/07/2007	Chile Pimiento	El Tejar	Chimaltenango	No Presentó
Pp105	40	01/07/2007	Chile Pimiento	El Tejar	Chimaltenango	No Presentó
Pp106	41	01/07/2007	Chile Pimiento	El Tejar	Chimaltenango	No presentó
Pp107	42	01/07/2007	Brocoli	Santa Cruz Balanya	Chimaltenango	No presentó
Pp108	43	01/07/2007	Brocoli	Santa Cruz Balanya	Chimaltenango	No presentó
Pp109	44 (p6p1)	04/07/2007	Fresa	Rincon	Chimaltenango	No Presentó
Pp110	45(p6p2)	04/07/2007	Fresa	Rincon	Chimaltenango	<i>Phytophthora sp.</i>
Pp111	46 (p6p3)	04/07/2007	Fresa	Rincon	Chimaltenango	No Presentó
Pp112	47 (p6p4)	04/07/2007	Fresa	Rincon	Chimaltenango	No Presentó
Pp113	48(p7p1)	04/07/2007	Lechuga	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp114	49(p7p2)	04/07/2007	Zanahoria	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp115	50 (p7p3)	04/07/2007	Zanahoria	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp116	51 (p7p4)	04/07/2007	Frijol	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp117	52 (p7p5)	04/07/2007	Zanahoria	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp118	53 (p7p6)	04/07/2007	Zanahoria	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp119	54 (31)	05/07/2007	Chile Pimiento	El tejar	Chimaltenango	<i>Pythium sp.</i> <i>Phytophthora capsici</i>
Pp120	55 (32)	05/07/2007	Tomate	El tejar	Chimaltenango	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Pp121	56 (33)	17/07/2007	Brócoli	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp122	57 (34)	17/07/2007	Repollo	Patzicia	Chimaltenango	No presentó



Pp123	58 (35)	17/07/2007	Haba	Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp124	59(36)	17/07/2007	Papa	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp125	60 (37)	17/07/2007	Fríjol	Choyoc	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp126	61 (38)	17/07/2007	Chile Pimiento	Sumpango	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp127	62	01/07/2007	Guicoy	Tecpán	Chimaltenango	No presentó
Pp128	63	01/07/2007	Arveja china	Tecpán	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp129	64	01/07/2007	Lechuga	Tecpán	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp130	65	01/07/2007	Lechuga	Tecpán	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp131	66	01/07/2007	Brocoli	Tecpán	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp132	67	01/07/2007	Papa	Tecpán	Chimaltenango	No Presentó
Pp133	68	19/08/2007	Repollo	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp134	69	19/08/2007	Lechuga	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp135	70	19/08/2007	Brocoli	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp136	71	19/08/2007	Brocoli	Zaragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp137	72	19/08/2007	Repollo	Zaragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp138	73	19/08/2007	Repollo	Zaragoza	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp139	74	19/08/2007	Lechuga	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp140	75	19/08/2007	Lechuga	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp141	76	21/08/2007	Arveja china	Comalapa	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp142	77	21/08/2007	Arveja china	Comalapa	Chimaltenango	<i>Pythium</i>
Pp143	78	21/08/2007	Chile Pimiento	Comalapa	Chimaltenango	<i>Pythium sp,</i> <i>Phytophthora</i> <i>capsici</i>
Pp144	79	21/08/2007	Chile Pimiento	Comalapa	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp145	80	21/08/2007	Haba	Comalapa	Chimaltenango	No Presentó
Pp146	81	21/08/2007	Haba	Comalapa	Chimaltenango	No Presentó
Pp147	82	04/08/2007	Zanahoria	Santa Cruz Balanyá	Chimaltenango	No Presentó
Pp148	83	04/08/2007	Zanahoria	Santa Cruz Balanyá	Chimaltenango	No Presentó
Pp149	84	04/08/2007	Lechuga	Santa Cruz Balanyá	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp150	85	04/08/2007	Lechuga	Santa Cruz Balanyá	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp151	86	04/08/2007	Brócoli	Santa Cruz Balanyá	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp152	87	11/09/2007	Lechuga	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp153	88	11/09/2007	Arveja China	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp154	89	11/09/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp155	90	11/09/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp156	91	11/09/2007	Fríjol	Parramos	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp157	92	11/09/2007	Fríjol	Parramos	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp158	93	26/09/2007	Lechuga	Tecpán	Chimaltenango	No Presentó
Pp159	94	26/09/2007	Lechuga	Tecpán	Chimaltenango	No Presentó
Pp160	95	26/09/2007	Lechuga	Tecpán	Chimaltenango	No Presentó
Pp161	96	26/09/2007	Papa	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp162	97	26/09/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp163	98	26/09/2007	Repollo	Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp164	99	26/09/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp165	100	09/10/2007	Repollo	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp166	101	09/10/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp167	102	09/10/2007	Brocoli	Patzicia	Chimaltenango	<i>Pythium sp</i>
Pp168	103	09/10/2007	Brócoli	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp169	104	09/10/2007	Repollo	Patzicia	Chimaltenango	No Presentó
Pp170	105	09/10/2007	Papa	Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp171	106	09/10/2007	Cebolla	Patzicia	Chimaltenango	No presentó
Pp172	107	09/10/2007	Tomate	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp173	108	27/10/2007	Chile Pimiento	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp174	109	27/10/2007	Tomate	Zaragoza	Chimaltenango	No presentó
Pp175	1	04/07/2007	Miltomate	Santa Maria Cauque, Sacatepéquez	Sacatepéquez	<i>Pythium</i>
Pp176	2	17/07/2007	Chile Pimiento	Sumpango	Sacatepéquez	no mandaron resultados
Pp177	3	06/07/2007	Piña	Jocotillo, Villa Canales	Guatemala	no mandaron resultados
Pp178	4	06-0-07	Piña	Jocotillo, Villa Canales	Guatemala	no mandaron resultados
Pp179	5	18/09/2007	Zucchini	Parramos	Chimaltenango	<i>P. parasitica</i>

