

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS**

**BIOPROSPECCIÓN DE *Phytophthora* sp. ASOCIADO A ESPECIES FORESTALES DE  
IMPORTANCIA ECONÓMICA EN FASE DE VIVERO EN LA REGIÓN CENTRAL DE  
GUATEMALA, C. A.**

**TESIS**

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

**POR**

**MARÍA DEL CARMEN SANTOS BRAVO**

**En el acto de investidura como**

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**EN**

**RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**EN EL GRADO ACADÉMICO DE**

**LICENCIADA**

**GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2011**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**RECTOR MAGNÍFICO**

**LIC. CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA**

DECANO	Dr.	Lauriano Figueroa Quiñonez
VOCAL I	Dr.	Ariel Abderramán Ortíz López
VOCAL II	Ing. Agr. Msc.	Mario Barrientos García
VOCAL III	Ing. Agr. Msc.	Oscar René Leiva Ruano
VOCAL IV	Br.	Lorena Carolina Flores Pineda
VOCAL V	P. Agr.	Josué Antonio Martínez Roque
SECRETARIO	Ing. Agr.	Carlos Roberto Echeverría Escobedo

**Guatemala, noviembre de 2011**

Guatemala, noviembre de 2011

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

Distinguidos 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 tesis titulado:

**BIOPROSPECCIÓN DE *Phytophthora* sp. ASOCIADO A ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN FASE DE VIVERO EN LA REGIÓN CENTRAL DE GUATEMALA, C. A.**

Presentado como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Recursos Naturales Renovables, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que la presente investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo de ustedes,

Atentamente,

***"ID Y ENSEÑAD A TODOS"***

**MARÍA DEL CARMEN SANTOS BRAVO**

## ACTO QUE DEDICO

A:

**DIOS:** Por la vida y su infinito amor al iluminar mi camino con sabiduría para culminar mis sueños.

**VIRGEN SANTA  
LUCÍA:**

Por protegerme con su manto celestial y sus múltiples bendiciones.

**MIS PADRES:**

**Braulio Santos y Mayra Bravo de Santos.**

Las palabras quedan cortas, para agradecer su sacrificio y esfuerzo, quiero que sientan que el objetivo logrado también es de ustedes ya que la fuerza que me ayudo a conseguirlo fue su amor incondicional. Los amo!

**MIS HERMANAS:**

**Mayra Lucía, Karla Elizabeth y Susan Gabriela.** Por compartir mis sueños y estar en cada etapa de mi vida y que esta meta alcanzada sea un estímulo para lograr sus ideales. Las adoro.

**MIS ABUELITOS:**

**Carlos Santos (+) y Socorro Orozco.** Por su cariño y apoyo. Especialmente a mis papitos **Armando Bravo y Elizabeth Koppel de Bravo**, ángeles que con dulzura me enseñaron a conducir mi vida para ser una persona de bien.

**FAMILIA RABANALES**

**BRAVO:**

Por abrirme las puertas de su hogar y de su corazón, brindándome la oportunidad de superarme. Que Dios les bendiga.

**MIS TIOS:**

Por su cariño y sabios consejos.

**MIS PRIMOS:**

Con cariño, que este éxito sea una motivación para alcanzar sus metas.

**MI CUÑADO:**

**Josué Godínez**, por su ayuda desinteresada y cariño.

**MIS SOBRINOS:**

**Ana Jimena y Andréa Sebastián.** Que con su ternura e inocencia han llenado de tanta alegría nuestras vidas.

**MI NOVIO:**

**Julio Manuel Navarro**, por su amor, comprensión y apoyo incondicional durante este proceso de mi formación estudiantil.

**AMIGOS Y AMIGAS:**

Porque no hay tesoro más grande que contar con buenos amigos, gracias a su apoyo, compañía, buenos consejos y por estar siempre con una palabra de aliento cuando los he necesitado.

## **TESIS QUE DEDICO**

**A:**

**DIOS**

**VIRGEN SANTA LUCÍA**

**MI PATRIA GUATEMALA**

**MI BELLO VALLE DE LA ESMERALDA**

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**MIS DOCENTES**

**MI FAMILIA**

## AGRADECIMIENTOS

**Mi asesor** Ing. Agr. Gustavo Álvarez, a quien debo agradecer de manera especial y sincera por aceptarme bajo su dirección. Por su apoyo, aliento, confianza y estímulo en mi trabajo; y su capacidad para guiar mis ideas, que ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. *“El valor de un maestro se mide por la personalidad de sus discípulos”.*

**Facultad de Agronomía y cuerpo docente.** *“Tratad de ser maestro antes que profesor. Profesores hay muchos; basta tener buena memoria, un poco de método en la exposición y saber unir lo útil a lo agradable. El Maestro es más que eso, es aquel que se da por completo a los alumnos, que no conoce egoísmos y enseña todo lo que sabe; así, solamente, dejará discípulos dignos de él. Es como un árbol que se juzga por la buena calidad de sus frutos”.* Especialmente a Ing. Agr. Darwin González e Ing. Agr. Carlos González, por sus sabios consejos, brindarme su apoyo y confianza.

**Mis evaluadores** Ing. Agr. Oscar Medinilla, Ing. Agr. Roderico Estrada, Ing. Agr. Boris Méndez e Ing. Agr. Mario Alberto Méndez, por las observaciones pertinentes y aportes brindados en la mejora del presente documento.

Agradezco de manera especial al Ing. Agr. Francisco Vásquez e Ing. Agr. Edwin Cano, por permitir que esta tesis se desarrollará en el marco de un proyecto de investigación, en asocio con la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología.

A la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología, por impulsar el desarrollo del país por medio de la investigación. En especial al personal del departamento técnico y financiero, por su valiosa asesoría en la ejecución del proyecto de investigación.

Amigo y compañero de Línea de investigación Proyecto FODECYT 076-2009, Ing. Agr. Roni Mijangos Chex, por su valiosa amistad y apoyo brindado en cada una de las etapas de ejecución del proyecto.

De igual forma a Inga. Agra. Teresa Guerra, por compartir conmigo sus conocimientos y amistad.

Y a todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron en la realización de la presente investigación.

## TABLA DE CONTENIDO

Contenido	Página
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
ÍNDICE DE CUADROS .....	vi
RESUMEN.....	vii
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....</b>	<b>3</b>
<b>3. MARCO TÉORICO.....</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Marco conceptual .....</b>	<b>4</b>
3.1.1. Reino Heterokonta.....	4
<b>3.2. Especies forestales muestreadas .....</b>	<b>12</b>
3.2.1. <i>Pinus maximinoi</i> H. E. Moore (Pino Candelillo) .....	12
3.2.2. <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl (Pino triste) .....	15
3.2.3. <i>Cupressus lusitanica</i> Mill (Ciprés común).....	17
3.2.4. <i>Swietenia humilis</i> (Caoba del sur) .....	19
<b>3.3. Generalidades sobre el mal del talluelo o “Damping off” .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4. La superficie forestal en Guatemala .....</b>	<b>23</b>
<b>3.5. Importancia del sector forestal en Guatemala .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6. Importancia económica de los bosques.....</b>	<b>24</b>
<b>4. MARCO REFERENCIAL.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1. Especies forestales de importancia económica .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2. Áreas bajo estudio.....</b>	<b>26</b>
4.2.1. Departamento de Guatemala .....	27
4.2.2. Departamento de Sacatepéquez.....	28
4.2.3. Departamento de Chimaltenango.....	30
<b>4.3. Especies del género <i>Phytophthora</i> asociadas a especies forestales,         a nivel mundial .....</b>	<b>31</b>
4.3.1. <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands. en viveros forestales de <i>Pinus</i> <i>Radiata</i> .....	31
4.3.2. Pudrición de raíz ocasionada por <i>Phytophthora cinnamomi</i> en <i>Cupressus</i> .....	31

	<b>Página</b>
4.3.3. <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	32
4.3.4. <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands. ....	33
4.3.5. <i>Phytophthora ramorum</i> .....	34
4.3.6. <i>Phytophthora pseudosyringae</i> .....	35
4.3.7. <i>Phytophthora alni</i> subsp. <i>Alni</i> .....	35
4.3.8. <i>Phytophthora pinifolia</i> .....	36
4.3.9. <i>Phytophthora cinnamomi</i> y <i>P. cambivora</i> .....	37
4.3.10. <i>Phytophthora cinnamomi</i> Mortalidad de roble .....	38
4.3.11. <i>Phytophthora cambivora</i> y <i>P. citrícola</i> .....	38
4.3.12. <i>Phytophthora cambivora</i> y <i>P. fragariae</i> . ....	39
4.3.13. <i>Phytophthora ramorum</i> sp. <i>noviembre</i> asociada a la muerte súbita del roble.....	39
4.3.14. Antecedentes de <i>Phytophthora</i> en Guatemala.....	40
4.4. Descripción de especies de <i>Phytophthora</i> posiblemente detectados.....	41
4.4.1. <i>Phytophthora nicotianae</i> Breda de Haan ( <i>P. parasitica</i> ).....	41
4.4.2. <i>Phytophthora palmivora</i> .....	42
4.4.3. <i>Phytophthora syringae</i> .....	42
4.4.4. <i>Phytophthora citrícola</i> .....	43
4.4.5. <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	44
<b>4.5. OBJETIVOS .....</b>	<b>45</b>
4.5.1. Objetivo general .....	45
4.5.2. Objetivos específicos.....	45
<b>4.6. HIPÓTESIS.....</b>	<b>45</b>
<b>4.7. METODOLOGÍA.....</b>	<b>46</b>
4.7.1. Primera fase .....	46
<b>4.8. Segunda fase o de campo.....</b>	<b>48</b>
4.8.1. Toma de muestras.....	48
<b>4.9. Tercera fase o de laboratorio.....</b>	<b>49</b>
4.9.1. Aislamiento a partir de suelo. ....	49
4.9.2. Aislamiento a partir de tejido vegetal.....	53
4.9.3. Purificación de cepas medio de cultivo PDA. ....	54

4.9.4. Re-aislamiento en medio agar V-8 avena .....	54
	<b>Página</b>
<b>4.10. Caracterización de los aislados .....</b>	<b>55</b>
4.10.1. Esporangios <i>Phytophthora</i> .....	55
<b>4.11. Ensayo prueba de patogenicidad.....</b>	<b>61</b>
4.11.1. Obtención y propagación del inoculo de <i>Phytophthora</i> . .....	61
4.11.2. Obtención de plántulas sanas para prueba de patogenicidad .....	61
4.11.3. Cuantificación de la severidad.....	64
4.11.4. Cuantificación de la incidencia .....	65
4.12. Cuarta fase .....	65
4.12.1. Preparación de colecciones (Conservación “ <i>in Vitro</i> ”).....	65
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>67</b>
5.1. Caracterización de cepas de <i>Phytophthora</i> sp. ....	76
5.2. Incidencia y severidad por zonas productoras.....	80
5.2.1. Departamento de Guatemala .....	80
5.2.2. Departamento de Sacatepéquez.....	83
5.2.3. Departamento de Chimaltenango.....	86
5.3. Localización geográfica de <i>Phytophthora</i> sp., asociado a especies forestales en fase de vivero.....	89
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>7. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>93</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>94</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>99</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Árbol y conos de <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore.....	13
Figura 2. Estadios germinación de semillas de <i>Pinus maximinoi</i> H. E. Moore.....	14
Figura 3. Árbol y conos de <i>P. pseudostrobus</i> Lindl.....	15
Figura 4. Estadios germinación de semillas de <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl.....	17
Figura 5. Principales características botánicas de <i>Cupressus lusitánica</i> Mill.....	17
Figura 6. Estadios germinación de semillas <i>Cupressus lusitánica</i> Mill.....	19
Figura 7. Principales características de <i>Swietenia humilis</i> .....	20
Figura 8. Estadios germinación de semillas de <i>Swietenia humilis</i> .....	21
Figura 9. Mapa de la República de Guatemala, al centro la localización de los departamentos que conforman la región central .....	27
Figura 10. Mapa división política del departamento de Guatemala.....	28
Figura 11. Mapa división política del departamento de Sacatepéquez.....	29
Figura 12. Mapa división política del departamento de Chimaltenango.....	31
Figura 13. Muestreo de campo .....	49
Figura 14. Método de aislamiento mediante la técnica “cultivo trampa” .....	51
Figura 15. Siembra en medio selectivo .....	52
Figura 16. Obtención de estructuras reproductivas .....	52
Figura 17. Aislamiento a partir de tejido vegetal .....	54
Figura 18. Diferentes tipos de esporangios de las especies del género <i>Phytophthora</i> .....	56
Figura 19. Morfología del esporangio de <i>Phytophthora</i> .....	58
Figura 20. Caducidad del esporangio de <i>Phytophthora</i> .....	58
Figura 21. Longitud, ausencia y presencia de pedicelo de <i>Phytophthora</i> .....	59
Figura 22. Especificación pictográfica de las características de crecimiento para identificar especies de <i>Phytophthora</i> desarrolladas en medio PDA ....	60
Figura 23. Preparación para la obtención de plántulas para ser utilizadas en pruebas de patogenicidad .....	62
Figura 24. Germinación de semillas de Pino triste ( <i>P. Pseudostrobus</i> Lindl) y Ciprés común ( <i>Cupressus lusitánica</i> Mill).....	62

	<b>Página</b>
Figura 25. Inoculación de cepas de <i>Phytophthora</i> en plántulas sanas .....	63
Figura 26. Escala diagramática utilizada para determinar la severidad de <i>Phytophthora</i> en plántulas de especies forestales .....	64
Figura 27. Conservación de los aislados de <i>Phytophthora</i> , proveniente de cepas aisladas .....	66
Figura 28. Mapa de ubicación del área donde se llevo a cabo la investigación ....	67
Figura 29. Evaluación pruebas de patogenicidad .....	75
Figura 30. Crecimiento de cepas aisladas .....	77
Figura 31. Características esporangios de <i>Phytophthora</i> aislados de especies forestales.....	79
Figura 32. Síntomas en plántulas de Pino candelillo ( <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore), en campo .....	80
Figura 33. Síntomas en plántulas de Caoba del sur ( <i>Swietenia humilis</i> ), en campo. ....	81
Figura 34. Efecto del daño ocasionado por <i>Phytophthora</i> en <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore .....	82
Figura 35. Efecto del daño ocasionado por <i>Phytophthora</i> en el sistema radicular de <i>Swietenia humilis</i> .....	83
Figura 36. Localización de síntomas, asociados con <i>Phytophthora</i> .....	84
Figura 37. Síntomas de <i>Phytophthora</i> , localizados en Ciprés común ( <i>Cupressus lusitanica</i> Mill) .....	84
Figura 38. Evaluación de bioensayo en plántulas de <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore ..	85
Figura 39. Bioensayo en <i>Cupressus lusitánica</i> Mill.....	86
Figura 40. Síntomas asociados con <i>Phytophthora</i> localizados en el departamento de Chimaltenango .....	87
Figura 41. Efecto del daño provocado por <i>Phytophthora</i> en especies forestales ...	88
Figura 42. Mapa Localización con presencia de <i>Phytophthora</i> sp. en el departamento de Guatemala .....	90
Figura 43. Mapa Localización con presencia de <i>Phytophthora</i> sp. en el departamento de Chimaltenango .....	91

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1. Lista de especies forestales de importancia económica.....	25
Cuadro 2. Listado de viveros forestales muestreados. ....	46
Cuadro 3. Viveros forestales localizados por departamento. ....	47
Cuadro 4. Datos de muestreo, procedencia, especie de donde se realizó el aislamiento y coordenadas geográficas .....	68
Cuadro 5. Datos obtenidos a partir de la prueba de patogenicidad, en comparación al tipo de aislamiento (suelo o tejido vegetal) .....	71
Cuadro 6. Listado de cepas patogénicamente positivas aisladas especies forestales .....	76
Cuadro 7. Descripción de las características asexuales de aislados de <i>Phytophthora</i> sp., asociadas a especies forestales .....	78
Cuadro 8. Cuadro resumen de datos de incidencia y severidad para los aislados obtenidos en el departamento de Guatemala .....	82
Cuadro 9. Datos generados a partir del muestreo realizado en el departamento de Sacatepéquez .....	83
Cuadro 10. Cuadro resumen de datos de incidencia y severidad para los aislados obtenidos en el Departamento de Chimaltenango. ....	88
Cuadro 11 A. Directorio de viveros forestales muestreados. ....	105

**BIOPROSPECCIÓN DE *Phytophthora* sp. ASOCIADO A ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN FASE DE VIVERO EN LA REGIÓN CENTRAL DE GUATEMALA, C. A.**

**BIOPROSPECTING *Phytophthora* sp. ASSOCIATED FOREST SPECIES OF THE CURRENT ECONOMIC IMPORTANCE NURCERY IN THE CENTRAL REGION OF GUATEMALA, C. A.**

**RESUMEN**

Los bosques son ecosistemas imprescindibles para la vida, existen prácticas que a lo largo de los años se han llevado a cabo y ponen en riesgo el bosque, tales como: crecimiento poblacional, agricultura migratoria, incendios forestales, extracción ilegal, y el ataque de plagas y enfermedades. Dada la presión socio-económica y ambiental sobre este recurso, se han generado diversos programas gubernamentales y de iniciativa privada de reforestación con fin social, ecológico y de tipo comercial.

Cabe señalar que el material utilizado para la plantación debe tener un manejo preliminar en vivero que garantice las condiciones más favorables para que se adapte a las nuevas características del lugar definitivo de establecimiento.

Estos se ven seriamente afectados por el ataque de plagas y enfermedades, mismos que han formado parte de los ecosistemas forestales, sin embargo cada vez el ataque es más severo y destructor. Como es el caso del Oomiceto *Phytophthora* que a nivel mundial ha alcanzado gran presencia e importancia, debido a que la propagación se ve favorecida al crecer plantas de la misma especie en altas densidades, por lo que poseen un impacto económico importante en la industria de viveros cuando se suman los costos de la destrucción del cultivo, la limpieza y la pérdida en ventas.

A nivel nacional aún no se cuenta con información referente a especies forestales, sin embargo considerando la importancia que posee la cobertura forestal en la región central de Guatemala y ante la presencia de dicho patógeno asociado a cultivos de exportación, se hace necesario realizar

una bioprospección para establecer el asocio y el grado de dispersión en el que se encuentra en cuanto a viveros forestales y en asocio con especies forestales de importancia económica.

Por lo que, el estudio se realizó en la región central de Guatemala, en los departamentos de Sacatepéquez, Chimaltenango y Guatemala. Donde se muestrearon veintitrés viveros municipales y privados.

Se siguió el criterio de asociación de síntomas visibles, donde se obtuvieron sesenta y cuatro muestras, de diez especies forestales Teca (*Tectona grandis*), Cedro (*Cedrela odorata*), Caoba del sur (*Swietenia bumilis*), Pinabete (*Abies guatemalensis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus* Lindl), Pino de costa (*Pinus caribaea* Morelet), Ciprés común (*Cupressus lusitanica*), Matilisguate (*Tabebuia rosea*), Palo blanco (*Cybistax donnell-smithii*).

Los resultados confirmaron la presencia de *Phytophthora* asociada a especies forestales, siendo las especies más susceptibles Caoba del sur, Pino candelillo, Pino triste, Ciprés común. Donde siete cepas resultaron ser patógenas. Por medio de análisis morfométrico, se realizó la posible identificación, detectando las especies *Phytophthora nicotianae* (*Phytophthora parasitica*), *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora siringae*, *Phytophthora citrícola* y *Phytophthora cinnamomi*. Existen diferencias significativas que condujeron a dicha asociación, sin embargo se requiere de caracterización molecular que compruebe dicho supuesto.

Es importante destacar que para fines de investigación, se asocia a *Phytophthora* como agente causal de daño vascular en plántulas forestales, siendo fuente primario de inóculo, poniendo en riesgo el desarrollo de las plántulas en campo definitivo, y con ello la dispersión a otras áreas del país.

## 1 INTRODUCCIÓN

Los viveros forestales se encargan de la producción de árboles en sus primeras etapas para luego ser trasplantados. Las plántulas que se producen a nivel de vivero están amenazadas por diversos factores durante su cultivo, de tipo nutricional, y fitosanitario.

A nivel mundial se reconoce que uno de los más importantes agentes patógenos es conocido como “mal del talluelo” o “damping off”, asociada a Oomycetos (Singleton, L. et al 1992). Bajo esta premisa se planteó realizar la bioprospección en viveros forestales privados y municipales, y establecer la asociación que existe del género *Phytophthora* sp., en relación a la muerte de plántulas en viveros de la región central.

El estudio consistió en establecer la presencia y distribución del género *Phytophthora* sp., asociado a especies forestales de importancia económica en la región central de Guatemala. Se muestrearon veintitrés viveros municipales y privados, distribuidos en la región central que comprende los departamentos de Sacatepéquez, Chimaltenango y Guatemala. Y se extrajeron sesenta y cuatro muestras de las especies: Teca (*Tectona grandis*), Cedro (*Cedrela odorata*), Caoba del sur (*Swietenia bumilis*), Pinabete (*Abies guatemalensis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus*), Pino de costa (*Pinus caribaea*), Ciprés común (*Cupressus lusitanica*).

Donde veintisiete cepas, fueron sometidas a pruebas de patogenicidad, en siete de ellas se confirmó la filiación patogénica a una especie forestal, identificada como causantes de la enfermedad, realizando la comparación con la sintomatología observada en campo y por lo cual fueron objeto de estudio. Siendo las más susceptibles Caoba del sur (*Swietenia bumilis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus*), Ciprés común (*Cupressus lusitanica*). Con ello se comprobó la presencia de *Phytophthora*.

Según análisis morfométrico, haciendo uso de mediciones microscópicas por medio de estructuras de reproducción asexual, se establecieron diferencias en cuanto a la morfología del

esporangio, y según el desarrollo en el patrón de crecimiento, se determino la posible asociación de *P. nicotianae* (*P. parasitica*), *P. palmivora*, *P. silyngae*, *P. citrícola* y *P. cinnamomi*, en especies forestales en la región central.