Pp180	6	25/10/2007	Guayaba	Taxisco	Santa Rosa	<i>P. parasitica</i>
Pp181	7	23/10/2007	Aguacate	Villa Nueva	Guatemala	<i>P. cinnamomi</i>
Pp182	8	29/10/2007	Aguacate	Godínez	Solola	<i>P. cinnamomi</i>
Pp183	9	29/10/2007	Aguacate	Huehuetenango	Huehuetenango	<i>P. cinnamomi</i>
Pp184	10	10/01/2008	Aguacate	San Raymundo	Guatemala	<i>P. cinnamomi</i>
Pp185	11	02/04/2008	Michelia	USAC	Guatemala	<i>Phytophthora</i> <i>sp.</i>
Pp186	12	03/07/2007	-P2z42 repollo	Almolonga	Quetzaltenango	<i>No presento</i>
Pp187	13	03/07/2007	-P1z41 lechuga	Almolonga	Quetzaltenango	<i>Contaminado</i>
Pp188	14	03/07/2007	-PO4E Lechuga	Almolonga	Quetzaltenango	<i>Pythium</i> <i>ultimum</i>
Pp189	15	03/07/2007	Ejote	Almolonga	Quetzaltenango	<i>No presento</i>
Pp190	1	03/07/2007	Crisantemo planta grande	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>sp.</i>
Pp191	2	03/07/2007	P4P6 Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>sp.</i>
Pp192	3	03/07/2007	p4p7 (2) Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>sp.</i>
Pp193	4	03/07/2007	P4P7 (3)Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>sp.</i>
Pp194	5	03/07/2007	P4P10 Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>no presento</i>
Pp195	6	03/07/2007	cacao 2	Bulbuya Chicacao	Suchitepequez	<i>P. palmivora</i>
Pp196	7	03/07/2007	cacao 3	Bulbuya Chicacao	Suchitepequez	<i>P. palmivora</i>
Pp197	8	06/07/2007	Limón Persa 1	Agrovenetto, Guazacapán	Santa Rosa	<i>P. parasitica</i>
Pp198	9	06/07/2007	Limón Persa 2	Agrovenetto, Guazacapán	Santa Rosa	<i>P. palmivora</i>
Pp199	10	06/07/2007	cebolla PO2E	Almolonga	Quetzaltenango	<i>Pythium</i> <i>amazonianum</i> <i>Pythium</i> <i>cucurbitacearu</i> <i>m</i>
Pp200	11	03/07/2007	Rosa P1P2 (1)	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp201	12	03/07/2007	P2P1Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp202	13	03/07/2007	P2P1 (2)Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp203	14	03/07/2007	P2P3(1)Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp204	15	03/07/2007	P2P3(2)Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp205	16	09/07/2007	Potos 1	Guatemala	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp206	17	09/07/2007	Potos 2	Guatemala	Guatemala	<i>P. capcisi</i>
Pp207	18	06/02/2007	Chile serrano 1a	Pueblo Nuevo Viñas	Santa Rosa	<i>P. capcisi</i>
Pp208	19	06/02/2007	Chile serrano 1b	Pueblo Nuevo Viñas	Santa Rosa	<i>P. tropicalis</i>
Pp209	20	06/02/2007	Chile serrano 4	Pueblo Nuevo Viñas	Santa Rosa	<i>Pythium</i> <i>cucurbitacearu</i> <i>m</i> <i>Pythium</i> <i>amazonianum</i>
Pp210	21	03/07/2007	Esparrago ornamental	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>sylvaticum</i>
Pp211	22	03/07/2007	P3P1bEsparr ago Or.	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium</i> <i>splendens</i>