De esta manera se realiza la primera detección en viveros forestales y denuncia de ser fuente primaria de inóculo. Sin embargo, es necesario confirmar mediante el uso de técnicas alternativas como caracterización molecular.

## 2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Se estima que a nivel de América Latina, Guatemala se ubica dentro los países con mayor riqueza forestal, sin embargo este recurso a lo largo de los años no ha sido aprovechado adecuadamente; colocando en riesgo este recurso y los servicios que de ello se derivan.

Dicha pérdida de área boscosa ha generado en los últimos diez años una serie de programas dedicados a la reforestación, con la participación del sector público y privado, lo cual concientiza el alto valor económico y ambiental que los bosques poseen.

Las plantaciones requieren propagar las especies a plantar en viveros forestales, ya que en gran medida del adecuado manejo depende gran parte del éxito en campo.

Las enfermedades más comunes son causadas por hongos que dañan las semillas, raíces y tallos de las plántulas, el género *Phytophthora sp.*, se le reconoce como uno de los mayores problemas que afectan plántulas a nivel de vivero, relacionado al complejo “mal de talluelo” o “damping off”. Es reconocido a nivel mundial, debido a que su ataque es devastador, posee un amplio rango de hospederos que va desde plantas anuales, ornamentales, especies arbóreas y frutales (Agrios, 2005).

La presente investigación, se propuso basado a la importancia que poseen los bosques y derivado a que en el estudio “Detección y Caracterización de especies de Oomycetes asociados a cultivos de Exportación en el altiplano central de Guatemala”. Destaca la detección de cinco especies de *Phytophthora*; *P. capsici*, *P. palmivora*, *P. cinnamomi*, *P. tropicalis*, *P. parasítica*, asociadas a diversos cultivos y ampliamente distribuidas en las regiones del país.

Con base al antecedente, se realizó la propuesta de investigación, donde se planteó realizar la exploración en la región central de Guatemala, establecer la presencia y asocio a especies forestales de importancia económica.

### 3 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Marco conceptual

##### 3.1.1 Reino Heterokonta

Conocido también como Reino Chromista o Reino Straminopiles, pertenece al Dominio Eukarya, (Holt, 2009).

Este reino incluye algas pardas, diatomeas, oomycetos y protistas con mitocondrias de crestas tubulares y con células cuyos flagelos presentan una especie de pelillos adosados llamados mastigonemas. En general, las paredes celulares de estos seres no presentan quitina ni glucanos.

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 (Agrios, 2005).

##### 3.1.1.1 Phylum Oomycota

Oomycota (*oo-mi-ta-ko*) se deriva de dos raíces griegas que significan huevo (*oario-wápio*) y hongos (*mykes-múkhs*). La referencia es el hábito parecido a un hongo del organismo y su típica reproducción sexual oogonios (Holt, 2009).

Considerados como hongos, los Oomycetos poseen características que no se dan en los hongos verdaderos, sino se asemejan más a ciertos grupos de algas (Hall, 1993). Su pared celular se compone de un 80-90% de polisacáridos, incluyendo microfibrillas de celulosa (los eumicotas carecen de ella), e hidroxiprolina, semejante a las células vegetales. Su ciclo vital es mayoritariamente diploide (a veces poliploide) ya que la meiosis tiene lugar justo en la fase de producción de los gametos. La reproducción sexual es oogámica<sup>1</sup>. La base del flagelo (cinetosoma) presenta una estructura helicoidal. Las crestas mitocondriales son tubulares, como

---

<sup>1</sup> Oogamia se produce cuando, en la reproducción sexual, son los gametos los que intervienen en la fecundación.

las de las células vegetales, y no laminares o en forma de disco, como en los hongos verdaderos; se asemejan más a los ciclos de las plantas superiores. Los esteroides predominantes son colesteroles y fucosteroides, también presentes en algas pardas (Tello, ML, 1998).

Comprende más de 700 especies, las cuales no poseen pigmentos fotosintéticos, están constituidos de dos flagelos en las zoosporas, y los gametos masculinos, con paredes formadas por celulosa o polímeros similares a celulosa, y que tienen hábitos acuáticos y terrestres, aunque continuamente necesitan la presencia de agua (Agrios, 2005).

Según la Organización de Protección de Plantas de Norte América (NAPPO, 2006), menciona como aspectos generales que este filo engloba alrededor de 76 géneros que ocupan nichos ecológicos muy diversos, especies tanto saprófitas como parásitas, muy vinculadas al medio acuoso. Como parásitos actúan en animales acuáticos y plantas. Presentan una gran importancia económica ya que engloban a parásitos de plantas vasculares, muchas de ellas de interés agrícola y forestal.

#### A. Género *Phytophthora*

Según Blackwell E. (1,949) Antony de Bary fue el primer autor que en 1,978 le dio nombre a este género, estableciendo por primera vez el género con *P. infestans* causante del “blight” tardío en la patata, en Europa (1,840).

El nombre *Phytophthora* proviene de dos raíces griegas “*phyton*” que significa planta, y “*phthora*” que significa destrucción (Agrios, 2005). A dicha especie se le atribuye la causa de diversidad de enfermedades en su mayoría devastadoras en numerosas especies de plantas, que van desde semilleros de plantas anuales y ornamentales hasta especies arbóreas y frutales.

Más de 80 especies fueron descritas como patógenas dentro del género, actualmente sólo 40 de estas son admitidas ( Mitchell y Kannwischer-Mitchell, 1992). La mayoría de especies del género *Phytophthora* son patógenos en plantas de todo el mundo. Algunas especies son

patógenas de pocos huéspedes (como *P. infestans*) y otras polífagas (como *P. cinnamomi* ó *P. palmivora*) (Singleton, L. et. al.; Mihail, J.; Rush, C. 1992).

Es un patógeno que habita en el suelo y afecta principalmente las raíces y la base del tallo de la planta, aunque también puede atacar las partes aéreas. Los síntomas iniciales son necrosamiento y pudrición de raíces secundarias y terciarias que son las que se encargan de la absorción de agua, luego se presenta la marchitez de plantas y posteriormente pudrición de frutos, la muerte de la planta es ocasionada por el avance del hongo a través del pedúnculo del fruto, ramas y tallo. Bajo condiciones favorables de temperatura (25 a 28°C) y alta humedad del suelo, la mayoría de las especies el hongo son sumamente agresiva, capaces de destruir campos enteros de los hospedantes. Este hongo sobrevive de un ciclo a otro en el suelo en forma de oosporas. Singleton, L. et al (1992).

#### B. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Phytophthora*, ha sido varias veces estructurada, reubicando desde los taxas más importantes como lo es el reino, donde se le había colocado dentro del súper grupo Heterokonta, anteriormente se ubicaba dentro del reino Fungi. La clasificación que se presenta corresponde a lo citado por Jack R. Holt y Carlos A. Iudica.

PHYLUM Oomycota  
 ORDEN Peronosporales  
 GÉNERO *Phytophthora* ssp.

(Holt, J.R. y Iudica C.A. 2009)

## C. Características morfológicas

### a. Micelio

Poseen un micelio hialino, continuo, de paredes paralelas o irregularmente calibradas, donde pueden observarse abundantes gotas oleaginosas. El micelio es cenocítico, observándose solo raramente la presencia de algunos tabiques que normalmente se encuentran separando las partes viejas carentes de protoplasma.

En medios de cultivo el micelio se presenta aéreo, puede ser marcadamente radiado o ligeramente estrellado, presentándose los bordes de la colonia redondeados o sinuosos y sumergido en el medio siendo precisamente en este último en el que pueden diferenciarse las protuberancias y engrosamientos, más o menos notable. Es capaz de vivir de forma saprófita sobre las partículas de materia orgánica del suelo en ausencia del huésped (Echemedia, 2003).

### b. Reproducción

Las especies del género *Phytophthora* presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas).

#### b.1. Reproducción asexual

El esporangióforos no se diferencia normalmente de las hifas, aunque en algunas ocasiones este puede ser más ancho o delgado que éstas y puede presentar hinchamientos.

La presencia de esporangios es común para todas las especies del género, son incoloros o de color amarillo tenue, y de manera general se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también pueden estar intercalados. El esporangio muchas veces presenta vacuolas y al microscopio se observa un aspecto granuloso en su interior.

Existen factores que afectan la producción y el desarrollo de los esporangios como son: la humedad, la tensión de oxígeno, la luz, la temperatura y la nutrición. La presencia de humedad es fundamental para la formación de esporangios, aunque la cantidad necesaria de la misma varía para cada especie.

En la mayoría de las especies los esporangios se producen más abundantemente en presencia de luz, aunque el efecto de la misma es muy variable, llegando a estimularla en algunos casos e inhibiéndola en otros. El factor temperatura, que como se indicó anteriormente ejerce una gran influencia en el desarrollo vegetativo del hongo, también influye grandemente en el desarrollo y formación del esporangio. La temperatura óptima para la producción de esporangios es diferente y específica para cada especie, por lo que juega un papel destacado en la taxonomía, las mismas están comprendidas entre los 20 y los 28 °C.

Las especies de este género presentan además una forma de germinación directa, en la cual el tubo germinativo se origina, principalmente, a partir de la papila del esporangio, este a su vez puede dar lugar rápidamente al micelio o producir un nuevo esporangio, todo lo cual depende de las condiciones del medio de cultivo.

Las zoosporas son las estructuras primarias que causan una nueva infección de las raíces. Estas esporas pueden nadar cortas distancias en el suelo con elevada humedad, así como también pueden ser transportadas grandes distancias en el agua de irrigación o por las lluvias. Además de esta forma de dispersión las especies de *Phytophthora* pueden dispersarse en la naturaleza por el aire o siendo transportadas por la actividad de los humanos y algunos invertebrados.

Los miembros de este género producen además clamidosporas, las cuales constituyen un órgano de conservación y supervivencia (9). Generalmente son de forma redondeada con una pared bien definida (más de 2 micras de espesor), siendo comúnmente intercalares aunque

también pueden encontrarse en el extremo terminal de la hifa. Al principio las clamidosporas son hialinas, tornándose de un color amarillo o ligeramente marrón con la edad. Es importante señalar que no se forman en todas las especies, por lo cual su presencia es importante para la taxonomía de las mismas.

Las clamidosporas pueden germinar dando lugar a numerosos tubos germinativos o a la producción de esporangios, lo cual dependerá de la cantidad de nutrientes presentes en el medio de cultivo. En cuanto a la influencia de la temperatura se plantea que un rango entre 18 – 30 °C es óptimo para que ocurra la germinación de las clamidosporas, aunque también se ha producido germinación entre 9 –12 °C y a 33 °C. El pH óptimo para que ocurra este proceso está comprendido entre 5 y 7, aunque a valores de pH de 3 y 9 también se ha producido germinación de las clamidosporas (Echemedia, 2003).

Además, es importante mencionar que las clamidosporas que persisten en el suelo constituyen también unidades infectivas.

## b.2. Reproducción sexual.

Los órganos sexuales constituyen el elemento taxonómico más constantes y por tanto son de gran valor en la clasificación de las especies. No todas las especies los producen o se muestran inconstantes en cuanto a su formación, por lo que en algunos casos se requieren medios de cultivo especiales. Incluso en la naturaleza existen casos, como por ejemplo *P. citrophthora*, donde no se ha observado la producción de estos órganos de reproducción.

### b.2.1. Órgano sexual femenino (Oogonio):

Es de forma esférica o ligeramente ahusada, usualmente se encuentra en el ápice de una hifa, aunque también puede aparecer intercalado, separado del resto de la hifa por un grueso tabique. En cultivos jóvenes es hialino pero posteriormente, con el envejecimiento, se torna amarillo o ligeramente marrón. En la mayoría de las especies es suave y puede presentar ligeras protuberancias o verrugas en algunos casos (Echemedia, 2003).

### b.2.2. Órgano sexual masculino (Anteridio):

Presenta una forma variable, puede ser esférico, oval, en forma de clavo o cilíndrico. Observándose de manera habitual solitario, hialino y con una pared externa delgada. Su disposición respecto al oogonio puede ser anfígino o paragino, o ambas a la vez, siendo importante tener en cuenta esta disposición para realizar la clasificación taxonómica de las especies.

### D. Oospora:

Se presenta de manera individual, ocupando relativamente toda la cavidad del oogonio. Su forma es esférica, lisa o moderadamente verrugosa, y su coloración puede ser hialina o ligeramente amarillo oscuro.

Los factores que influyen en la formación de la oospora, están: la tensión de oxígeno y CO<sub>2</sub>, la presencia de luz, la temperatura cuyo óptimo está entre 20- 22 °C, así como también los cultivos asociados de diferentes especies y razas que facilitan la producción de oosporas entre las especies heterotálicas (especies auto estériles). Dentro de las especies heterotálicas se encuentran: *P. cinnamomi*, *P. palmivora*, *P. citrophthora*, *P. parasítica*, *P. arecae*, *P. cambivora*, *P. capsici*, *P. colocasiae*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. infestan*, *P. meadii*, *P. mexicana*.

La formación de la oospora es el resultado de la fertilización de una oosfera uninucleada, la cual tiene lugar de diferentes formas según la posición del anteridio.

Una vez que se ha formado la oospora esta entra en un período de reposo en el cual se distinguen dos estados: Latencia constitutiva y Latencia exógena. Una vez terminado este período

la oospora germina dando lugar a un tubo germinativo, que a su vez deriva en la formación de un esporangio, o con la formación del talo micelial (Echemedia, 2003).

Es importante mencionar que todos los procesos de reproducción, ya sean sexuales o asexuales, juegan un papel fundamental en el ciclo de vida del hongo.

#### E. Sintomatología en el campo de *Phytophthora*

Para Agrios (2005) 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. 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.

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 (Torres A. et al. 2006). 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 pocos días, semanas o meses.

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 (Soto, 2002).

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 (Gonzales, 2004).

*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 (Agrios, 2005).

Los síntomas en el campo inician con manchas de salpicadura en las hojas bajas. En climas húmedos, las manchas se agrandan y forman lesiones marrones. 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 (Singleton et al.1992).

### **3.2 Especies forestales muestreadas**

Las especies forestales que se incluyen se tomaron en cuenta según su asociación patogénica positiva. Las mismas pertenecen a latifoliadas como coníferas. Detalladas a continuación.

#### **3.2.1 *Pinus maximinoi* H. E. Moore (Pino Candelillo)**

##### **a). Descripción botánica**

Es un árbol de 20 a 35 metros de altura y de 45 a 100 centímetros de diámetro.

Posee una copa muy densa, ramas con ángulos rectos y horizontalmente verticilados. La corteza joven es delgada y lisa, cuando vieja se quiebra en plaquetas elongadas con fisuras color

café rojizas. Presenta follaje denso, verde azulado mate o verde grisáceo, notoriamente colgantes. Acículas generalmente cinco por fascículo, delgadas, de 20 a 28 centímetros de largo y 0.7 a 0.8 mm de ancho, márgenes finalmente serrados, estomas presentes en la superficie dorsal y ventral. Las vainas son persistentes de 12 a 18 mm de largo. Canales resiníferos medios, usualmente dos. Los estróbilos masculinos estimados, y los femeninos subterminales, oblongos, aislados o en grupos de cuatro a cinco, con pedúnculos largos y escamosos, las escamas son delgadas.

La madera es de color castaño pálido, textura fina, grano recto, superficie medianamente lustrosa, olor agradable y sabor no característico.

Sus frutos son conos marrón-rojizo, ovoides, angulares, algunas veces tempranamente caedizos, de 5 a 10 cm de largo y de 4 a 7 cm de ancho, con un péndulo oblicuo que se mantiene unido al cono cuando este cae. Presenta escamas suaves y delicadas; apófisis de 8 a 10 mm de ancho, usualmente planas, de 2 a 4 mm de largo. Se encuentra en grupo de tres a cuatro en las ramas.

Posee semillas de color marrón oscuro, pequeñas de 5 a 7 mm de largo y de 5 mm de ancho; alas articuladas, marrón claro amarillentas, de 16 a 20 mm de largo y cerca de 8 mm de ancho, con seis y siete cotiledones.

#### b). Distribución y hábitat

Se distribuye naturalmente desde el sureste de México, centro de Guatemala y Honduras, norte de El Salvador hasta el noreste de Nicaragua; su rango altitudinal), con buen drenaje, profundos y con buen contenido de materia orgánica.

#### c). Manejo de la especie en vivero



**Figura 1.** Árbol y conos de *P. maximinoi* H. E. Moore.

Fuente: CATIE, 2003.

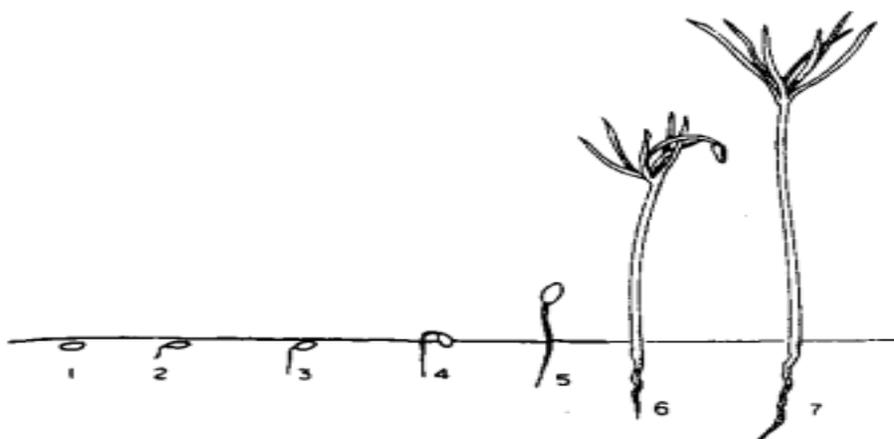
Las semillas pueden sembrarse directamente en bolsas plásticas, con dos o tres semillas por bolsa, o en cajas germinadoras. El proceso de la germinación tarda de 15 a 17 días. Las plantitas están listas para ser llevadas al sitio de plantación cuando alcancen de 25 a 30 cm, lo que tarda de cinco a seis meses.

#### d). Germinación

La calidad física de la semilla varía, se han reportado porcentajes de germinación de 84 a 95% y porcentajes de pureza de 90 a 99%. El contenido de humedad inicial varía de 9.7 a 10.9%.

La germinación es de tipo epígea y se inicia a los siete días después de la siembra y finaliza 15 a 17 días después.

Para obtener una germinación uniforme se recomienda sumergir las semillas en agua limpia durante 12 horas.



**Figura 2.** Estadios de germinación de semillas de *Pinus maximinoi* H. E. Moore.  
Fuente: CATIE, 2003.

### 3.2.2 *Pinus pseudostrobus* Lindl (Pino triste)

#### a). Descripción botánica

Árbol con alturas de 15 a 40 metros y diámetro de 40 a 80 centímetros. Fuste recto, libre de ramas de 30 a 50% de su altura. Las ramas a menudo son horizontales, copa espesa; corteza áspera, grisácea. Cerca de la copa la corteza se hace suave y rojiza a café grisáceo. Follaje verde oscuro, acículas en grupos de 5 raramente 4 a 6; de 16 a 35 cm de largo y 0.75 a 1.25 cm de ancho extendidas o péndulos, con vainas persistentes de 15 a 25 mm de largo. Los canales resiníferos de 2 a 4, usualmente medios.

Los frutos son conos ovoides a cilíndricos color café claro, de 10 a 15 cm de largo y 6 a 8 cm de ancho, planos, ápice elongado de hasta 15 centímetros de largo, curvados. Los conos se agrupan de dos a tres al final de las ramas (ver figura 3).

Las semillas son pequeñas, de 6 mm de largo, café oscuras, con un ala articulada de 20 a 23 mm de largo. La semilla contiene de seis a nueve cotiledones.

#### b). Distribución y hábitat



**Figura 3.** Árbol y conos de *P. pseudostrobus* Lindl.  
Fuente: CATIE, 2003.

Se distribuye escasamente en el norte de México (de Sinaloa a Jalisco), pero es común en la planicie central y en el estado Chiapas. En Guatemala ocurre abundantemente en Quetzaltenango, Sololá y Totonicapán. En Honduras se distribuye en el norte y centro del país. Su rango altitudinal vari entre 2400 y 2800 msnm, con precipitaciones anuales entre 800 y 1500 mm, temperaturas entre 18 a 21°C. Crece en suelos profundos derivados de material volcánico, ácidos a moderadamente ácidos a moderadamente ácidos (pH de 5.5 a 6.5); no crece con problemas de drenajes.

#### c). Manejo de la especie en vivero

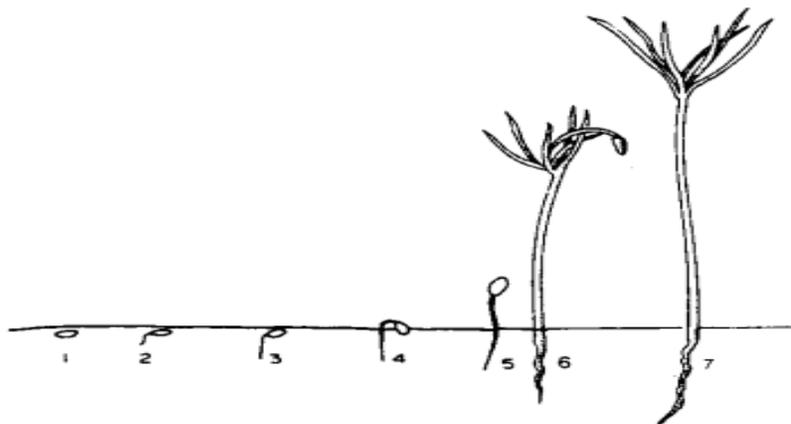
Las semillas pueden sembrarse directamente en bolsas plásticas, con 1 a 2 semillas por bolsa, o en cajas germinadoras. El proceso de germinación tarda de 12 a 16 días. Para el mejor desarrollo de la especie se recomiendan sustratos moderadamente ácidos (4.5 a 5.5 pH) para favorecer el endurecimiento de la plántula. Las plantas están listas para ser llevadas al sitio de plantación cuando alcanzan de 25 a 30 cm de altura.