Pp212	23	03/07/2007	P3P2cEsparrago Or.	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium splendens</i>
Pp213	24	03/07/2007	P3P1(1)Esparrago Or.	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium splendens</i>
Pp214	25	03/07/2007	P3P1(2)Esparrago Or.	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium splendens</i>
Pp215	26	04/07/2007	Arveja 78 a	Paramos	Chimaltenango	Contaminado
Pp216	27	04/07/2007	Arveja 78 b	Paramos	Chimaltenango	Contaminado
Pp217	28	04/07/2007	Arveja 78 c	Paramos	Chimaltenango	Contaminado
Pp218	29	14/06/2007	Palo Blanco 1a	Malacatan	San Marcos	<i>Phytophthora parasitica</i>
Pp219	30	14/06/2007	Palo Blanco 1b	Malacatan	San Marcos	<i>Phytophthora parasitica</i>
Pp220	31	14/06/2007	Palo Blanco 4	Malacatan	San Marcos	no presente
Pp221	32	14/06/2007	Palo Blanco 96a	Malacatan	San Marcos	<i>Phytophthora parasitica</i>
Pp222	33	14/06/2007	Palo Blanco 96b	Malacatan	San Marcos	<i>Phytophthora parasitica</i>
Pp223	34	14/06/2007	aguacate	Sololá	Sololá	no presente
Pp224	35	30/04/2007	aguacate	Jacaltenango	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp225	36	30/04/2007	aguacate 2	Jacaltenango	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp226	37	30/04/2007	aguacate 3	Jacaltenango	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp227	38	30/04/2007	aguacate	ENCA , Villa Nueva	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp228	39	30/04/2007	aguacate	ENCA , Villa Nueva	Guatemala	<i>Pythium sp.</i>
Pp229	40	30/04/2007	aguacate	San Martin Jilotepeque	Chimaltenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp230	41	30/04/2007	aguacate	San Martin Jilotepeque	Chimaltenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp231	42	30/04/2007	aguacate	San Martin Jilotepeque	Chimaltenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp232	43	30/04/2007	aguacate	San Martin Jilotepeque	Chimaltenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp233	44	30/04/2007	aguacate	El Piol, San Sebastian	Huehuetenango	<i>P. cinnamomi</i>
Pp234	45	30/04/2007	aguacate	El Piol, San Sebastian	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp235	46	30/04/2007	aguacate	El Piol, San Sebastian	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp236	47	30/04/2007	aguacate	El Piol, San Sebastian	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp237	48	30/04/2007	aguacate	El Piol, San Sebastian	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp238	49	30/04/2007	aguacate	Chirijuyu, Tukurú	Alta Verapaz	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Pp239	1	03/07/2007	Lechuga	Alomolonga	Quetzaltenango	<i>Pythium ultimum</i>
Pp240	2	30/04/2007	aguacate	Huehuetenango	Huehuetenango	<i>Pythium sp.</i>
Pp241	4	05/06/2007	Rosa	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Phytophthora tropicalis</i>
Pp242	6	30/04/2007	aguacate	San Martin Jilotepeque	Chimaltenango	
Pp243	7	03/07/2007	86 (1) espárrago ornamental	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium splendens/Pythium sylvaticum</i>
Pp244	8	03/07/2007	86 (4) espárrago ornamental	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium splendens/Pythium sylvaticum</i>
Pp245	9	03/07/2007	-P4P6 (2) Crisantemo	Cruz Verde, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Pythium ultimum</i>
Pp246	16	15/05/2007	-78 arveja china	Parramos	Chimaltenango	contaminado
Pp247	17	12/03/2007	Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	no presente
Pp248	18	20/02/2007	-P1P1 (2) rosa	Loma Alta, San Juan Sacatepequez	Guatemala	<i>Phytophthora tropicalis</i>