#### d). Germinación

La calidad física de la semilla varía, se han reportado porcentajes de germinación de 84 a 95% y porcentajes de pureza de 90 a 99%. El contenido de humedad inicial varía de 9.7 a 10.9%.

La germinación es de tipo epígea y se inicia a los siete días después de la siembra y finaliza 15 a 17 días después. Como se observa en la figura 4.

Para obtener una germinación uniforme se recomienda sumergir las semillas en agua limpia durante 12 horas.



**Figura 4.** Estadios de germinación de semillas de *Pinus pseudostrobus* Lindl.  
Fuente: CATIE, 2003.

### 3.2.3 *Cupressus lusitanica* Mill (Ciprés común)

#### a). Descripción botánica

Árbol siempre verde, que alcanza alturas de 25 a 30 m y diámetros de hasta 120 cm, con fuste recto, ligeramente acanalado en la base. Copa piramidal, que se amplía en la madurez, produciendo ramas pendulosas. Es abierta en árboles jóvenes, oscuros y densos en árboles adultos (ver figura 5). Corteza externa pardo rojiza, blancuzca en la parte interna, con fisuras longitudinales, resinosa. Hojas numerosas verde oscuras, en forma de escama. Las hojas secas se mantienen en el árbol por largo tiempo. Las flores masculinas miden 5 mm de largo, numerosas, verde amarillentas, ubicadas en los extremos de las brotes.

Los conos femeninos son casi esféricos, de 12-15 mm de diámetro, inicialmente de color verde azulado, se vuelven duros,



**Figura 5.** Principales características botánicas de *Cupressus lusitanica* Mill.  
Fuente: CATIE, 2003.

leñosos, de color café oscuro al madurar. Formados por 6-8 escamas leñosas con 75-120 semillas café de 3-4 mm de longitud aplanadas irregularmente, con alas poco efectivas.

#### b). Distribución y hábitat

Dentro de su rango natural prefiere altitudes de 1800 a 2600 msnm, con precipitaciones promedio de 1500-2500 mm anuales y una temperatura mayor de 12°C. Prefiere suelos de origen volcánico, húmedos, profundos y bien drenados, franco arcillosos a franco arenosos, pero tolera suelos infértiles, calcáreos y arenosos.

Se extiende desde el sur de México, por Guatemala y Honduras hasta El Salvador, aunque existen dudas de que sea nativo de El Salvador.

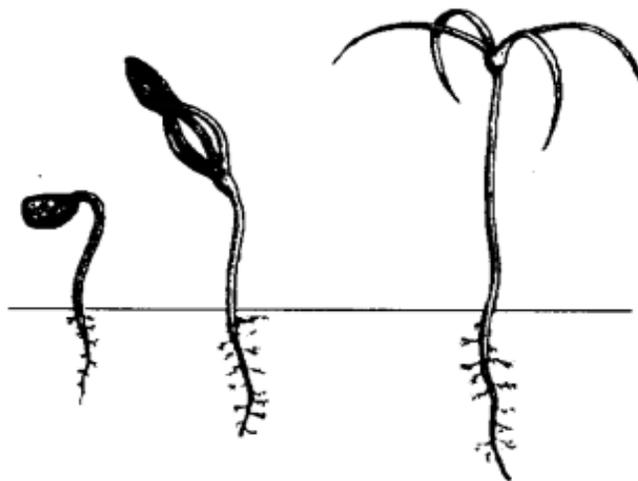
#### c). Manejo de la especie en vivero

La germinación de las semillas se da bien en arena fina, colada y desinfectada. La forma de distribución de las semillas en las cajas germinadoras debe de ser de manera uniforme y debe taparse con una capa fina (2mm) de arena. La arena debe de mantenerse húmeda, durante el periodo de germinación y tratarse con una capa fina (2mm) de arena. Se debe evitar que la arena se seque aunque sea por periodos cortos ya que se puede interrumpir el periodo de germinación y causar la muerte de semillas y plántulas. Las plántulas deben transplantarse cuando aparecen las primeras hojas verdaderas, debe tenerse el cuidado de no tomar las plántulas por el tallo ya que el calor y la presión de los dedos las pueden dañar. Por esta razón es recomendable tomarlas por las hojas y colocarlas en una bandeja con agua para transportarlas al sitio de la siembra.

Puede producirse también a raíz desnuda, aunque es más usual y recomendado producirlo en bolsas, se deben llenar con una mezcla de arena fina y dos partes de tierra fértil. Se recomienda llevar a campo cuando alcancen una altura de 30 cm, el tiempo de espera puede variar entre cinco a seis meses.

#### d). Germinación

La calidad física de las semillas es variable, en lotes no purificados se han reportado porcentajes de germinación entre 10 a 20%. En lotes purificados por flotación los porcentajes de pureza varían entre 95% y 99%. La germinación es epígea y ocurre en un plazo de 10 a 30 días como se observa en la figura 6. El porcentaje de germinación es usualmente bajo, se estima entre un 10% y 20%. No es necesario aplicar tratamientos pre-germinativos.



**Figura 6.** Estadios de germinación de semillas *Cupressus lusitanica* Mill.  
Fuente: CATIE, 2003.

#### 3.2.4 *Swietenia humilis* (Caoba del sur)

### a). Descripción botánica

Es un árbol de tamaño mediano (15-20 m) que alcanza un DAP de 30-80 cm y produce una copa irregular. Posee una corteza suave, gris de joven y se oscurece con la edad. Cuenta con hojas que miden 12- 30 cm, alternas, glabras, compuestas y paripinnadas, con 4 a 10 hojuelas. Sus flores son de color blancas, pequeñas y agrupadas en racimos.

Los frutos poseen forma de cápsula oval y alargada, erecta en el árbol, de 8-16 cm de largo y hasta 10 cm de ancho, de color grisáceo apagado como se observa en la figura 7.



**Figura 7.** Árbol, hojas, flores y fruto de *Swietenia humilis*.  
Fuente: CATIE, 2003.

Las semillas son color café, y tienen un ala de 5-8 cm de largo y hasta 2 cm de ancho, que permite a la semilla ser dispersada con el viento.

### b). Distribución y hábitat

Se encuentra normalmente en bosque seco y seco pre-montano, puede tolerar diferentes tipos de suelos, desde fértiles a calizos infértiles, tal y como lo muestra su amplia distribución. La desaparición del bosque por la agricultura y la ganadería, y la sobreexplotación por su bella y valiosísima madera en todo su rango natural ha puesto en serio peligro la conservación de esta especie en México y Centroamérica.

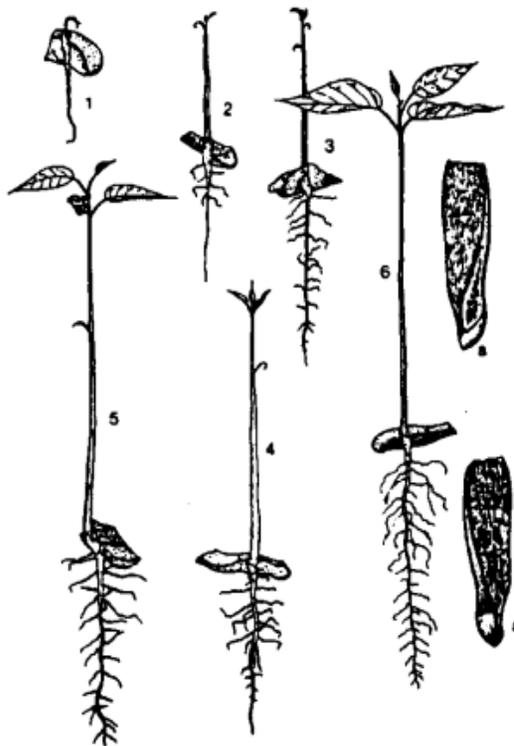
Se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico de México (desde el noroeste en Sinaloa al sur en Chiapas) y Centroamérica (Nicaragua, Costa Rica, El Salvador, Guatemala y Honduras). La discusión de si esta es una especie diferente de *S. macrophylla* puede deberse al hecho de que se han encontrado híbridos naturales de ambas en el noroeste de Costa Rica.

### c). Manejo de la especie en vivero

Las semillas son colocadas en una posición vertical, con el ala hacia arriba, en una caja germinadora, con una mezcla de tierra suelta y arena, a una profundidad de 3 a 7 cm o directamente en bolsas. Una vez germinadas y cuando alcancen entre 5 a 10 cm de altura, deben ser transplantadas y utilizar sombra temporal.

#### d). Germinación

La germinación es hipógea, la cual ocurre entre 10 y 21 días después de la siembra (ver figura 8). El porcentaje de germinación en semillas frescas es de 60 a 90%. Con el uso de semillas frescas no hace falta tratamiento, al contrario si la semilla ha sido almacenada es conveniente sumergir las semillas en agua fresca al menos durante 12 horas.



**Figura 8.** Estadios de germinación de semillas de *Swietenia humilis*. Etapas de crecimiento, 1-2. Establecimiento, 3-4. Crecimiento rápido, 5-6. Rustificación. a. Forma de la semilla de *Swietenia humilis*.

Fuente: CATIE, 2003.

### 3.3 Generalidades sobre el mal del talluelo o “Damping off”.

El mal del talluelo es una enfermedad ocasionada por un complejo de hongos del suelo donde se encuentran: *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp, y *Fusarium* spp.

Estos patógenos son habitantes naturales del suelo. Atacan las plantas en su primera etapa de desarrollo. Las afecta cuando el tallo aun no ha lignificado o sea que todavía no tiene corteza dura, ni tallo verdadero, esto sucede en semilleros y en el campo desde la germinación o trasplante (Cibrián et al.2008).

Siendo *Phytophthora* spp. Uno de los agentes que constituye el obstáculo más serio para la producción de plantas a gran escala. Debido a que su ataque puede ser pre-emergente es decir desde el primer momento de su desarrollo reduciendo el porcentaje de germinación, así también post-emergente haciendo lenta la lignificación de los tallos, y tardío, causando daños al orden total de la producción. Debido a que existen varias especies del género que causan pudrición de raíces. Las plántulas pueden morir en pocos días o en algunas semanas; en la pudrición de raíces la muerte puede ser lenta o rápida, dependiendo del inoculo y de las condiciones ambientales.

El ataque de dicho patógeno es devastador ya que destruye el sistema radical completo. Lo que se traduce en la muerte más o menos rápida de toda la planta. Entre la especie más afectadas a nivel de Centro América se encuentran los pinos (CATIE, 1991a), los daños más severos se observan en almácigos, sobre todo aquellos sombreados, con altas poblaciones de plántulas y excesos de humedad, las pérdidas pueden alcanzar hasta un 50% de la producción (Jaramillo, 2003).

Desde hace varios años, éste fue la causa principal de fracasos en la producción a gran escala de plántulas a nivel mundial. En Guatemala está situación es más difícil, debido a que no se aplican técnicas y tratamientos adecuados, por tanto este tema está poco desarrollado en el ámbito forestal.

### **3.4 La superficie forestal en Guatemala**

Según información generada en el mapa de cobertura forestal INAB, 2000, se estimaba el área total con cobertura boscosa en 49,466km<sup>2</sup>. El perfil ambiental (2008-2009), presenta datos donde menciona que Guatemala cuenta con 38,971 km<sup>2</sup> de cobertura boscosa, misma que ha disminuido en un 21%, en un lapso de diez años.

Sin embargo, este dato no se muestra tan alarmante como lo citado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación -FAO-, donde se estimaba que para el período 1990-2000, anualmente desaparecían 90,000 hectáreas de bosque al año (Melgar, 2003). Esta reducción se debe a que en gran medida se ha logrado contribuir a la repoblación forestal, procurando dar cumplimiento a los objetivos de la Política Forestal Nacional, por medio del desarrollo de una serie de programas y proyectos enfocados a fortalecer y mejorar la gestión de bosques, entre los más importantes, el Programa de Incentivos Forestales PINFOR y el Programa de Incentivos Forestales para pequeños poseedores de tierras de vocación forestal y agroforestal PINPEP (SIFGUA, 2010).

Las estadísticas del período 1998-2010, se ha cumplido con 6,488 proyectos de manejo natural de bosques y reforestación, donde este último se estima en 102,321.35 Ha., área distribuida a lo largo del territorio nacional (SIFGUA, 2010). Se debe tomar en cuenta que las plantaciones forestales requieren propagar las especies a plantar en viveros forestales, bajo esta mención es indispensable otorgar recursos para generar planes de buenas prácticas en el manejo de vivero forestales que garanticen el desarrollo óptimo de las plántulas en sus primeras etapas.

### **3.5 Importancia del sector forestal en Guatemala**

El sector forestal de Guatemala fue definido como “un subsistema del sistema económico nacional, que sobre la base de motivaciones y decisiones socioeconómicas y ambientales desarrolladas en torno de ecosistemas con distintos grados de intervención, cuyo componente dominante son los árboles, genera múltiples bienes maderables y no maderables y servicios ambientales, producto del desarrollo de un conjunto de actividades que se aplican de acuerdo a un

régimen de ordenación con objetivos bien definidos que pueden incluir la extracción y aprovechamiento, la protección absoluta o la restauración de tierras forestales degradadas. Estas acciones descansan sobre una plataforma institucional pública y privada que incluye los ámbitos legal, financiero, académico y empresarial (Urquijo J. 2008).

Bajo ese concepto el sector forestal comprende un conjunto de actores (sector público, sector privado empresarial, ONGs, pequeños, medianos y grandes propietarios individuales, comunidades y grupos de campesinos propietarios colectivos de bosques, comunidades beneficiarias de concesiones forestales otorgadas por el Estado; municipalidades que tienen bajo su dominio tierras y bosques municipales) que se relacionan entre sí por intermedio de las actividades de aprovechamiento, protección, comercialización, industrialización, entre otras); recibe insumos (servicios primarios y secundarios como el transporte, financiamiento, seguros, capacitación, publicidad, comunicaciones, entre otros) y genera productos para otros sectores en el contexto del sistema económico nacional y global (bienes y servicios forestales), (Urquijo J. 2008).

### **3.6 Importancia económica de los bosques**

La importancia económica de los bosques de Guatemala, reside por un lado en el abastecimiento de bienes maderables con lo cual se cubre la mayor parte de la demanda del mercado interno de la industria forestal estimado alrededor de los 800 000 m<sup>3</sup>/año, y la demanda de leña como material combustible estimado en un metro cúbico per cápita por año. Por otro lado, está la provisión de bienes no maderables (flora, proteína animal) y los servicios ambientales vinculados a los bosques.

En las cuentas nacionales no se tiene cuantificados los aportes en términos económicos de todos los bienes no maderables y servicios ambientales generados por el sector forestal en beneficio de la sociedad guatemalteca; sin embargo, partiendo del estudio sobre la determinación del valor económico del Sistema guatemalteco de Áreas Protegidas –SIGAP- (Urquijo J. 2008), dentro del cual está contenido más del 55 por ciento de la cobertura forestal del país, se ha estimado el valor anual de los bienes no maderables y servicios ambientales del SIGAP, estimado

en 252 millones US\$ anuales, de los cuales los bienes no maderables (flora, cacería) representan 250 millones US\$ anuales; y la función de sumideros de carbono 76 millones US\$ anuales.

En el plano social, más del 60 por ciento de la población depende de los recursos forestales, especialmente de la leña, utilizada como fuente energética para la cocción de alimentos principalmente en áreas rurales. Situación que ha sido corroborada con datos del inventario forestal nacional (Urquijo J. 2008), donde se encontró que para el 65 por ciento de los pobladores, uno de los principales usos de los productos y servicios del bosque, es para leña. El consumo de leña se estimaba para 1,996 en 11 millones de m<sup>3</sup>/año, que significaba un valor de US\$300 millones de dólares, si esta tuviera que sustituirse por un derivado de petróleo (Urquijo J. 2008)

## 4 MARCO REFERENCIAL

### 4.1 Especies forestales de importancia económica

El Instituto Nacional de Bosques –INAB- en su programa de incentivos forestales PINFOR especies forestales como prioritarias, la selección de estas especies se fundamenta en que se conoce plenamente su silvicultura, presentan una amplia ductilidad en productos (trozas debobinables, trozas aserrables, postes), con tecnologías industriales para producir productos con un alto valor agregado y que tienen un buen mercado nacional o internacional. Así como de lecciones aprendidas de programas de reforestación impulsados en el país (Ávila, 2003).

**Cuadro 1.**Lista de especies forestales de importancia económica.

No.	ESPECIE	
	Nombre Común	Epíteto específico
1	Teca	<i>Tectona grandis</i> *
2	Pino de costa	<i>Pinus caribaea</i> Morelet*
3	Pino candelillo	<i>Pinus maximinoi</i> H. E. Moore*
4	Pino colorado / ocote	<i>Pinus oocarpa</i> *
5	Ciprés común	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill*
6	Cedro	<i>Cedrela odorata</i>
7	Melina	<i>Gmelia arborea</i> *

#### 4.2 Áreas estudio

El se enfocó en comprendida

8	Cedro de la india	<i>Acrocarpus fraxinifolius</i>
9	Matilisguate	<i>Tabebuia rosea</i>
10	Eucalipto	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>
11	Palo blanco	<i>Cybistax donnell-smithii*</i>
12	Caoba del norte	<i>Swietenia macrophylla</i>
13	Conacaste	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>
14	Palo de hule	<i>Hevea brasiliensis*</i>
15	Pino triste	<i>Pinus pseudostrobus</i>
16	Amapola / mapola	<i>Pseudobombax ellipticum</i>
17	Pino macho	<i>Pinus montezumae</i>
18	Santa maría	<i>Calophyllum basiliense*</i>
19	Siricote	<i>Cordia dodecandria</i>
20	Madre cacao	<i>Gliricidia sepium</i>
21	Pinabete	<i>Abies guatemalensis*</i>
22	San Juan	<i>Vochysia guatemalensis*</i>
23	Eucalipto	<i>Eucalyptus torrelliana*</i>
24	Irayol	<i>Genipa americana</i>
25	Pino de altura	<i>Pinus bartuegii</i>
26	Aliso/ ilamo	<i>Alnus spp.</i>
27	Casuarina	<i>Casuarina equisetifolia*</i>
28	Aripín	<i>Caesalpinia velutina</i>
29	Acacia amarilla	<i>Cassia siamea</i>
30	Palo sangre	<i>Pterocarpus spp</i>
31	Caoba del sur	<i>Swietenia humilis</i>

bajo

área donde estudio está por los

\*Especies prioritarias según PINFOR.

Fuente: Documento seguridad alimentaria y desarrollo sostenible en zonas marginales de Guatemala, 2008.

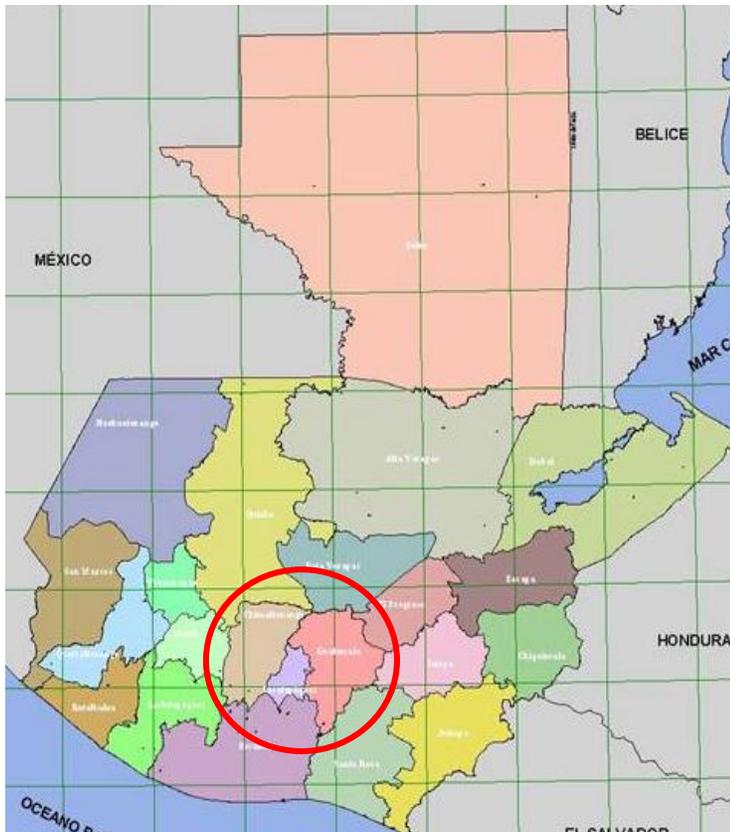
departamentos de Guatemala (Región I Metropolitana), Sacatepéquez y Chimaltenango (Región V Central).

Se concentra en esta región por varias razones, la primera de ellas se debe a que existen antecedentes de la presencia de *P. tropicalis* en dos municipios del departamento de Guatemala en una distribución lineal, si se quiere ver de esta manera, ya que se ha detectado en San Juan Sacatepéquez, como se presenta en el mapa de la Figura 9, donde se muestra la región central bajo estudio y con una flecha al centro la tendencia de la distribución de *P. tropicalis*, según los resultados del último estudio sobre Oomycetos en Guatemala.

La segunda no menos importante, es porque en esta región se concentra en buena medida la producción de viveros que se distribuyen a la misma región y a otras regiones del país y que

presupone que si la enfermedad está presente en la región y puede ser de importancia esta es una de las formas de dispersión efectiva.

La tercera es que dicho estudio forma parte del Proyecto FODECYT 076-2009, en asociación con la Secretaría de Ciencia y tecnología SENACYT y la Facultad de Agronomía FAUSAC.



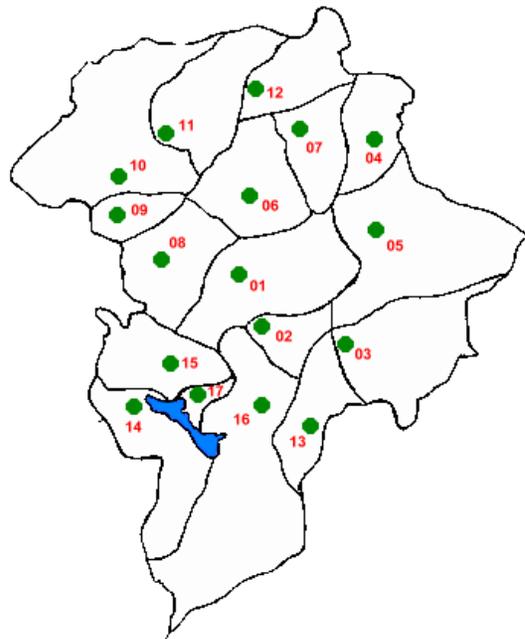
**Figura 9.** Mapa de la República de Guatemala, al centro la localización de los departamentos que conforman la región central.  
Fuente: IGN,2006b.

#### 4.2.1 Departamento de Guatemala

El Departamento de Guatemala se encuentra situado en la región Metropolitana, la cabecera departamental es Guatemala, limita al norte con el departamento de Baja Verapaz; al sur con Escuintla y Santa Rosa; al este con El Progreso, Jalapa y Santa Rosa; y al oeste con Sacatepéquez y Chimaltenango. Se ubica en la latitud  $14^{\circ} 38' 29''$  y longitud  $90^{\circ} 30' 47''$ , y cuenta con una extensión territorial de 2,253 kilómetros cuadrados (Piedra Santa, A. et al. 2007).

Por su configuración geográfica que es bastante variada, sus alturas oscilan entre los 930 y 2,101 metros sobre el nivel del mar, con un clima generalmente templado.

Cuenta con 17 municipios que se pueden observar en el mapa de la figura 10 que son: 1. Guatemala, 2. Santa Catarina Pinula, 3. San José Pinula, 4. San José del Golfo, 5. Palencia 6. Chinautla, 7. San Pedro Ayampuc, 8. Mixco, 9. San Pedro Sacatepéquez, 10. San Juan Sacatepéquez 11. San Raimundo, 12. Chuarrancho, 13. Fraijanes, 14. Amatitlán, 15. Villa Nueva, 16. Villa Canales, 17. Petapa.



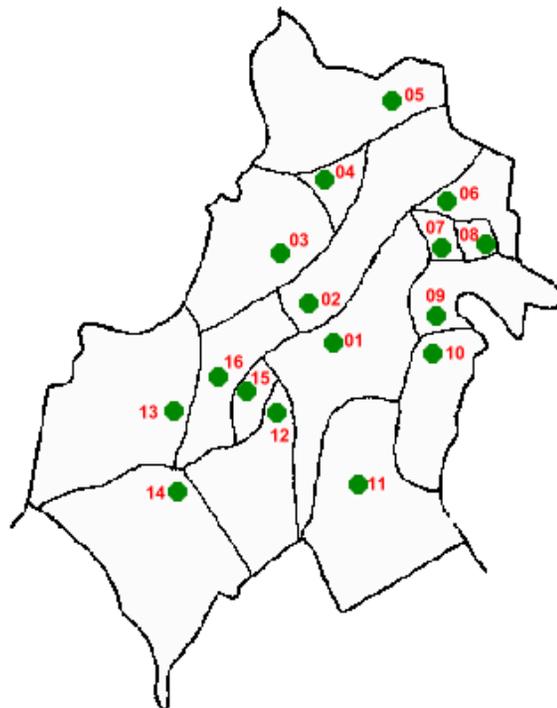
**Figura 10.** Mapa división política del departamento de Guatemala.  
Fuente: IGN, 2006b.

#### 4.2.2 Departamento de Sacatepéquez

El departamento de Sacatepéquez está situado en la región Central de la República a 1,530 metros sobre el nivel del mar y pertenece al "Complejo Montañoso del Altiplano Central". La cabecera departamental es Antigua Guatemala y se encuentra a 54 kilómetros de la ciudad capital de Guatemala.

Cuenta con una extensión territorial de cuatrocientos sesenta y cinco (465) kilómetros cuadrados, con los siguientes límites: Al norte, con el departamento de Chimaltenango; al sur, con Escuintla; al este con Guatemala; y al oeste Chimaltenango. Se ubica en la latitud  $14^{\circ} 33' 24''$  y en la longitud  $90^{\circ} 44' 02''$ . Su precipitación pluvial anual acumulada es de 952.50 mm., con un clima templado y semi frío (Piedra Santa, A. et al. 2007).

En la figura 11, se muestra la jurisdicción departamental y los 16 municipios que lo conforman: 1 .Antigua Guatemala, 2. Jocotenango, 3. Pastores, 4. Santo Domingo Xenacoj, 5. Sumpango 6. Santiago Sacatepéquez, 7. San Bartolomé Milpas Altas, 8. San Lucas Sacatepéquez, 9. Santa Lucía Milpas Altas, 10. Magdalena Milpas Altas 11. Santa María de Jesús, 12. Ciudad Vieja, 13. San Miguel Dueñas, 14. Alotenango, 15. San Antonio Aguas Calientes, 16. Santa Catarina Barahona.



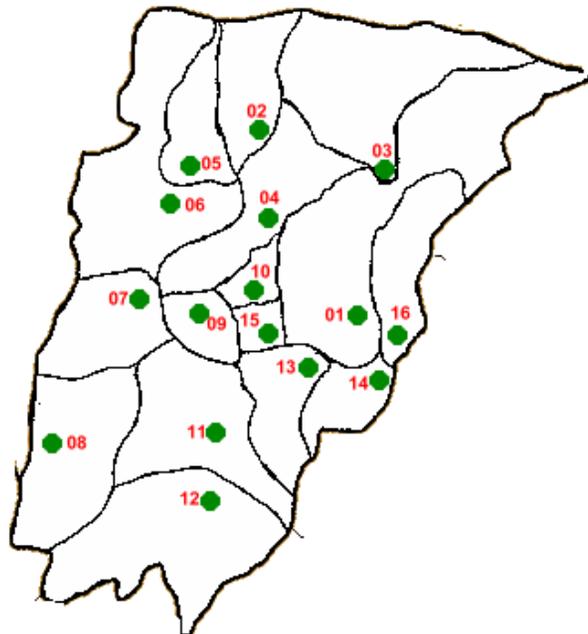
**Figura 11.** Mapa división política del departamento de Sacatepéquez.  
Fuente: IGN, 2006c.

#### 4.2.3 Departamento de Chimaltenango

El departamento de Chimaltenango se encuentra situado en la región V o región Central, la cabecera departamental es Chimaltenango, está a 1,800 metros sobre el nivel del mar y a una distancia de 54 kilómetros de la Ciudad Capital de Guatemala. Cuenta con una extensión territorial de 1,979 kilómetros cuadrados, con los siguientes límites departamentales: al norte con Quiché y Baja Verapaz, al sur con Escuintla y Suchitepéquez, al este con Guatemala y Sacatepéquez; y al oeste con Sololá (Piedra Santa, A. et al. 2007).

Se ubica en la latitud  $14^{\circ}39'38''$  y longitud  $90^{\circ}49'10''$ . Su precipitación pluvial es de 1587.7 mm., con un clima generalmente templado, pues su temperatura oscila entre los  $12.1^{\circ}\text{C}$  mínima y los  $23.7^{\circ}\text{C}$  máxima.

El departamento de Chimaltenango se encuentra integrado por los siguientes municipios según se distribuyen en el mapa de la figura 12 que son: 1. Chimaltenango, 2. San José Poaquíl, 3. San Martín Jilotepeque, 4. San Juan Comalapa, 5. Santa Apolonia 6. Tecpán Guatemala, 7. Patzún, 8. Pochuta, 9. Patzicía, 10. Santa Cruz Baranya 11. Acatenango, 12. Yepocapa, 13. San Andrés Itzapa, 14. Parramos, 15. Zaragoza 16. El Tejar.



**Figura 12.** Mapa división política del departamento de Chimaltenango.  
Fuente: IGN, 2006a.

### **4.3 Especies del género *Phytophthora* asociadas a especies forestales, a nivel mundial**

#### 4.3.1 *Phytophthora cinnamomi* Rands. en viveros forestales de *Pinus Radiata*.

El estudio se llevó a cabo en los viveros de la comunidad Gallega en el año 2007. Donde plantas adultas y de vivero presentaban síntomas coincidentes con el ataque de *Phytophthora cinnamomi*.

Este hecho llevó a la determinación de *Phytophthora cinnamomi* Rands cepa tipo A2. Reconocido como uno de los principales patógenos de coníferas y más concretamente de *Pinus* spp., provocando amarillamiento y clorosis del follaje, así como necrosis y pudrición del sistema radicular.

#### 4.3.2 Pudrición de raíz ocasionada por *Phytophthora cinnamomi* en *Cupressus*

El uso ornamental de *Cupressus* en Carolina del Norte, Estados Unidos se ha convertido cada vez más popular. Sin embargo, la enfermedad provocada por *Phytophthora* se ha vuelto más común.

Por lo que se determinó que la podredumbre de raíz observada en vivero y árboles de paisaje de *Cupressus*, eran afectados por *Phytophthora cinnamomi*. La enfermedad fue más perjudicial en situaciones en las que el drenaje del suelo era muy pobre.

Las plantas con daño en las raíces severas presentaron un color amarillento en general del follaje y muerte obscura en las puntas. La podredumbre de raíz *Phytophthora* sólo se puede diagnosticar con certeza mediante el análisis de laboratorio de las raíces afectadas.

#### 4.3.3 *Phytophthora cinnamomi*

- **Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía, España.**

Sánchez, M. Et. Al. 2003, menciona que en las últimas décadas se ha observado en masas de *Quercus ilex* y *Quercus súber*, ubicados en el sudoeste de España y sureste de Portugal, un síndrome de decaimiento denominado “seca de los *Quercus*”, causado por un número variable de factores bióticos y abióticos que producen un deterioro gradual y general de los árboles afectados, hasta su muerte.

En la investigación se destaca el estudio de la incidencia de *P. cinnamomi* en masas de *Quercus*, siendo este uno de los factores bióticos implicados en la seca de los *Quercus*, la podredumbre radical.

El estudio se llevo a cabo en ocho fincas situadas en las cuatro provincias andaluzas más afectadas por este decaimiento forestal. En la mayor parte de las fincas *P. cinnamomi*, se asocio como el principal agente fitopatógeno, aunque no el único. Los investigadores observaron diferencias morfológicas entre los aislados de *P. cinnamomi* obtenidos de encina y los procedentes de alcornoque, mientras que las temperaturas óptimas de crecimiento fueron similares para todos los aislados. Además, se estudio la correlación entre la presencia del hongo en árboles afectados y las variables meteorológicas.

Estableciendo que el aislamiento de *P. cinnamomi* no presenta buena correlación con la lluvia acumulada, humedad del suelo o temperaturas registradas en las fincas antes de la toma de muestras, aunque le favorecieron las temperaturas mínimas y medias elevadas.

#### 4.3.4 *Phytophthora cinnamomi* Rands.

- ***Phytophthora cinnamomi* Rands. asociado al encino (*Quercus* spp.) en Tecoanapa, Guerrero, México.**

Dicho estudio se llevó a cabo en Tecoanapa, Guerrero, México, donde se reportó la asociación primaria de *Phytophthora cinnamomi* Rands., con la mortalidad masiva de encinos (*Quercus* spp.) observado por primera vez en 2,001 en el Municipio de Tecoanapa, Guerrero. Éste es el primer reporte de la asociación de *P. cinnamomi* con las especies *Q. salicifolia*, *Q. elliptica* y *Q. magnoliifolia* en el Estado de Guerrero.

El patógeno *Phytophthora cinnamomi* fue aislado de tejido cortical y de suelo de áreas con muerte de encino en el Municipio de Tecoanapa, Guerrero, y se demostró su asociación con la enfermedad.

Como resultados se enfatiza que el mayor daño se observó en *Q. salicifolia* y *Q. elliptica* y en menor grado en *Q. magnoliifolia*; *Q. glaucescens* aparentemente resistente.

En la página oficial de la Estación Fitopatológica “do Areeiro”, España, reconocida por sus siglas –EFA-, exhiben información sobre primeras detecciones de Plagas y patógenos detectados por primera vez en cultivos, vinculado a la organización Europea y mediterránea de protección de Plantas por sus siglas en inglés – EPPO-. Entre estas detecciones se mencionan los estudios relacionados a detección de *Phytophthora*.

#### 4.3.5 *Phytophthora ramorum*

- **Presencia de *Phytophthora ramorum* en Galicia, sobre camellia, rhododendron y viburnum.**

En el año 2003, se realizó la investigación donde se le denomina a *Phytophthora ramorum*, como un patógeno fúngico de declaración obligatoria, incluido en la lista de alerta de la EPPO, el cual ha alcanzado proporciones epidémicas en algunas zonas de los Estados Unidos provocando la muerte de *Lithocarpus* spp y *Quercus* spp, así como asociado a una gama amplia de plantas ornamentales.

El conocimiento de la enfermedad es todavía limitado, sin embargo, se tienen datos sobre su forma de dispersión. A corta distancia el hongo puede diseminarse, en forma de esporangios, por la lluvia, el agua de riego, el viento y los insectos. Las zoosporas germinan rápidamente sobre la superficie de la hoja de los huéspedes foliares, constituyendo estos una importante fuente de inóculo. A larga distancia puede hacerlo por medio del movimiento de material vegetal infectado, vehículos, calzado, maquinaria, etc. El hongo produce un gran número de clamidosporas las cuales actúan como forma de resistencia.

Dependiendo de la especie los síntomas pueden aparecer sobre el tronco, las ramas y/o las hojas. En huéspedes arbóreos americanos del patógeno, fundamentalmente en *Lithocarpus densiflorus* y *Quercus* spp, el síntoma más evidente de la enfermedad, en árboles adultos, es la muerte de ramas y la aparición de chancros sobre la corteza del tronco, en estas zonas se observan manchas marrón oscuro con exudados de savia. Las lesiones pueden presentarse desde el cuello de la planta hasta una altura de 20 metros. En los huéspedes foliares de la enfermedad, tanto americanos como europeos, los síntomas son variables pero generalmente se asocian a manchas en las hojas y muerte de ramas.

En Europa aún no ha sido identificado sobre robles sin embargo si se ha encontrado, causando importantes daños en *Rhododendron* y *Viburnum*, en Holanda, Alemania, Bélgica, Suiza, Polonia, Francia, Italia y Reino Unido detectándose, en este último país, también sobre *Kalmia latifolia*, *Pieris spp* y *Camellia japonica*, tomándose, en cada caso, las medidas de erradicación correspondientes. En España, y concretamente en Galicia, su aislamiento ha sido reciente detectándose su presencia sobre *Rhododendronspp*, *Viburnum timus* y *Camellia japonica*.

#### 4.3.6 *Phytophthora pseudosyringae*

- **Presencia de *Phytophthora pseudosyringae* en Galicia sobre castaño.**

En el año 2006, se cita una nueva especie de *Phytophthora* (*P. pseudosyringae*), identificada morfológica, fisiológica y molecularmente, por primera vez sobre Castaño en España.

Los síntomas en castaño se manifestaron a lo largo del tallo, presentando zonas necróticas, de color negro violáceo, ligeramente deprimidas que, en algunos casos, confluyen dando lugar a necrosis más extensas. Se producen desecamientos de yemas y brotes cuando éstos coinciden con las zonas necrosadas. En Europa, *P. pseudosyringae*, no ha sido identificada sobre castaño, sin embargo fue descrita en suelos forestales donde crecían diferentes especies de *Quercus* y también se aisló en las raíces necróticas y en la base del tallo de *Fagus sylvatica* y *Alnus glutinosa* identificándose, hasta la fecha, en Italia, Francia y Alemania. En USA se aisló en *Umbellularia californica* y *Quercus agrifolia* (EPPO Report 2005/162).

#### 4.3.7 *Phytophthora alni* subsp. *Alni*

- **Detección de *Phytophthora alni* subsp. *alni* en España.**

En julio de 2009, la EFA detecta *Phytophthora alni* subsp. *alni*, en una muestra de aliso procedente de una zona de ribera (Río Avia, Ourense) con síntomas de decaimiento. Se trata de

una especie de *Phytophthora* bastante agresiva, que provoca pudriciones radiculares y de cuello a diferentes especies de *Alnus* situadas fundamentalmente en bosques de ribera.

El hongo, citado en numerosos países europeos, siendo especialmente agresivo en Gran Bretaña, no se había identificado en España hasta la fecha, aunque sus síntomas, entre los que se pueden citar: hojas amarillas, pequeñas y escasas y exudados en la parte baja del tronco, que pueden alcanzar dos o tres metros de altura, habían sido descritos en alisos situados en las riberas de numerosos ríos de la cornisa Cantábrica.

Tras un muestreo detallado en toda la comunidad autónoma gallega, el patógeno fue detectado en las cuatro provincias.

#### 4.3.8 *Phytophthora pinifolia*

- ***Phytophthora pinifolia* afectando plantaciones de *P. radiata* localizadas principalmente en la Provincia de Arauco, Región del Bío Bío, Chile.**

En la página oficial de la organización Norteamericana de protección a las Plantas por sus siglas en inglés -NAPPO-. Coloca información sobre una especie nueva de *Phytophthora*, a la que se le conoce como *Phytophthora pinifolia*, se ha identificado como el posible agente causal de una enfermedad relativamente nueva de *Pinus radiata*. Dicha enfermedad se ha encontrado en plantaciones en la región sudoeste del Bio Bio, en la provincia de Arauco, Chile.

En el año 2003 el Servicio Agrícola y Ganadero de Chile, recibió la notificación de la identificación de una nueva especie de hongo asociada al follaje de árboles de *Pinus radiata*, determinación realizada por el Dr. Mike Wingfield, Director del Instituto de Biotecnología Forestal y Agrícola (FABI) de Sudáfrica, quien ha propuesto denominarla como *Phytophthora pinifolia* nom. prov.

La nueva especie descrita fue obtenida como producto de las investigaciones que realiza el equipo técnico de la empresa Bioforest S. A., tendientes a determinar la o las causas del Daño

Foliar del Pino (DFP), fenómeno que ha afectado plantaciones de *P. radiata* localizadas principalmente en la Provincia de Arauco, Región del Bio Bio, y en algunos sectores de las Regiones de la Araucanía y de Los Ríos, y que se caracteriza por provocar una clorosis no habitual en los árboles y la posterior pérdida de su follaje, debilitándolos y predisponiéndolos al ataque de plagas oportunistas o secundarias.

Cabe mencionar que empresas forestales, han elaborado e implementado un Programa Nacional de Vigilancia Fitosanitaria de este fenómeno, cuyo objetivo es determinar su distribución y comportamiento en las plantaciones de pino del país, conocer su o sus causas, evaluar su impacto sobre la productividad, producción y comercio, y establecer las medidas para mitigar sus efectos.

En el documento científico “*Phytophthora* en los bosques europeos: su aumento”, el doctor Clive Brasier, coordinador general del grupo de trabajo de la Unión Forestal Internacional Británica, recopila la siguiente información publicada en el año 2003:

#### **Antes de 1990.**

##### 4.3.9 *Phytophthora cinnamomi* y *P. cambivora*

- **Epidemia de la enfermedad de la tinta (pudrición de la raíz y cuello) de Castaño europeo (*Castanea sativa*).**

Causada por la presencia de patógenos *P. cinnamomi* y *P. cambivora*, se produjo en el centro y el sur de Europa en los años 1920 y 1940. Hoy en día, la enfermedad sigue siendo muy activa y muy extendida. La investigación sobre la resistencia de castaño se encuentra en progreso. En la década de 1960 a 1970 *P. cinnamomi* causó una epidemia en árboles y plantas ornamentales leñosas en el comercio de la horticultura europea y por lo tanto, en los jardines. De la misma manera dañó plantaciones de roble rojo (*Quercus rubra*), en el suroeste de Francia. Por lo general, Especies de *Phytophthora* causó lesiones locales en una amplia gama de otros frondosas y coníferas anfitriones.

## Desde 1990

### 4.3.10 *Phytophthora cinnamomi* Mortalidad de roble

En 1991, el agresivo patógeno *P. cinnamomi*, ha demostrado ser involucrado en la mortalidad continua y generalizada y disminución de dos encinas (o robles) en especies el sur de Europa, *Quercus suber* (alcornoque) y *P. encina* (Encina). La enfermedad se concentra en el sur de España y Portugal.

Los árboles infectados pueden morir rápidamente (Conocido localmente como la muerte súbita) o lentamente. Es posible que una interacción significativa con la sequía. Leñosa especies en estos ecosistemas son también susceptibles de roble.

### 4.3.11 *Phytophthora cambivora* y *P. citrícola*

- **Robles caducifolios muerte regresiva**

En la década de 1990, una serie de infección de las raíces, se asoció a la producida por las especies de *Phytophthora*. Demostrándose que se encontraba asociado con el clásico roble muerte regresiva, una amplia enfermedad compleja (también la participación y los efectos climáticos del suelo) de robles de hoja caduca como *Q. robur* en el centro y el norte de Europa.

El asocio incluía especies bien conocidas tales como *P. cambivora* y *P. citrícola*, además de una serie de especies previamente desconocidas, como *P. quercina* sp. *noviembre*.

Algunos estudios demostraron una fuerte relación entre la sintomatología de la corona y la muerte regresiva.