Pp249	19	03/07/2007	P3P1Esparra go	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>Pythium splendens/Pythi um sylvaticum</i>
Pp250	1	13/09/2007	Limon Galvez 1	Fca. Bulbuxya	Suchitepéquez	<i>Pythium cucurbitacearu m</i>
Pp251	2	13/09/2007	Limon Galvez 2	Fca. Bulbuxya	Suchitepéquez	<i>no presento</i>
Pp252	3	13/09/2007	Palo Blanco 1	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp253	4	13/09/2007	Palo Blanco 2	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp254	5	13/09/2007	Palo Blanco 3	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp255	6	13/09/2007	Palo Blanco 4	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp256	7	13/09/2007	Palo Blanco Vivero 1	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp257	8	13/09/2007	Palo Blanco Vivero 2	Escuintla	Escuintla	<i>P. parasitica</i>
Pp258	9	13/09/2007	Aguacate Kelder 1	Flores	Petén	<i>no presento</i>
Pp259	10	13/09/2007	Aguacate Kelder 2	Flores	Petén	<i>no presento</i>
Pp260	11	13/09/2007	Café Barillas (Suelo) 1	Fca. Sabana Grande	Escuintla	<i>Pythium splendens</i>
Pp261	12	13/09/2007	Café Barillas (Suelo) 2	Fca. Sabana Grande	Escuintla	<i>Pythium amazonianum</i>
Pp262	13	13/09/2007	Café BarillasPlanta 1	Fca. Sabana Grande	Escuintla	<i>no presento</i>
Pp263	14	13/09/2007	Café Barillas Planta 2	Fca. Sabana Grande	Escuintla	<i>no presento</i>
Pp264	15	13/09/2007	Leather Leaf Chicacao	Chilasco	Baja Verapaz	<i>Pythium amazonianum</i>
Pp265	16	13/09/2007	Pony C1	Peten	Petén	<i>Pythium cucurbitacearu m</i>
Pp266	17	13/09/2007	Pony C2	Peten	Petén	<i>no presento</i>
Pp267	18	13/09/2007	Pony B3	Peten	Petén	<i>no presento</i>
Pp268	19	13/09/2007	Sheflera 1	Ciudad Capital	Guatemala	<i>Pythium amazonianum</i>
Pp269	20	13/09/2007	Sheflera 2	Ciudad Capital	Guatemala	<i>Pythium amazonianum</i>
Pp270	1	13/09/2007	Suelo Clavel 1	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp271	2	13/09/2007	Suelo Clavel 2	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp272	3	13/09/2007	Suelo Clavel 3	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp273	4	13/09/2007	Suelo Clavel Don Catarino	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp274	5	13/09/2007	Gladiola Catarino	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>no presento</i>
Pp275	6	13/09/2007	Crisantemo	Loma Alta, San Juan Sacatepéquez	Guatemala	<i>no presento</i>
Pp276	7	13/09/2007	Peperomia	Ciudad Capital	Guatemala	<i>P. tropicalis</i>
Pp277	1	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>Pythium sp.</i>
Pp278	2	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>Pythium sp.</i>
Pp279	3	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>no presento</i>
Pp280	4	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>no presento</i>
Pp281	5	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>no presento</i>
Pp282	6	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>no presento</i>
Pp283	7	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>P. cinnamomi</i>
Pp284	8	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>P. cinnamomi</i>
Pp285	9	13/09/2007	Aguacate	Chiarmira	Sololá	<i>P. cinnamomi</i>
Pp286	10	13/09/2007	Aguacate	Chacaya	Sololá	<i>Pythium splendens</i>
Pp287	11	13/09/2007	Aguacate	Chacaya	Sololá	<i>no presento</i>
Pp288	12	13/09/2007	Aguacate	Chacaya	Sololá	<i>no presento</i>
Pp289	13	13/09/2007	Aguacate	Chacaya	Sololá	<i>no presento</i>

### **3.3.4 EVALUACIÓN**

Se cumplieron a cabalidad los objetivos propuestos, pues a través de los muestreos y procesamiento de muestras se generó información en un listado de 289 muestras, georeferenciadas e identificadas.

Además de ello se elaboró un cepario de 42 colonias distintas tanto de *Pythium* como de *Phytophthora*.

Por último, se colaboró con la elaboración del informe final del proyecto, presentado en abril de 2008, por parte de los investigadores responsables: Ing. Agr. Gustavo Álvarez, Ing. Agr. Ramiro López e Ing. Agr. Amílcar Sánchez, por lo que este objetivo también fue cumplido.

**3.4 SERVICIO No. 3: DIAGNÓSTICOS FITOPATOLÓGICOS DE MUESTRAS DE SUELO Y PLANTA INGRESADAS EN EL CDP-FAUSAC, PROVENIENTES DE USUARIOS PARTICULARES Y DE ESTUDIANTES DE EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO (EPS), DURANTE LOS MESES COMPRENDIDOS DE FEBRERO A NOVIEMBRE DE 2007.**

**3.4.1 OBJETIVOS**

- General

Ejecutar el servicio de diagnóstico parasitológico en el CDP-FAUSAC, tanto a usuarios particulares como a estudiantes de EPS, durante los meses de febrero a noviembre de 2007.

- Específicos

1. Realizar los diagnósticos y preparar los informes de resultados a los usuarios.
2. Proporcionar apoyo a los estudiantes de EPS en diagnóstico parasitológico.
3. Llevar el registro de ingreso de muestras en los libros de ingresos del CDP-FAUSAC.

**3.4.2 METODOLOGÍA**

Tanto para usuarios particulares como estudiantes de EPS, se siguió el procedimiento respectivo de ingreso, procesamiento de muestras establecido en los manuales de procedimiento del laboratorio del CDP-FAUSAC, que se resumen de la siguiente manera:

- a. Recepción de muestra, llenado de boleta y registro de datos en los libros.
- b. Procesamiento de muestra, según determine que análisis se necesita, y según la naturaleza de la muestra, si de planta o suelo, iniciando con la observación detallada de la muestra para verificar síntomas y/o signos, seguido de la observación bajo estereoscopio, para luego

elaborar montajes (si procede hacerlos) o la colocación de las muestras en cámara húmeda, para posteriores observaciones.

- c. Observación de estructuras de crecimiento o reproductivas del agente encontrado y en base a ellas y con el auxilio de las claves de identificación llegar a un diagnóstico final.
- d. Elaboración de informe de resultados en que se detalló el cultivo dañado, sintomatología, observaciones e identificación del agente patógeno responsable del daño.

### **3.4.3 RESULTADOS**

Como resultado de la actividad realizada, se efectuaron diagnósticos a 43 usuarios particulares, en diferentes cultivos, así como el apoyo que se les dio a 14 estudiantes de Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), quienes llevaron o enviaron sus muestras, de hortalizas, frutales y ornamentales en su mayoría, habiéndolas procesado y emitido informes de resultados.

### **3.4.4 EVALUACION**

La actividad cumplió con su cometido, pues se realizaron diagnósticos y recomendaciones tanto a particulares como a los estudiantes de EPS, a quienes se les apoyó a lograr soluciones a problemas encontrados en las comunidades donde efectuaron las prácticas, quedando como constancia los informes de resultados respectivos. Todo ello como parte de las actividades que cotidianamente se realizan en el CDP-FAUSAC, llevando el correspondiente registro tanto escrito como fotográfico.

### **3.5 SERVICIO No. 4: CREACIÓN DE LOGOTIPO PARA EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**

#### **3.5.1 OBJETIVOS**

- General

Contribuir a mejorar la imagen del CDP-FAUSAC a través de la modificación del logotipo que lo identifica.

- Específicos
  - a. Desarrollar un logotipo que identifique al CDP-FAUSAC.
  - b. Implementar este logotipo en panfletos, trifoliales, afiches, boletas de ingreso, papel membretado, etc.