Las especies asociadas de *Phytophthora* probablemente poseen diferentes ecologías, y su papel en los bosques sigue siendo poco conocido. Varios creen que son invasivas.

#### 4.3.12 *Phytophthora cambivora* y *P. fragariae*.

- **Nuevo Híbrido de aliso infectado por especies de *Phytophthora***

En 1993, en Reino Unido se informa una nueva enfermedad, ocasionando la pudrición de alisos Europea (*Alnus* spp.) Posteriormente fue aislado y se demostró que comprendía un asocio entre dos especies del género *Phytophthora*, Descritas como *P. cambivora* y *Phytophthora* posiblemente *P. fragariae*.

Entre las conclusiones destaca que dichas especies probablemente habían sido introducidas a Europa. Puesto que no se les reconocía como patógeno de aliso, es decir, el caso de la hibridación puede haber conducido a una especificidad de huésped nuevo.

Sin embargo, los híbridos se extendieron a través de Europa, por lo que hoy en día forman parte de la amenaza de bosques y plantaciones de alisos en muchas áreas.

#### 4.3.13 *Phytophthora ramorum* sp. *noviembre* asociada a la muerte súbita del roble.

En Estados Unidos se asoció a *P. ramorum*, como la causa de muerte súbita del roble extendiéndose en Europa infectando *rododendros* y *viburnum* en el comercio de viveros de plantas ornamentales. Hasta el año 2003, no existía evidencia de que el patógeno era capaz de infectar la corteza y el follaje de árboles nativos europeos y en plantaciones.

Años más tarde resultados preliminares indicaron que algunas especies resultaron ser susceptibles, menos susceptibles y resistentes al ataque del patógeno y las poblaciones de *P. ramorum*, difirieron en su comportamiento y huellas moleculares. Por tanto la unión Europea y Estados Unidos coincidieron en mencionar que los brotes de infección probablemente no tenían relación.

#### 4.3.14 Antecedentes de *Phytophthora* en Guatemala

En la investigación titulada “**Detección y caracterización de especies de Oomycetos asociados a cultivos de exportación en la región central de Guatemala**”. Efectuada durante los años 2007-2008, en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Baja Verapaz y El Progreso, donde destacan los cultivos de exportación, evaluando hortalizas como: arveja china, brásicas (brócoli, coliflor, romanesco, brúcelas, etc.) cucurbitáceas (calabazas, calabacines, melón), legumbres (ejote francés, frijoles en vaina), lechugas, radicchios, entre otras.

Solanáceas como: tomate, berenjena y una variedad de chile pimiento. Dicha área también es propicia para el desarrollo de todo tipo de berries (arándanos, mora, frambuesa y fresa) así como varios árboles frutales tales como melocotón, nectarina, duraznos, ciruelas, cerezas manzana, pera, membrillo, aguacate, persimón, macadamia entre otras. En la producción de ornamentales destacan las flores de corte (crisantemo, clavel, rosa, geranios, etc.), además de follajes que incluye una gran variedad de especies todos ellos desarrollados bajo condiciones de invernadero.

La investigación fue un trabajo conjunto con el Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia y El Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con la colaboración del laboratorio de Diagnostico Parasitológico de la Unidad de Normas y Regulaciones del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación MAGA y el financiamiento de la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología SENACYT (Álvarez, 2010).

Donde los resultados confirman la presencia de especies de *Phytophthora* y *Pythium* en las regiones de muestreo, de la información relevante para el género *Phytophthora* se tiene la detección de las especies ***P. capsici*, *P. parasítica*, *P. palmivora*, *P. cinnamomi*, y *P. tropicalis*.**

De las especies detectadas se destaca la primera detección y denuncia de la especie *Phytophthora tropicalis*, para la región de Guatemala, dicha especie posee escasos registros a nivel mundial y las mismas aun están siendo descritas y se tiene poca información sobre ellas, en cuanto al rango de hospedantes y distribución, además de ello la confirmación de la presencia de las especies ya reconocidas en el país.

Según conclusiones de la investigación, se considera que según la cantidad de aislados y la distribución espacial de los muestreos, es posible encontrar especies nuevas no descritas para Guatemala y ligadas a otros cultivos agrícolas como forestales.

#### **4.4 Descripción de especies de *Phytophthora* posiblemente detectados**

##### **4.4.1 *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (*P. parasítica*)**

Produce enfermedades principalmente en la base del tallo como canchros del tronco, pudriciones del cuello, gomosis y pudriciones de la raíz. Puede también aparecer en plántulas antes o después de haber emergido del suelo y en algunos casos producir pudrición parcial o completa de algunos frutos. En cuanto a hospedantes se puede decir que es una especie omnívora. Entre las características para su identificación, destacan el crecimiento en medio de cultivo las colonias que forman áreas de crecimiento denso alternadas con área de crecimiento suelto, formando rosetas aglomeradas, sin un patrón obvio; con áreas en formas de domo y otros planos, disperso, presenta micelio aéreo. La tasa de crecimiento radial en agar de V8 a 25°C es (3) 6 (- 10) milímetros por día. Hifas cenocíticas, con diámetro de 7-10  $\mu\text{m}$ , con buen desarrollo a 35°C y se detiene a 5°C.

Las clamidosporas se presentan en la mayoría de cultivos, tienen un diámetro promedio de (22-) 33 (-52)  $\mu\text{m}$ ., las cuales se forman entre los 5 a 14 días, generalmente se observan a los 10

días, Los esporangios se producen abundante en medio líquido a la luz o en la obscuridad, raramente y muy débiles en agar sólido a la luz o en la obscuridad; predominante esférico, ovoide, elipsoide, con una papila prominente, esporangios esféricos a menudo con 2 (muy de vez en cuando 3 papilas). En agua, los esporangios se llevan generalmente solo o en los simpodios muy flojos de 2-4 esporangios, raramente en los racimos, atados a menudo lateralmente a esporangióforo, no caduco en la mayoría de los aislamientos (Echemedia, 2003).

#### 4.4.2 *Phytophthora palmivora*

Una de las especies tropicales más comunes es *P. palmivora*, con más de 150 plantas hospederas. Algunos de los alberga más importantes son de color negro pimienta (*Piper nigrum*), Hule (*Hevea brasiliensis*), coco (*Cocos nucifera*), cacao (*Theobroma cacao*), papaya (*Carica papaya*), entre otros.

*Phytophthora palmivora*, tiene cuatro tipos de esporas que pueden directamente o indirectamente causar infecciones. Los esporangios se producen en la fruta infectada, hojas, tallos o raíces. Ellos son capaces de germinar directamente en la superficie de la planta o en el suelo (Erwin y Ribeiro, 1996). También puede germinar produciendo zoosporas pequeñas, que pueden nadar en por medio del agua en el suelo o sobre una superficie de la planta húmeda, hasta que finalmente entran en la planta. Se propagan por salpicadura de la lluvia, el viento la lluvia, el suelo y el agua del suelo. Ocasionando podredumbre de comienza como pequeñas manchas marrones en el extremo del tallo, base, y raíces podridas, los vientos y lluvias favorecen su propagación a partir de frutas cercanas a árboles. Las infecciones severas pueden destruir todas las frutas en un árbol.

#### 4.4.3 *Phytophthora syringae*

Es una especie homotática, posee esporangios semi-papilados, no caduca. Esta especie se puede confundir con *P. citricola*. Sin embargo, *P. syringae* produce abundante crecimiento hifal, mientras que *P. citricola* produce ninguna (Echemedia, 2003).

Provoca manchas foliares, tizón del retoño y canchales en los tallos. Esta enfermedad se encuentra en cualquier lugar donde se cultivan árboles a raíz desnuda, el desarrollo es favorecido por las condiciones húmedas y frescas, tales como aquéllas que ocurren en las áreas neblinosas cerca de un cuerpo de agua. La infección se asocia a lugares donde se acumula el agua en charcos y puede ser salpicada, esparciendo el patógeno. Los tejidos heridos por la cosecha o la poda corren mayor riesgo de infección.

Las esporas de este patógeno sobreviven en la tierra y en las hojas caídas; se ponen activas durante periodos prolongados de acumulación de agua.

#### 4.4.4 *Phytophthora citrícola*

Es una especie homotética, sus estructuras de reproducción se desarrollan típicamente en medios de cultivo. Posee esporangios semi-papilados y no caducos (Echemedia, 2003).

Provoca manchas foliares, tizón del retoño, pudrición de la corona y la raíz. Este patógeno causa enfermedades foliares tanto en viveros de macetas como en viveros de campo donde el riego durante la temporada de crecimiento es por aspersión. La pudrición de la raíz ocurre en las áreas que están mal drenadas o sujetas a inundaciones.

La infección se da en periodos prolongados de humedad en las hojas y los retoños promueven la fase foliar de esta enfermedad, especialmente bajo lluvia o agua de riego salpicada. La enfermedad avanza desde las hojas o agujas a las ramas y, eventualmente, al tallo principal. Donde la tierra está saturada, el patógeno puede infectar las raíces y moverse hacia arriba a la corona de la raíz y la base del tallo de la planta. Las esporas de este patógeno sobreviven en la tierra o en el medio de crecimiento.

#### 4.4.5 *Phytophthora cinnamomi*

Se ubica en el grupo IV de la clasificación de *Phytophthora*. Posee esporangios no papilados, oogonios globosos, clamidiosporas globosas y presentan hinchamientos hifales. Las clamidiosporas usualmente se agrupan en racimos (3-10).

Los hinchamientos hifales se forman más profusamente que en otras especies *P. cinnamomi* es una especie heterotálica, de anteridios anfígenos, oogonios redondos de hialinos a amarillos.

La temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre el rango de los 24-28°C. Entre las características de crecimiento de *P. cinnamomi* en medio de cultivo se puede observar: abundantes hinchamientos hifales, hinchamientos vesiculares, protuberancias laterales, en PDA forma colonias de tipo arrosetado (forma de rosa).

La sintomatología en las plantas se caracteriza por que usualmente después de la pudrición radicular el follaje de las plantas se torna clorótico, marchito y muere rápidamente. En algunos casos la planta muere súbitamente pero en otros casos sobreviven por varios años particularmente en climas fríos. Las plantas que están estresadas por acceso de humedad o sequía son más susceptibles a infección. El uso excesivo de fertilizantes nitrogenados incrementa la susceptibilidad y severidad de la enfermedad. *P. cinnamomi* puede sobrevivir como saprofita y hasta seis años en suelos húmedos. La defoliación es el síntoma característico. La enfermedad es más severa y se desarrolla más rápidamente en suelos con mal drenaje, pH de 6.5 y 24°C promedio, y fácilmente se disemina por los zapatos, implementos o vehículos.

Las clamidiosporas también se diseminan a través del paso por el tracto digestivo de pájaros y termitas, así como por el agua de lluvia y de riego. El daño radicular ocurre en raíces de tamaño menor a un lápiz, toman coloración negra y se necrosan. Las hojas de árboles infectados disminuyen de tamaño y se tornan de un color verde pálido a amarillento para finalmente defoliarse y producirse la muerte descendente de las ramas (Erwin y Ribeiro, 1996).

## 4.5 OBJETIVOS

### 4.5.1 Objetivo general

- Establecer la presencia del género *Phytophthora* asociado a especies forestales de importancia económica en la región central del país.

### 4.5.2 Objetivos específicos

- Establecer la presencia de *Phytophthora* y su asociación patogénica en especies forestales, en la fase de vivero, en la región central de Guatemala.
- Caracterizar los síntomas típicos de la presencia de *Phytophthora* en cada una de las especies bajo estudio.

## 4.6 HIPÓTESIS

En la región bajo estudio se presenta al menos una especie de *Phytophthora* sp., asociada a alguna especie forestal de importancia económica.

## 4.7 METODOLOGÍA

La investigación se desarrolló durante los meses de octubre 2009 a julio 2010, en cuatro fases de trabajo dependientes entre sí.

### 4.7.1 Primera fase

#### 4.7.1.1 Planificación

Como base, se tomó el listado de viveros registrados por el Instituto Nacional de Bosques – INAB-, se consultó vía telefónica a cada una de las municipalidades por medio del encargado de la Dirección municipal de planificación –DMP-.

Posteriormente se realizó una visita dirigida para confirmar que contaban con vivero forestal. De la misma manera se consultó a los encargados de los programas gubernamentales “Bosques y agua para la concordia” y “Reverdecer Guatemala”.

#### 4.7.1.2 Población objetiva

De acuerdo a la información recabada según el apartado 5.7.1.2., el muestreo se concentro en viveros que se encontraban disponibles a colaborar con la investigación, siendo en su mayoría viveros municipales como se describe en el cuadro 2. En el anexo 7 se detalla información sobre la ubicación exacta de cada vivero forestal.

**Cuadro 2.** Listado de viveros forestales muestreados.

No.	NOMBRE VIVERO	MUNICIPIO	DEPARTAMENTO
1	Vivero Municipal	San José Poaquil	Chimaltenango
2	Vivero La Bendición	San José Poaquil	Chimaltenango
3	Vivero Nuestro Futuro	Santa Apolonia	Chimaltenango
4	Vivero Municipal	Tecpán, Guatemala	Chimaltenango
5	Vivero Municipal	Patzún	Chimaltenango
6	Vivero Municipal	Patzicia	Chimaltenango

7	Vivero Municipal	San Andrés Itzapa	Chimaltenango
8	Asociación Aposentos	Aposentos	Chimaltenango
9	Vivero Municipal	Chimaltenango	Chimaltenango
10	“Super Pílon”	El Tejar	Chimaltenango
11	Vivero Municipal	San Juan Comalapa	Chimaltenango
12	Vivero Municipal	Santo Domingo Xenacoj	Sacatepéquez
13	Vivero Municipal	Pastores	Sacatepéquez
14	Vivero Municipal	Antigua Guatemala	Sacatepéquez
15	“Pilones de Antigua” S.A.	Jocotenango	Sacatepéquez
16	Vivero Municipal	Mixco	Guatemala
17	Vivero Municipal	Palencia	Guatemala
18	Vivero Municipal	San Miguel Petapa	Guatemala
19	Vivero INAB	Guatemala	Guatemala
20	Vivero AMSA	Amatitlán	Guatemala
21	Vivero Municipal	Guatemala	Guatemala
22	Vivero Municipal	San José Pinula	Guatemala
23	Vivero Privado	Villa Nueva	Guatemala

Los mismos se encuentran distribuidos en los 3 departamentos donde se realizó la investigación. La ubicación por departamento se observa en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Viveros forestales localizados por departamento.

DEPARTAMENTO	VIVEROS MUESTREADOS
Guatemala	8
Chimaltenango	11
Sacatepéquez	4
<b>TOTAL</b>	<b>23</b>

#### 4.7.1.3 Método de muestreo

Se realizó un censo de veintitrés viveros forestales, por medio de caminamientos y observación, se muestreo dentro de cada uno de los viveros donde se selecciono la muestra, utilizando un criterio subjetivo y en función de la investigación a realizar, seleccionando la muestra más representativa (French, ER; Hebert, TT. 1980; Álvarez, V. 1988).

Utilizando un diseño de selección de muestras con base a un universo desconocido. Se conocían la cantidad de viveros y áreas a visitar, lo que no se sabía era cuantas unidades de muestreo había dentro de cada área, dado que se buscaron características muy particulares.

## 4.8 Segunda fase o de campo

### 4.8.1 Toma de muestras

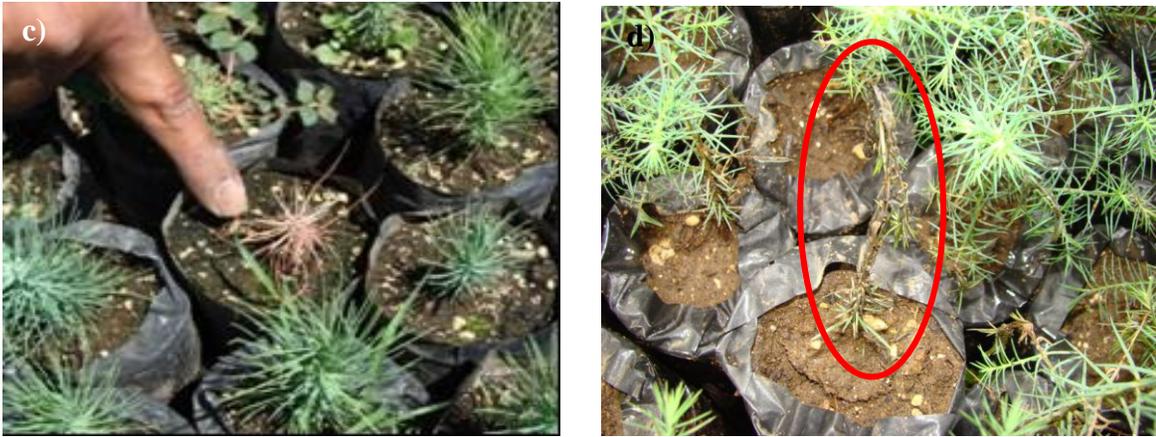
En cada vivero se procedió de la siguiente manera:

- a. Separar áreas de semillero y vivero
- b. Establecer el número de especies forestales presentes y la etapa de desarrollo de las mismas.
- c. Realizar caminamientos y observar plántulas con presencia de síntomas relacionados a daño radicular o muerte vascular, como se observa en la figura 13.

Una vez detectada la muestra, se procedió a colectarla.

Obtenidas las plantas con sintomatología específica, los datos de campo fueron consignados en la boleta diseñada para tal fin (ver anexo 6). Codificación de la muestra, fecha, localidad (municipio, departamento), coordenadas UTM, especie colectada. Para crear un registro (ver cuadro 4).





**Figura 13.** Muestreo de campo. (a). Caminamiento en los bloques de vivero, por tratarse de un censo. (b). Selección de las plántulas según la sintomatología. (c). y (d). Localización de plántula con síntomas de marchitamiento y pudrición en un bloque con iguales características.

#### 4.8.1.1 Transporte de muestras

Las muestras tomadas en campo se colocaron en bolsa de polietileno debidamente identificadas. Transportadas en una hielera (recipiente térmico) resguardándolas evitando exponerlas a factores ambientales.

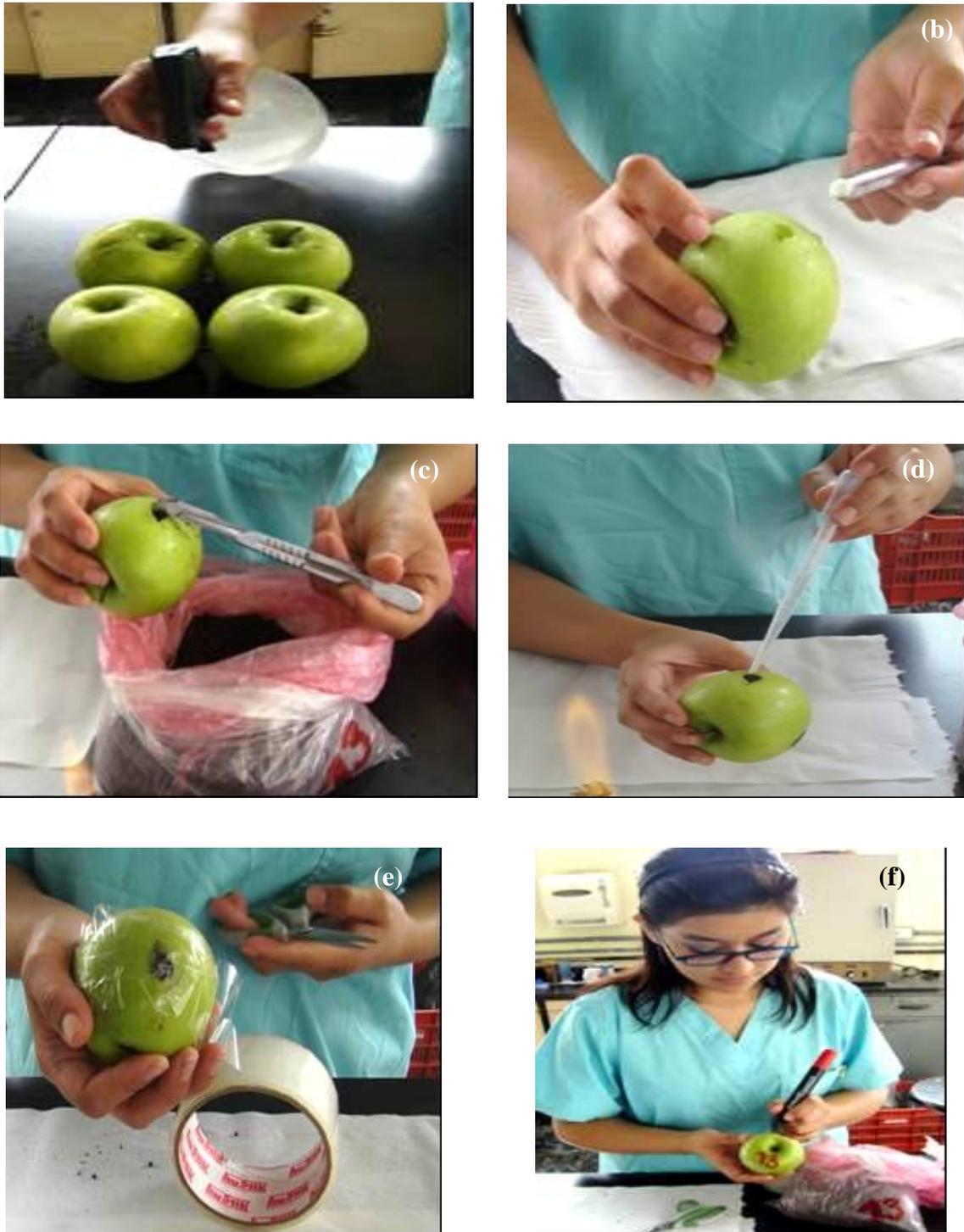
### 4.9 Tercera fase o de laboratorio

#### 4.9.1 Aislamiento a partir de suelo.

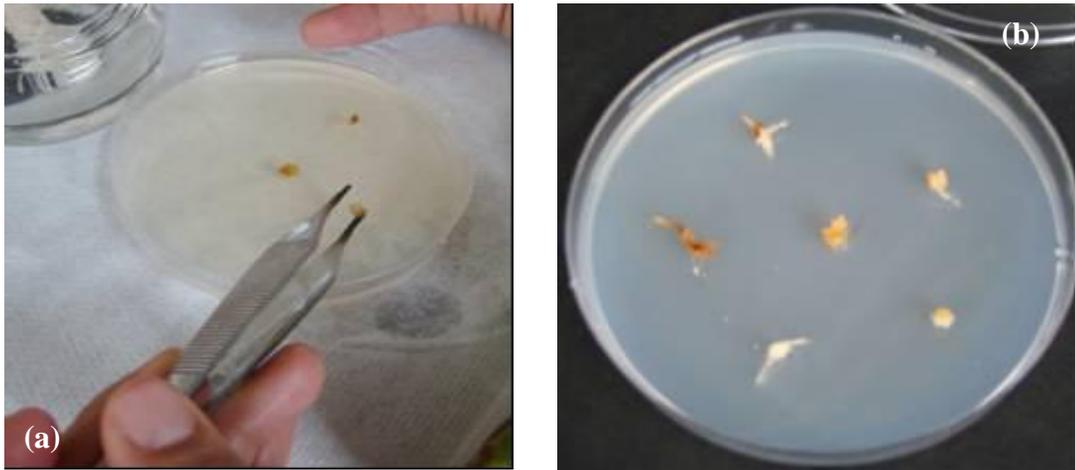
Del suelo recolectado de la rizósfera de cada muestra se homogenizó.

- Se utilizaron manzanas verdes variedad Granny Smith o Anna.
- Se desinfectaron las manzanas con alcohol al 95%.
- En cada manzana se realizaron 4 perforaciones en distintas partes, a una profundidad de 1.5 cm, con un sacabocado.
- En cada una de las perforaciones, se agregaron aproximadamente de 5 a 10 gramos de suelo.

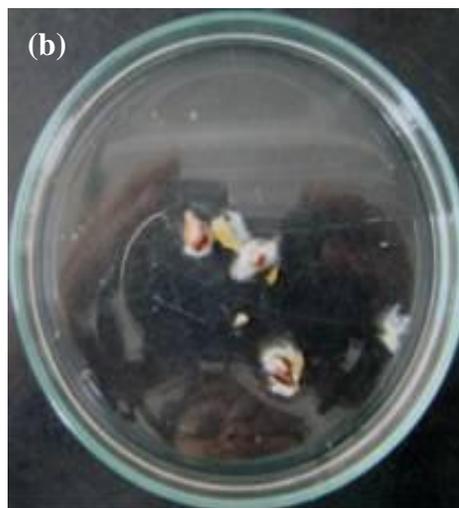
- Con ayuda de una pizeta se agregó agua destilada aproximadamente de 1 a 2 cc en cada perforación.
- Las perforaciones fueron cubiertas con cinta adhesiva transparente (30m \* 48 mm),
- Con marcador indeleble se identificó cada una de las manzanas con el código de campo.
- Las manzanas se dejaron a temperatura ambiente 72 horas, hasta que formaron lesiones (podrición), alrededor del área inoculada. Como se observa en la figura 14.
- Para aislar el patógeno se procedió a purificar en medio selectivo corn meal agar + PARPBH (ver anexo 2).
- Se desinfectó el área de trabajo, así como los instrumentos a utilizar con alcohol al 95%. Se utilizaron mecheros para mantener asepsia en el área de trabajo.
- Con la ayuda de la navaja se procede a partir la manzana inoculada en 4 proporciones equitativas.
- 
- En las lesiones observadas del tejido interno en las zonas de avance (parte sana y enferma) se tomaron porciones de aproximadamente 3 a 5 mm. el procedimiento se efectuó con la ayuda de bisturí, pinza o aguja de disección.
- Se separaron las semillas que se observaron colonizadas.
- Se procedió a la siembra de 6 a 9 trozos de manzana en cajas plásticas petri conteniendo medio selectivo PARPBH. Como se observa en la figura 15.
- Pasado el período, se observó si existía presencia de crecimiento de micelio vegetativo del patógeno.
- Las semillas con indicios de colonización de micelio se colocaron en “solución de suelo” (ver anexo 2).
- Se dejaron incubando por espacio de 24 a 72 horas, y se observó el desarrollo de micelio y esporangios, (ver figura 16).



**Figura 14. Método de aislamiento mediante la técnica “cultivo trampa”.** (a). Desinfección de las manzanas, con alcohol etílico al 95%. (b). Perforaciones de las manzanas con sacabocado especial. (c). Inoculación de la manzana en las diferentes perforación. (d). Hidratación con agua destilada en cada uno de las perforaciones. (e). Sellado de las perforaciones con cinta adhesiva. (f). Identificación de la manzana con los mismos códigos de campo.



**Figura 15. Siembra en medio selectivo.** (a). Forma distribución de las porciones de tejido infectado, en medio selectivo con meal agar + antibióticos. (b). Siembra de 6 a 9 porciones de tejido en medio selectivo en cajas petri.



**Figura 16. Obtención de estructuras reproductivas.** (a). Semillas de manzana solución de suelo con crecimiento miceliar.

#### 4.9.2 Aislamiento a partir de tejido vegetal

- Las raíces de la planta se separaron y se procedió a lavarlas cuidadosamente con agua corriente y en seguida con agua destilada, con el fin de eliminar los residuos de suelo que seguían adheridos a estas, se dejaron secar las mismas sobre papel absorbente por un lapso de 30 minutos.
- En el caso tallos, se identificaron las zonas de avance de los síntomas de enfermedad.
- Posteriormente se procedió a tomar una fracción de tejido incluyendo enfermo y sano.
- Una vez separadas las muestras, se lavaron con agua corriente y en seguida con agua destilada, se dejaron secar sobre papel absorbente por un lapso de 30 minutos.
- En raíces se cortaron pequeños segmentos de 3 mm (aproximadamente), estas porciones se tomaron de las raíces más finas y en las partes en donde estas hayan estado bifurcadas para formar otra raíz, pues es entre estas áreas donde se encuentra más concentrado el inóculo.
- En tallos, se cortaron porciones del tallo longitudinales en la zona de avance de la enfermedad, se tomó tejido infectado como tejido sano. El tamaño de las porciones para siembra debieron ser trozos u hojuelas de 2 a 3 mm de diámetro.
- Se realizó la siembra de 6 a 9 segmentos de tallo o raíz en medio selectivo PARPBH. Incubando a temperatura ambiente por 72 horas, se observó periódicamente el crecimiento micelial. Como se observa en la figura 17.



**Figura 17.** Aislamiento a partir de tejido vegetal. (a). Separación del suelo de las raíces (con mucho cuidado no lastimando las raicillas). (b). Siembra de segmentos de raíz en medio selectivo PARPBH.

#### 4.9.3 Purificación de cepas medio de cultivo PDA.

De las colonias de *Phytophthora* y *Pythium* obtenidas en medio selectivo PARPBH se re-aislaron en medio de cultivo PDA (agar patata dextrosa), ver anexo 3.

Se realizó colocando un disco de 5 mm en el centro de la placa de petri, este se realizo con la ayuda del sacabocado especial.

Según Donald C. Erwin y Olaf K. Ribeiro, (1996), esto se realiza con el objeto de observar y documentar los patrones de crecimiento característico de cada especie (petaloide, rosáceo, radiado, estolonífero, etc.) Ver figura 22.

#### 4.9.4 Re-aislamiento en medio agar V-8 avena

Simultáneamente se procedió a la siembra de medio de cultivo V-8 avena (ver anexo 4), cortando pequeños discos de 5 mm de la zona de avance del medio PDA, con el fin de estimular la producción de estructuras reproductivas (esporas, esporangios) y ser utilizadas en los ensayos de patogenicidad.

## 4.10 Caracterización de los aislados

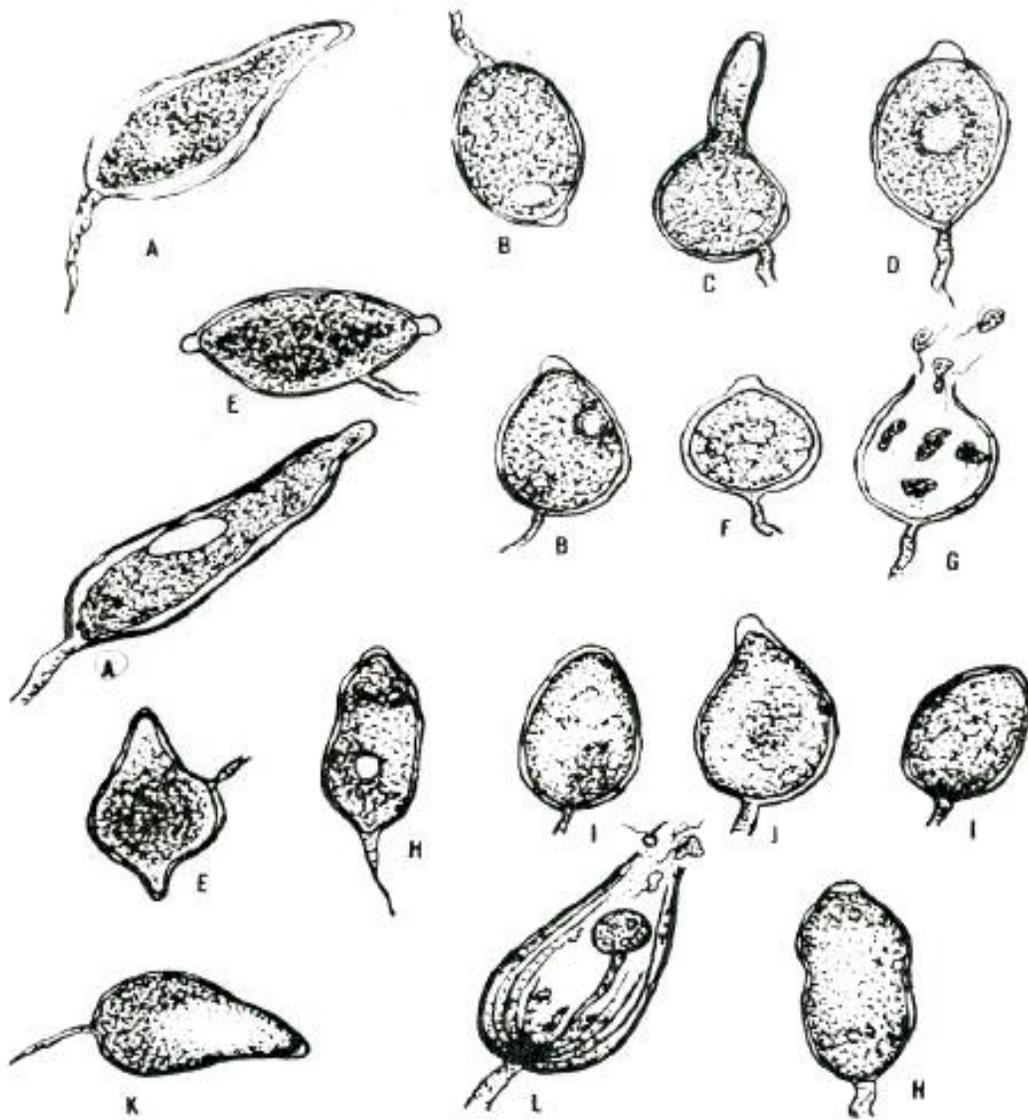
### 4.10.1 Esporangios *Phytophthora*

#### 4.10.1.1 Morfología del esporangio

Para identificar las especies de *Phytophthora* se reconocen algunos parámetros, que han llevado a reunirlos en 6 grupos según Erwin y Ribeiro, (1996). Estos parámetros son:

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. Como se muestran en las figuras 18 y 19 respectivamente.

Otros aspectos tomados en cuenta fueron el tamaño del esporangio (ver figura 21), 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.



- A. Irregular papilado
- B. Limoniforme
- C. Piriforme
- D. Trasovado
- E. Irregular con dos papilas
- F. Globoso

- G. Descargando las zoosporas
- H. Elíptico
- I. Ovalado sin papilas
- J. Ovalado con papilas
- K. Cuerpo esférico y ápice agudo
- L. Múltiple

**Figura 18.** Diferentes tipos de esporangios de las especies del género *Phytophthora*.  
Fuente: Erwin y Ribeiro, (1996).

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 substratos sólidos y usualmente caducos. Oosporas formadas en el hospedero y en medio selectivo; anteridios paraginos.

- **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.

- **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.

- **Grupo 4**

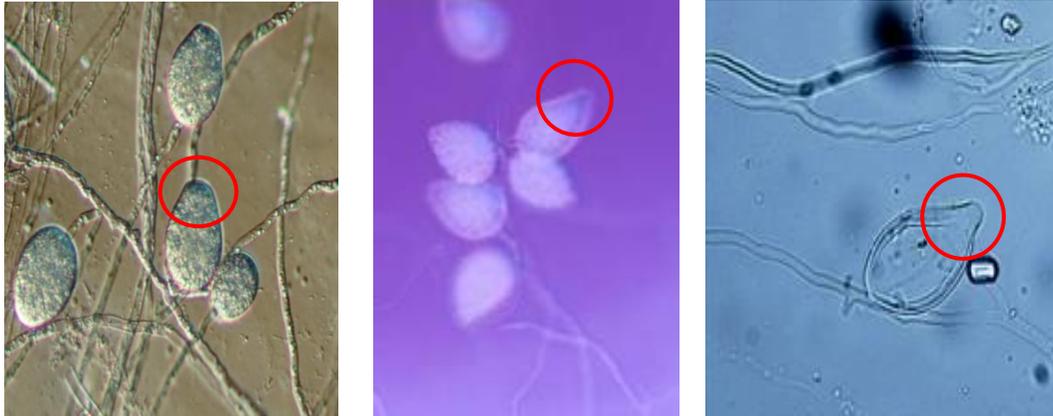
Esporangios semipapilados con endurecimientos apicales más inflamados que 1 y 2. Esporangio generalmente caduco. Nuevos esporangios no proliferan internamente y no forman oosporas en medio de cultivo, a menos que estén los tipos A1 y A2 presentes. Anteridios predominantemente anfígenos.

- **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.

- **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.



**No papilado**

**Semi-papilado**

**Papilado**

**Figura 19. Morfología del esporangio de *Phytophthora*.**

Fuente: Estación Fitopatológica do Areeiro, (2009).



**Ovalado**

**Obpiriforme**

**Globoso**

**Figura 20. Caducidad del esporangio de *Phytophthora*.**

Fuente: Estación Fitopatológica do Areeiro, (2009).



**Longitud del pedicelo**

**Ausencia**

**Figura 21. Longitud, ausencia y presencia de pedicelo de *Phytophthora*.**

Fuente: Estación Fitopatológica do Areeiro (2009).

#### 4.10.1.2 Patrones característicos de cepas de *Phytophthora*

Patrones de crecimiento de *Phytophthora* sp. Se puede utilizar como parámetro de identificación de las diferentes especies, como se observa en la figura 22.

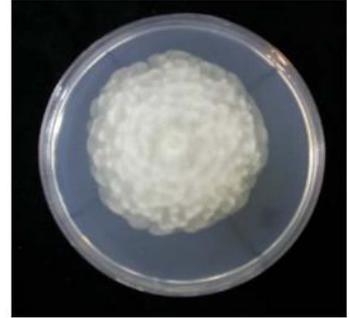
Petalóide



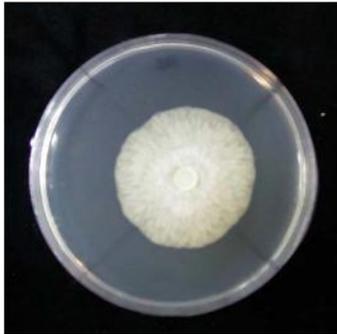
Semipetalóide



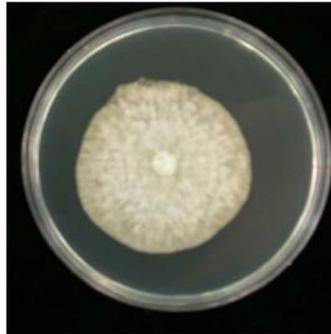
Rosáceo



Semirosáceo



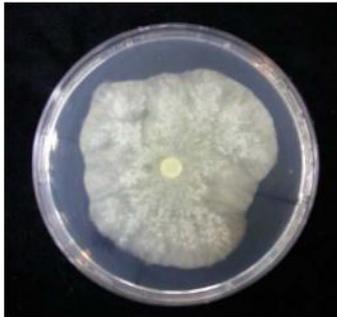
Estelado



Radiado



Sin patrón



Estolonífero



**Figura 22.** Especificación pictográfica de las características de crecimiento para identificar especies de *Phytophthora* desarrolladas en medio PDA según Erwin y Riveiro (1996).

#### 4.11 Ensayo prueba de patogenicidad

Se procedió a realizar la prueba de patogenicidad, en los aislados obtenidos del muestreo de campo, para evidenciar si los aislamientos afectan a las plantas forestales en la etapa de vivero.

##### 4.11.1 Obtención y propagación del inóculo de *Phytophthora*.

De cada uno de los aislados de *Phytophthora*, sembrados en medio de cultivo PDA, se repicó en medio de cultivo Agar V-8 Avena. Se dejó incubar aproximadamente 8 días hasta que presento crecimiento miceliar, se procedió a inocular pequeñas porciones del aislado obtenido en las macetas donde posteriormente se sembraron plántulas sanas de las diferentes especies forestales.

##### 4.11.2 Obtención de plántulas sanas para prueba de patogenicidad

Fue necesario producir plántulas a raíz desnuda sanas libres de cualquier patógeno, para luego ser trasplantadas a macetas con sustrato estéril (peat moss), (Ver figura 23).

Se utilizaron semillas certificadas de Pino candelillo (*Pinus maximinoii*) Pino colorado (*Pinus oocarpa*) Ciprés común (*Cupressus lusitanica*) Cedro (*Cedrela odorata*) Caoba (*Swietenia bumilis*) Pino triste (*Pinus pseudostrobus*), para obtención de plántulas. Se realizo por medio de siembra indirecta, debido a que después tenían que ser transplantadas a macetas.



**Figura 23.** Preparación para la obtención de plántulas para ser utilizadas en pruebas de patogenicidad. (a). Preparación de la bandeja para siembra de semillas. (b). Siembra de semillas certificadas.

Cuando las plántulas desarrollaron las primeras hojas verdaderas o acículas (Ver figura 24), se procedió a trasplantarlas a macetas, seleccionando plántulas que presentarán mejor desarrollo en condiciones generales.



**Figura 24.** Germinación de semillas de Pino triste (*P. Pseudostrobus* Lindl) y Ciprés común (*Cupressus lusitanica* Mill), dos meses después de la siembra.

Inoculación de cepas de *Phytophthora* a las plántulas sanas. Las macetas fueron llenadas con sustrato estéril (Turba más Vermiculita) a  $\frac{3}{4}$ , cada cepa de *Phytophthora* en medio Agar V-8, fue cortado en pequeños cuadros de 1 cm aproximadamente.

Inoculada cada una de las macetas se regaron dos veces al día con agua estéril a capacidad de campo. El desarrollo final de las plántulas se evaluó por medio de aspectos

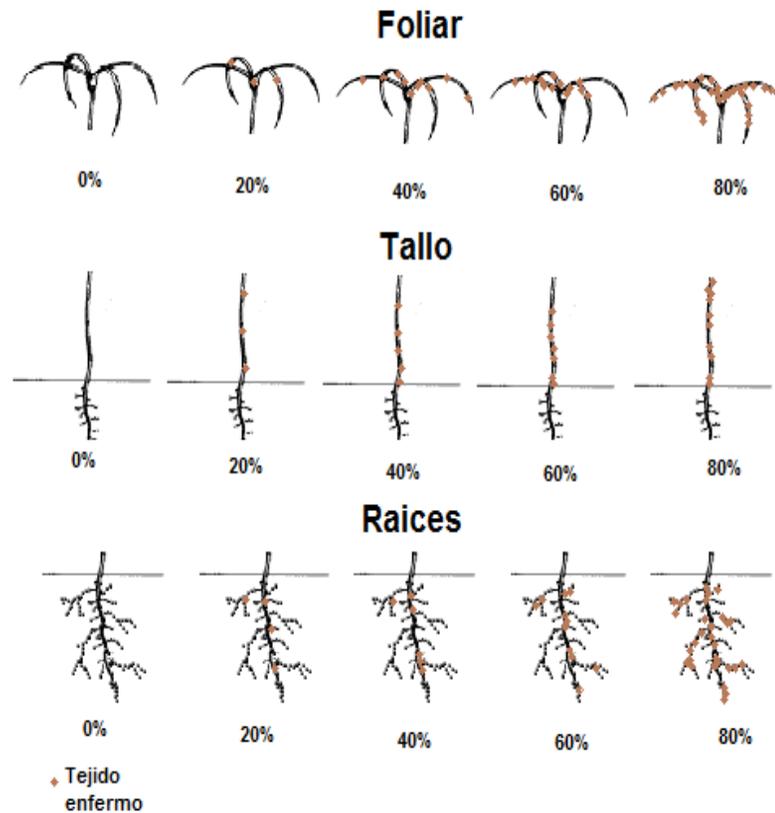
fisiológicos y morfológicos. Esta evaluación se realizó a los 20 días después de realizada la inoculación. Pasado los 20 días de la inoculación del aislado, se procedió a re-aislar y purificar el patógeno causante del marchitamiento de la planta (ver figura 25). Las plantas con síntomas de marchitamiento, pudrición de raíz o tallo, fueron sometidas a re-aislamiento, siguiendo la metodología del cultivo trampa específica para oomicetos.