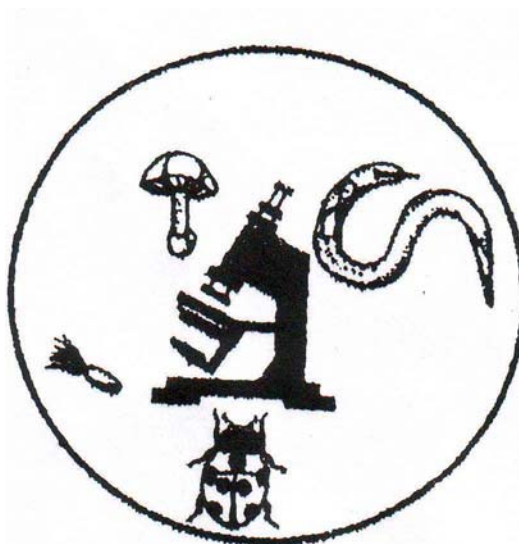
#### **3.5.2 METODOLOGIA**

- Tomando en cuenta todos los servicios que ofrece el CDP-FAUSAC, se unificaron criterios para plasmarlos en un grafismo que reflejara la naturaleza de las actividades realizadas en este laboratorio.
- Se integró, en una sola imagen, los distintos análisis realizados, en un concepto global.
- Se implementó el nuevo logotipo en la propuesta de boleta de ingreso y en la propuesta de trifoliar, realizadas por el resto del equipo de trabajo.



### 3.5.3 RESULTADOS

El logotipo anterior presentaba elementos aislados, sin una composición definida y sin identificar la actividad del CDP-FAUSAC, como se observa en la figura 44.



**Figura 43:** Logotipo utilizado anteriormente en el CDP-FAUSAC. Fuente: L. Reyes.

En el logotipo creado se incluyeron las actividades que realiza el CDP-FAUSAC, con análisis de hongos, bacterias, nemátodos, insectos y malezas. Se encerraron en una sola imagen, pues en el logotipo anterior se presentaban todos los elementos desintegrados, y la idea de un logotipo es presentar una composición, agradable a la vista y que integre un concepto general.

En las Figuras 45 y 46 se puede ver el logotipo en sus dos etapas de modificación.



Figura 44: Logotipo CDP-FAUSAC modificado. Fuente: L. Reyes.

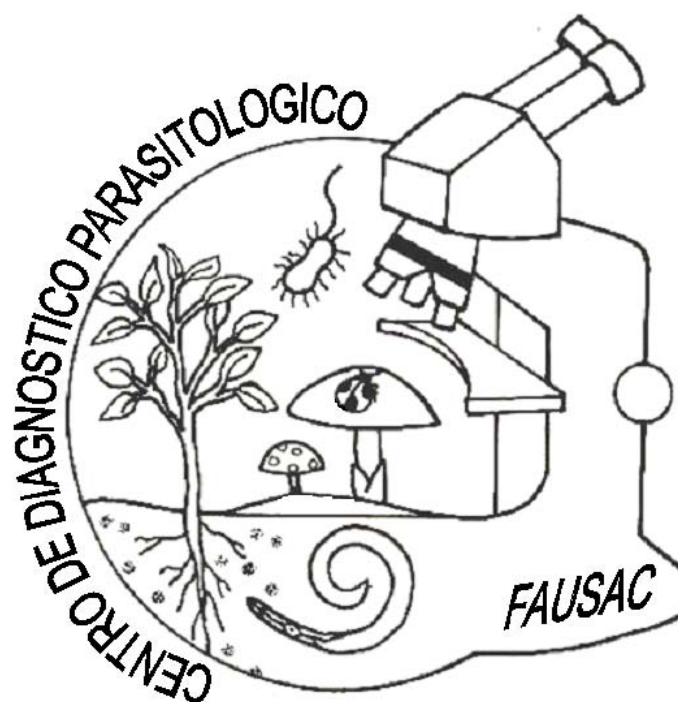


Figura 45: Logotipo del CDP-FAUSAC modificado. Fuente: L. Reyes.

### **3.5.4 EVALUACIÓN**

Se logró desarrollar una imagen gráfica que integra todos los servicios que presta el CDP-FAUSAC: análisis de hongos, nemátodos, bacterias, malezas e insectos. Se implementará su uso en la impresión de las próximas boletas de ingreso, boletas de pago, así como en hojas membretadas y panfletos.