**Figura 25.** Inoculación de cepas de *Phytophthora* en plántulas sanas. (a). Preparación del sustrato, previo al llenado de la maceta. (b). Placa con cepa aislada en medio V-8, cortado en pequeños fragmentos. (c). Inoculación de cada cepa de *Phytophthora*. (d). Forma de distribución del inoculo en cada maceta.

#### 4.11.3 Cuantificación de la severidad

Se define severidad como la cantidad de tejido afectado por la enfermedad en una planta, expresado generalmente en % de área. Para cuantificar la severidad se utilizó una escala diagramática, donde se evalúa la parte foliar como tallo y raíces de las plántulas forestales, debido a que la enfermedad se presenta por lesiones, como lo muestra la figura 26.



**Figura 26.** Escala diagramática utilizada para determinar la severidad de *Phytophthora* en plántulas de especies forestales.

#### 4.11.4 Cuantificación de la incidencia

Para cuantificar la incidencia se relacionó el número de plántulas afectadas por la enfermedad con el número total de plántulas en el bioensayo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de incidencia} = \frac{\text{número de plantas enfermas}}{\text{número de plantas sanas}} \times 100 = \%$$

### 4.12 Cuarta fase

#### 4.12.1 Preparación de colecciones (Conservación “*in Vitro*”)

##### 4.12.1.1 Conservación de los aislados

Para dicha investigación se utilizó medio agar V-8 (ver anexo 5), llenando tubos plásticos de 12 ml (tapa de rosca) aproximadamente 8 ml del medio PDA, seguidamente se procedió a autoclavar y se dejó solidificando, con una inclinación de 45° (aproximadamente).

Con la ayuda del sacabocado especial se introdujo un disco de 5mm proveniente de la cepa en medio papa dextrosa agar (PDA), se dejó incubando y en observación periódica hasta presentar crecimiento micelial.

Una vez desarrollado el micelio, se le agregó aceite mineral y se trató de cubrir el área de crecimiento, esto con el propósito de conservar la cepa aislada por un lapso de un año (ver figura 27).



**Figura 27.** Conservación de los aislados de *Phytophthora*, proveniente de las cepas aisladas. (a). Tubos plásticos con medio PDA y aceite mineral.  
Fuente: Santos, M del C. 2011.

#### 4.12.1.2 Colección de montajes permanentes

Se prepararon montajes de las estructuras representativas de cada espécimen en medio para montaje de gelatina glicerada y se sellaron con esmalte de uñas transparente.

Se realizaron dos copias de cada uno de los montajes, los cuales son resguardados en cajillas porta montajes con capacidad para 100 portaobjetos y cada cajilla posee sobre la tapa información de registro correlativo de los montajes que conserva.

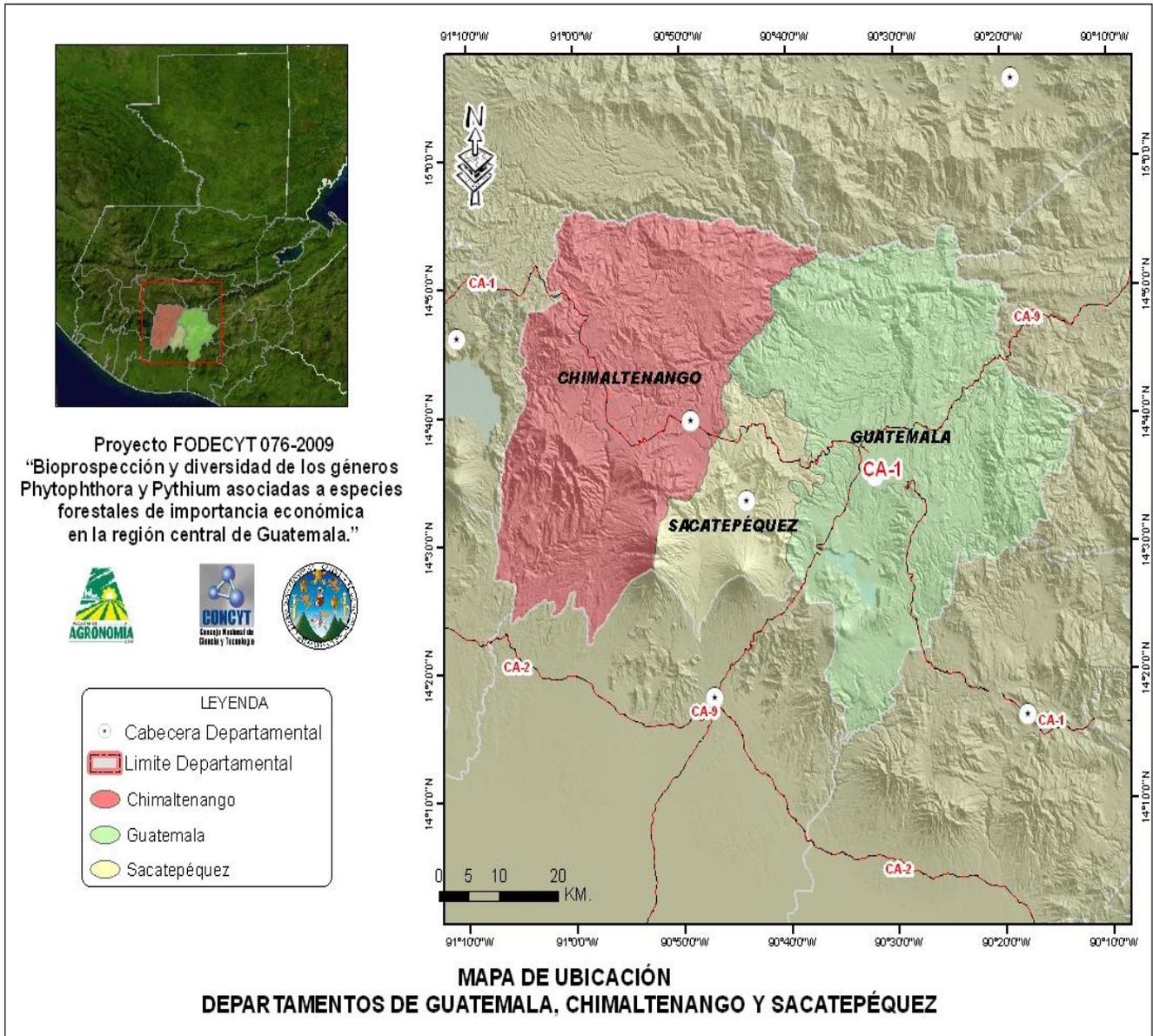
Las cajillas con montajes son conservadas en los gabinetes junto a las colecciones de suelo y colecciones conservados “*in Vitro*”.

#### 4.12.1.3 Colección de imágenes

Se tomaron fotografías al microscopio de las estructuras de cada espécimen obtenido por muestra, que servirán de referencia y consulta en posteriores investigaciones.

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El muestreo se realizó en veintitrés (23) viveros distribuidos en los tres departamentos (ver figura 28), que conforman la región central.



**Figura 28.** Mapa de ubicación del área donde se llevó a cabo la investigación.

Fuente: Santos, M del C. 2011.

En total se obtuvieron sesenta y cuatro muestras, obtenidas de diez especies forestales: Teca (*Tectona grandis*), Cedro (*Cedrela odorata*), Caoba del sur (*Swietenia humilis*), Pinabete (*Abies guatemalensis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus* Lindl), Pino de costa (*Pinus caribaea* Morelet), Ciprés común (*Cupressus lusitanica* Mill), Matilisqueate (*Tabebuia rosea*), Palo blanco (*Cybistax donnell-smithii*). Como se observa en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Datos de muestreo, procedencia, especie de donde se realizó el aislamiento y coordenadas geográficas.

No.	Procedencia	Especie de donde fue aislada	Coordenadas UTM	
1	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 49 18.55	W90 54 23.40
2	San José Poaquil, Chimaltenango.	Ciprés Común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 49 18.55	W90 54 23.40
3	San José Poaquil, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i>	N14 49 18.55	W90 54 23.40
4	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 49 18.55	W90 54 23.40
5	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 49 18.55	W90 54 23.40
6	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N 14 49 05.29	W 90 55 05.38
7	Santa Apolonia, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N 14 49 05.29	W 90 55 05.38
8	Santa Apolonia, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 47 10.69	W90 56 45.61
9	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 47 10.69	W90 56 45.61
10	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	N14 45.411	W90 59.578
11	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 45.411	W90 59.578
12	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill semillero	N14 45.411	W90 59.578
13	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 45.411	W90 59.578
14	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 45.411	W90 59.578
15	Patzun, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 45.411	W90 59.578
16	Patzun, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 41.449	W91 01.324
17	Patzun, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 41.449	W91 01.324
18	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 41.449	W91 01.324

19	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 37 54.22	W90 55 44.19
20	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl semillero	N14 37 54.22	W90 55 44.19
22	Patzicia, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 37 54.22	W90 55 44.19
23	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 37 54.22	W90 55 44.19
24	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 37.139	W90 51.049
25	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 37.139	W90 51.049
26	Pastores, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 37.139	W90 51.049
27	Pastores, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 37.139	W90 51.050
28	Pastores, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 37.139	W90 51.050
29	Jocotenango, Sacatepéquez.	Cedro <i>Cedrela odorata</i>	N14 37.139	W90 51.050
30	Jocotenango, Sacatepéquez.	Teca <i>Tectona grandis</i>	N14 34 35.39	W90 44 28.53
31	Jocotenango, Sacatepéquez.	Pinabete <i>Abies guatemalensis</i>	N14 34 35.39	W90 44 28.53
32	Jocotenango, Sacatepéquez.	Matiliguat <i>Tabebuia rosea</i>	N14 34 35.39	W90 44 28.53
33	Jocotenango, Sacatepéquez.	Palo Blanco <i>Cybistax donnell-smithii</i>	N14 34 35.39	W90 44 28.53
34	Jocotenango, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 34 35.39	W90 44 28.53
35	Aposentos, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 34 35.39	W90 44 28.53
36	Aposentos, Chimaltenango.	Pino de costa <i>Pinus caribaea</i> Morelet	N14 38.263	W90 48.871
37	Aposentos, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 38.263	W90 48.871
38	Chimaltenango, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 38.263	W90 48.871
39	Chimaltenango, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	N14 38.034	W90 48.796
40	El Tejar, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 38.034	W90 48.796
41	El Tejar, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 38 16.28	W90 46 25.90
42	El Tejar, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i>	N14 38 16.28	W90 46 25.90
43	El Tejar, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 38 16.28	W90 46 25.90
44	Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 38 16.28	W90 46 25.90
45	Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 40.772	W90 42.265

46	Antigua Guatemala, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 40.772	W90 42.265
47	Antigua Guatemala, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 34 11.66	N14 34 11.66
48	San Juan Comalapa, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 34 11.66	N14 34 11.66
49	San Juan Comalapa, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Lindl	N14 44.125	W90 53.394
50	Mixco, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	N14 44.125	W90 53.394
51	Mixco, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 38 23.15	W90 37 29.88
52	Palencia, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 38 23.15	W90 37 29.88
53	Palencia, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 39.896	W90 21.549
54	San Miguel Petapa, Guatemala.	Caoba del sur <i>Swietenia humilis</i>	N14 39.896	W90 21.549
55	San Miguel Petapa, Guatemala.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	N14 39.896	W90 21.549
56	INAB, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 31 25.79	W90 33 01.01
57	INAB, Guatemala.	Pino de costa <i>Pinus caribaea</i> Morelet	N14 31 25.79	W90 33 01.01
58	Amatitlan, Guatemala	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 32.340	W90 36.655
59	Amatitlan, Guatemala	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 32.340	W90 36.655
60	Guatemala, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 35.104	W90 33.200
61	Guatemala, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	N14 35.104	W90 33.200
62	San José Pinula, Guatemala.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i>	N14 35.126	W90 33.190
63	Barcenás, Villa Nueva, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	N14 35.126	W90 33.190
64	Barcenás, Villa Nueva, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	N14 33 03.07	W90 25 01.40

Al realizar el aislamiento respectivo efectuados de tejido vegetal o suelo como lo muestra el cuadro 5. Se obtuvieron veintisiete cepas positivas para el género *Phytophthora* spp. Sometidas a pruebas de patogenicidad en siete de ellas, se comprobó la filiación patogénica con una especie forestal, todas evaluadas bajo las mismas condiciones como se describe en la figura 29.

**Cuadro 5.** Datos obtenidos a partir de la prueba de patogenicidad, en comparación al tipo de asilamiento (suelo o tejido vegetal).

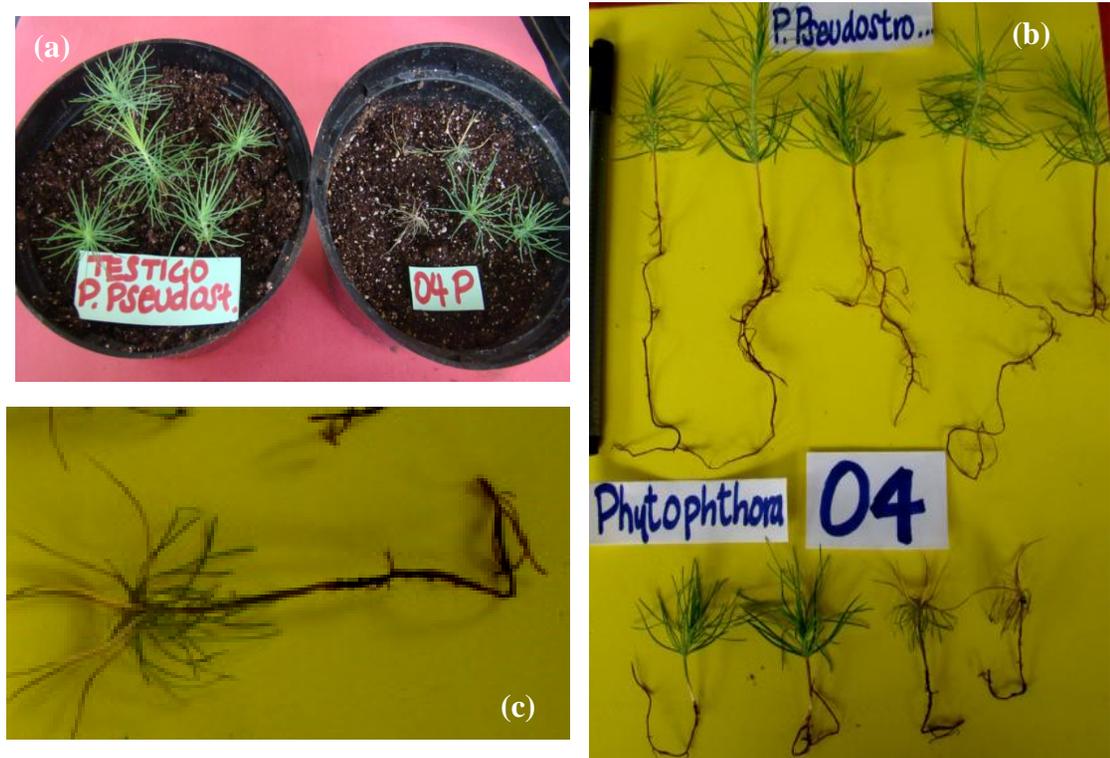
No.	Procedencia	Especie de donde fue aislada	Resultados de patogenicidad	Aislado obtenido	Aislamiento a partir de
1	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
2	San José Poaquil, Chimaltenango.	Ciprés Común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -
3	San José Poaquil, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitánica</i>	- - -	- - -	- - -
4	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
5	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
6	San José Poaquil, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
7	Santa Apolonia, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
8	Santa Apolonia, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
9	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
10	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
11	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
12	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill semillero	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
13	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
14	Tecpán	Ciprés común	- - -	- - -	- - -

	Guatemala, Chimaltenango.	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill			
15	Patzun, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
16	Patzun, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -
17	Patzun, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
18	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
19	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
20	Patzicia, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl semillero	- - -	- - -	- - -
22	Patzicia, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
23	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
24	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
25	San Andrés Itzapa, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	tallo
26	Pastores, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
27	Pastores, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
28	Pastores, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
29	Jocotenango, Sacatepéquez.	Cedro <i>Cedrela odorata</i>	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
30	Jocotenango, Sacatepéquez.	Teca <i>Tectona grandis</i>	- - -	- - -	- - -
31	Jocotenango, Sacatepéquez.	Pinabete <i>Abies guatemalensis</i>	- - -	- - -	- - -
32	Jocotenango, Sacatepéquez.	Matilisguate <i>Tabebuia rosea</i>	- - -	- - -	- - -
33	Jocotenango,	Palo Blanco	- - -	- - -	- - -

	Sacatepéquez.	<i>Cybistax donnell-smithii</i>			
34	Jocotenango, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -
35	Aposentos, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
36	Aposentos, Chimaltenango.	Pino de costa <i>Pinus caribaea</i> Morelet	- - -	- - -	- - -
37	Aposentos, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
38	Chimaltenango, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
39	Chimaltenango, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	tallo
40	El Tejar, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
41	El Tejar, Chimaltenango.	Pino triste <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
42	El Tejar, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i>	- - -	- - -	- - -
43	El Tejar, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	tallo
44	Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
45	Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
46	Antigua Guatemala, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
47	Antigua Guatemala, Sacatepéquez.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
48	San Juan Comalapa, Chimaltenango.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
49	San Juan Comalapa, Chimaltenango.	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
50	Mixco, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -

		semillero			
51	Mixco, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	Suelo
52	Palencia, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
53	Palencia, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus</i> <i>lusitanica</i> Mill	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
54	San Miguel Petapa, Guatemala.	Caoba del sur <i>Swietenia</i> <i>humilis</i>	- - -	- - -	- - -
55	San Miguel Petapa, Guatemala.	Pino triste <i>Pinus</i> <i>pseudostrobus</i> Lindl	Positivo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
56	INAB, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus</i> <i>lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -
57	INAB, Guatemala.	<i>Pino de costa</i> <i>Pinus caribaea</i> Morelet	- - -	- - -	- - -
58	Amatitlan, Guatemala	Ciprés común <i>Cupressus</i> <i>lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -
59	Amatitlan, Guatemala	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	- - -	- - -	- - -
60	Guatemala, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus</i> <i>lusitanica</i> Mill	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	raíz
61	Guatemala, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Mooresemillero	- - -	- - -	- - -
62	San José Pinula, Guatemala.	Pino triste <i>Pinus</i> <i>pseudostrobus</i> Lindl	- - -	- - -	- - -
63	Barcenas, Villa Nueva, Guatemala.	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Negativo	<i>Phytophthora</i> sp.	suelo
64	Barcenas, Villa Nueva, Guatemala.	Ciprés común <i>Cupressus</i> <i>lusitanica</i> Mill	- - -	- - -	- - -

Las especies forestales más susceptibles fueron Caoba del sur (*Swietenia humilis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus* Lindl), Ciprés común (*Cupressus lusitanica* Mill), como se observa en el cuadro 6.



**Figura 29.** Evaluación pruebas de patogenicidad. (a). Comparación de características, respecto a plántulas de maceta testigo; como: color, desarrollo. (b). Comparación plántulas maceta testigo, y en relación al desarrollo radicular y la sintomatología presente, asociada con *Phytophthora* sp., (cuantificación de incidencia). (c). Plántula extraída de la maceta con inoculo de *Phytophthora* sp., se observa marchitez, decoloración, escaso desarrollo radicular y pudrición (evaluación de severidad).

La variabilidad de la patogenicidad puede deberse a varios factores entre ellos: temperatura, pH del medio en el que fue aislado, tiempo entre el aislamiento de la cepa y entre efectuada la prueba de patogenicidad, que influirían en la virulencia de la cepa. Así como, las técnicas de manipulación de las cepas aisladas, condiciones inadecuadas de almacenaje en cuanto a temperatura, condiciones fisiológicas del hospedero, entre otras.

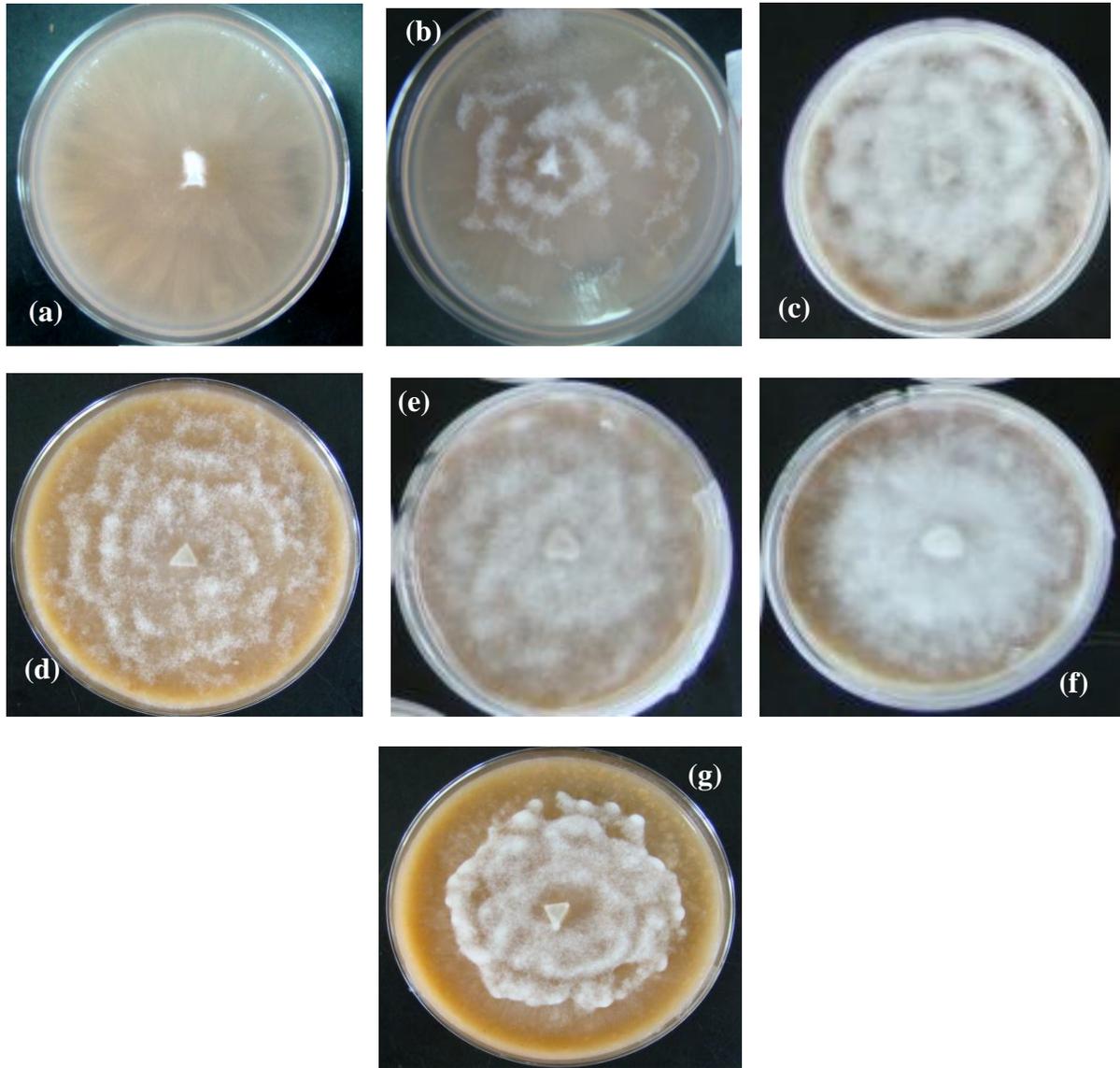
**Cuadro 6.** Listado de cepas patogénicamente positivas aisladas de especies forestales.

No.	CORRELATIVO	Aislado Obtenido	Especie de donde fue aislada	Procedencia
1	4	<i>Phytophthora sp.</i>	Pino triste <i>Pinus pseudostrabus</i> Lindl	Vivero Privado “La Bendición”, San José Poaquial, Chimaltenango.
2	12	<i>Phytophthora sp.</i>	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Vivero Municipal Tecpán Guatemala, Chimaltenango.
3	23	<i>Phytophthora sp.</i>	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Vivero Municipal San Andrés Itzapa, Chimaltenango.
4	42	<i>Phytophthora sp.</i>	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Vivero Privado “Súper Pílon”, El Tejar, Chimaltenango.
5	50	<i>Phytophthora sp.</i>	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore semillero	Vivero Municipal Mixco, Guatemala.
6	52	<i>Phytophthora sp.</i>	Pino candelillo <i>P. Maximinoi</i> H. E. Moore	Vivero Municipal Palencia, Guatemala.
7	54	<i>Phytophthora sp.</i>	Caoba del sur <i>Swietenia humilis</i>	Vivero Municipal San Miguel Petapa, Guatemala.

### 5.1 Caracterización de cepas de *Phytophthora sp.*

Se caracterizaron seis (6) patrones de crecimiento, desarrollados en medio PDA. La identificación se realizó siguiendo los parámetros de clasificación propuesta por Erwin y Riveiro (1996).

En la figura 30 se observa la diferencia en cuanto al crecimiento miceliar, colonia de crecimiento liso radiado (fig. 30a), colonia semi lisa y algodonosa semi-petaloide (fig. 30b), colonia lanosa rosáceo (fig. 30c), colonia algodonosa petaloide (fig. 30d), colonia lanosa semi-rosáceo (fig. 30e), colonia tipo “tela de araña” sin patrón definido (fig. 30f), colonia algodonosa rosáceo (fig. 30g).



**Figura 30.** Crecimiento de cepas aisladas. (a). crecimiento radiado. (b). semi-petaloide. (c). Rosáceo. (d). petaloide. (e). semi-rosáceo. (f) sin patrón. (g). Rosáceo. Fuente: Santos, M del C. 2011.

Cabe mencionar que las características del patrón de crecimiento y morfológicas, pueden ser similares e incluso variar de una especie a otra. De esta cuenta se realizó un trabajo preliminar de posible identificación y asociación, como lo muestra el cuadro 7.

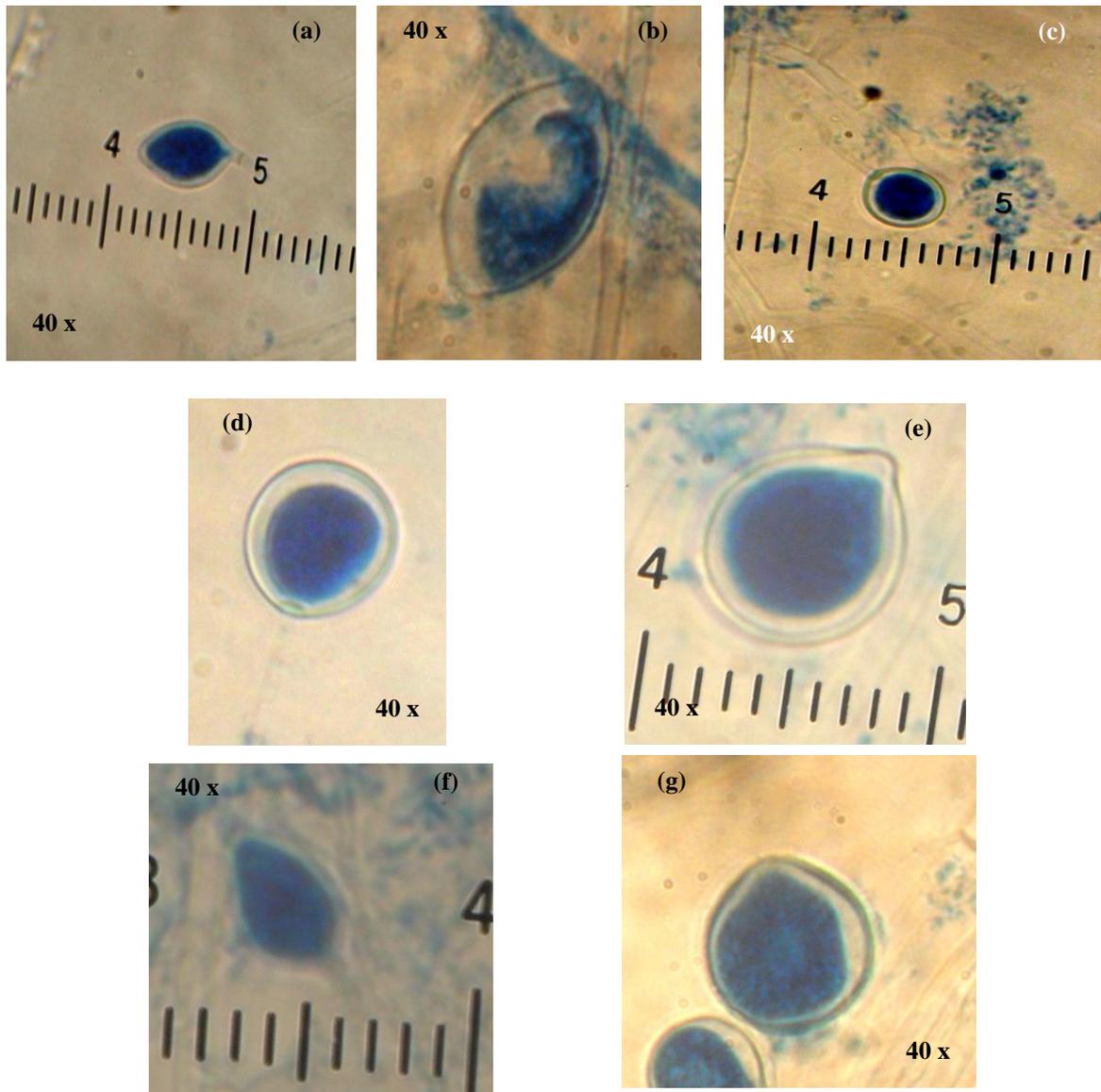
Donde se observó esporangio ovalado, semi-papilado, pedicelo presente  $<5\mu\text{m}$  (fig. 31a), asociado a *P. syringae* (G III); esporangio ovalado, semi-papilado, pedicelo presente  $<5\mu\text{m}$  (fig. 31b), asociado a *P. citricola* (G III); esporangio ovalado, no papilado, pedicelo presente  $> 20\mu\text{m}$

(fig. 31c y d), asociado a *P. cinnamomi* (G VI); esporangio limoniforme, pedicelo ausente, (fig. 31 e), asociado a *P. nicotianae* (G II); esporangio semi-papilado, pedicelo presente <5 $\mu\text{m}$  (fig. 31f), debido a que este aislado presenta características no bien definidas, se asocia al grupo III, esporangio papilado, pedicelo ausente, (fig. 31 g), asociado *P. palmivora* (G II).

**Cuadro 7.** Descripción de las características asexuales de aislados de *Phytophthora* sp., asociadas a especies forestales.

Aislado No.	Pedicelo	Longitud ( $\mu\text{m}$ )			ESPORANGIO				Patrón de crecimiento
		(<5)	(5-20)	(>20)	Forma	No papilado (NP) Semi-papilado (SP) Papilado (P)	Largo $\mu\text{m}$ (promedio)	Ancho $\mu\text{m}$ (Promedio)	
4	Presente	si	-	-	Ovalado con papilas	SP	5.8	6	Radiado
12	Presente	si	-	-	Ovalado sin papilas	SP	5.7	6.1	Semi-petaloide
23	Presente	-	-	si	Ovalado sin papilas	NP	5.4	5.5	Rosáceo
42	presente	-	-	si	Ovalado sin papilas	NP	9.2	9.3	Petaloide
50	Ausente	-	-	-	Limoniforme	P	11.9	8.7	Semi-rosáceo
52	Presente	si	-	-	Cuerpo esférico y ápice agudo	SP	11.1	11.7	Sin patrón
54	Ausente	-	-	-	Limoniforme	P	9.1	9.7	Rosáceo

Según lo descrito con anterioridad se asocian cinco (5), especies de *Phytophthora* a viveros de especies forestales, tres (3) de ellas reportadas para Guatemala en el año 2007 asociada a cultivos de exportación, como lo son: *P. palmivora*, *P. cinnamomi*, *P. citrícola* y *P. nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica*). Se destaca la posible detección de *P. syringae*. Especie nueva para Guatemala, por su asocio con especies forestales.



**Figura 31.** Características esporangios de *Phytophthora* aislados de especies forestales.

(a). Esporangio aislado de Pino triste (*P. Pseudostrobus* Lindl). proveniente de San José poaquil, Chimaltenango, asociado a *P. syringae*. (b). Esporangio aislado de Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), proveniente de Tecpán, Chimaltenango, asociado a *P. citricola*. (c). Esporangio aislado de Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), proveniente de San Andrés Itzapa, Chimaltenango, asociado a *P. cinnamomi*. (d). Esporangio aislado de Ciprés común (*Cupressus lusitanica* Mill), proveniente de El Tejar, Chimaltenango, asociado a *P. cinnamomi*. (e). Esporangio aislado Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), proveniente de Mixco Guatemala, asociado a *P. nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica*). (f). Esporangio aislado Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), proveniente de Palencia, Guatemala. (g). Esporangio asilado de Caoba del sur (*Swietenia humilis*), proveniente de San Miguel Petapa, Guatemala, asociado a *P. palmivora*.

## 5.2 Incidencia y severidad por zonas productoras

### 5.2.1 Departamento de Guatemala

De los ocho (8) viveros muestreados en los municipios del departamento de Guatemala, se obtuvieron dieciséis (16) muestras, de estas tres (3) dieron positivas según la asociación patogénica para *Phytophthora sp.*, correspondientes a las muestras 50, 52, y 54. Según la asociación de características se da la posible asociación con las especies: *P. nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica*), y *P. palmivora*. Existen características muy particulares para el asilado 50 las características observadas eran variables, de acuerdo a la descripción el esporangio se ubica en el grupo III.

Síntomas:

En plántulas de Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), se observó foco de infección en almácigo con coloración amarillenta, escaso desarrollo. En plántulas la enfermedad se localizaba en la parte baja del tallo al ras del suelo, como lo citado por Erwin y Riveiro (1996), asociado a *P. nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica*).

En plántulas de Caoba del sur (*Swietenia humilis*), se observó tejido blando y decolorado, pudrición en la base del tallo y defoliación, asociado a *P. palmivora* (Erwin y Riveiro, 1996).

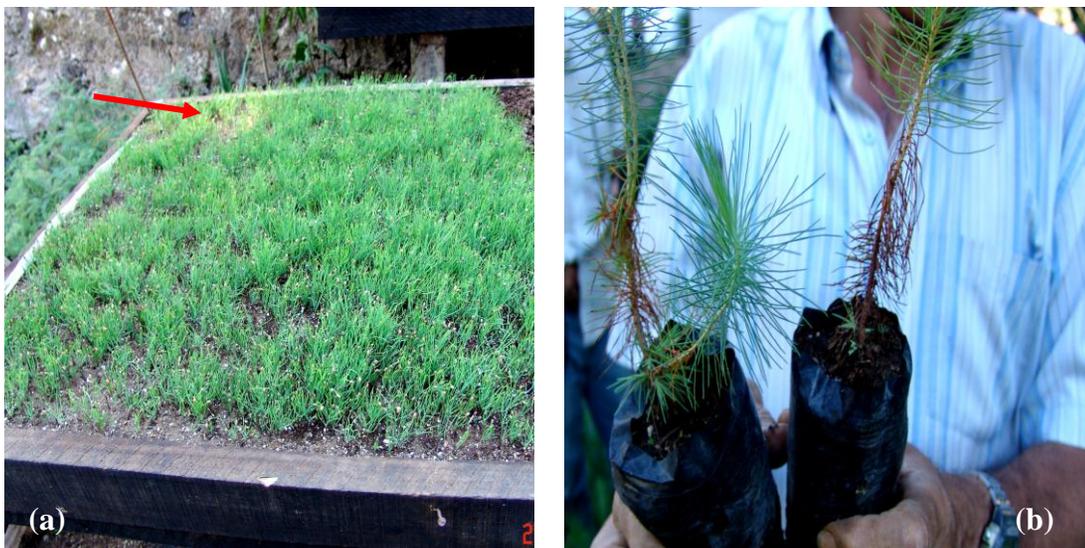


Figura 32. Síntomas en plántulas de Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), en

**campo.** (a). Parche o foco de infección en almacigo de Pino candelillo (*P. maximinoi* H. E. Moore), donde la coloración se torna de color amarillenta y las plántulas presentan escaso desarrollo en comparación a otras áreas. (b). En la fotografía se compara dos plántulas halladas en el mismo bloque, con daños distintos (izquierda) exterioriza sequedad nutricional. (Derecha) daño severo, decaimiento de las acículas, debido a que existe pobredumbre en el base del tallo.



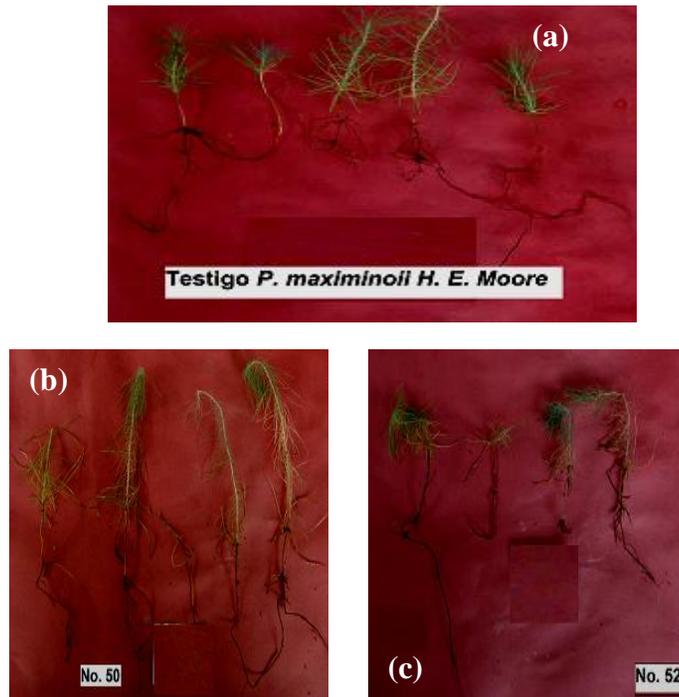
**Figura 33. Síntomas en plántulas de Caoba del sur (*Swietenia humilis*), en campo.**

(a). Desarrollo de la infección en bloque de plántulas. En el lado izquierdo se observa decaimiento y marchitez de las plántulas. Al centro su desarrollo ha sido escaso, en comparación a la altura y parte foliar del lado derecho. (b). El círculo muestra ahorcamiento en la base del tallo de la plántula, ocasionado por la pérdida de tejido radicular.

En plántulas analizadas se generalizó el desecamiento, debido a que en las raíces se encontraban con pobredumbre, infectando el tallo y con ello la pérdida foliar, en algunas se observó la presencia de masa micelial adherida a la zona radicular donde el desarrollo de la enfermedad era favorecido por condiciones de humedad como se muestra en la figura 34 y 35. La incidencia en la cepa 50 (Grupo II), fue de 60%, y la severidad de 76%. En la cepa 52 *P. nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica*), incidencia de 80% y severidad de 69%. En la cepa 54 *P. palmivora* la incidencia fue de 40% y severidad 25%, como se observa en el cuadro 8.

**Cuadro 8.** Cuadro resumen de datos de incidencia y severidad para los aislados obtenidos en el departamento de Guatemala.

Cepa	Incidencia (%)	Severidad (%)
50	60	76
52	80	69
54	40	25



**Figura 34.** Efecto del daño ocasionado por *Phytophthora* en *P. maximinoi* H. E. Moore. El daño en plántulas fue generalizado en la muestra 50 y 52 el tejido radicular se encontraba completamente necrotizado, llegando a la zona del tallo, ocasionando defoliación y sequedad de la plántula.



**Figura 35.** Efecto del daño ocasionado por *Phytophthora* en el sistema radicular de *Swietenia humilis*. Escaso desarrollo del sistema radicular, la raíz primaria se observa levemente afectada, coloración marrón en el cuello del tallo.

### 5.2.2 Departamento de Sacatepéquez

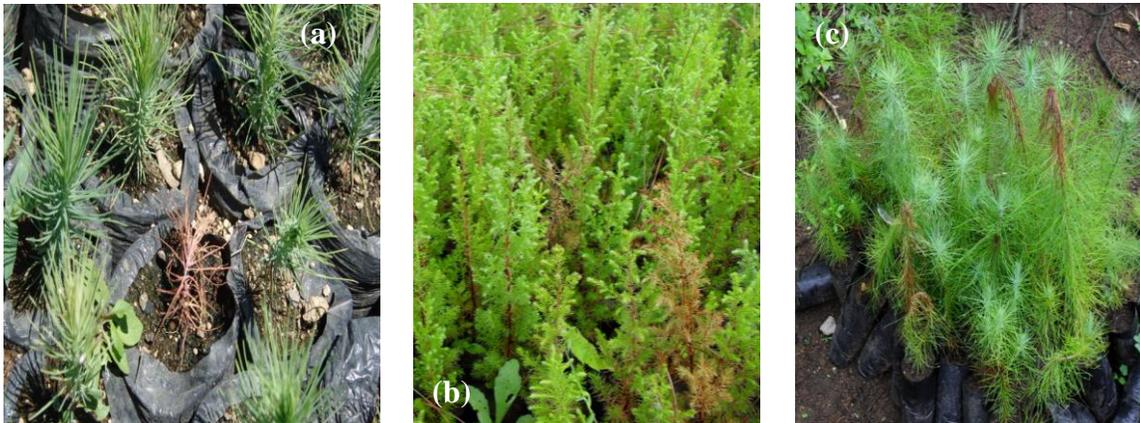
Se muestrearon cuatro (4) viveros, obteniendo trece (13) muestras, donde se obtuvo cuatro (4) cepas de *Phytophthora* correspondientes a las muestras 26, 27, 28 y 44 como se muestra en el cuadro 9. Sin embargo según el bioensayo no presentan patogenicidad.

**Cuadro 9.** Datos generados a partir del muestreo realizado en el departamento de Sacatepéquez.

No.	CORRELATIVO	Resultados Pruebas de patogenicidad	Especie de donde fue aislada	Procedencia
1	26	Negativo	Pino candelillo <i>P. maximinoi</i> H. E. Moore	Vivero Municipal Pastores, Sacatepéquez.
2	27	Negativo	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Vivero Municipal Pastores, Sacatepéquez.
3	28	Negativo	Pino candelillo <i>P. Maximinoi</i> H. E. Moore	Vivero Municipal Pastores, Sacatepéquez.
4	44	Negativo	Ciprés común <i>Cupressus lusitanica</i> Mill	Vivero Municipal Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez.

### Síntomas:

Las muestras 26, 27, y 28 obtenidas en el mismo vivero. Presentaban daños de muerte vascular y pudrición radicular, los aislados se realizaron de tejido vegetal y suelo. Siguiendo el criterio de asociación de síntomas la realización de toma de muestras se describe en la figura 36.



**Figura 36.** Localización de síntomas, asociados con *Phytophthora*. (a). Muerte total de la plántula de *P. maximinoii* H. E. Moore, de 3 meses, ubicada dentro de un bloque con iguales características. (b). Representación de daño vascular en *Cupressus lusitanica*. (c). Vista de un bloque de *P. maximinoii* H. E. Moore, plantas sanas y enfermas, se presenta decoloración y marchitez, muerte descendente.

La muestra 44 presentaba pudrición radicular en la plántula, en un ambiente con alta humedad, como se observa en la figura 37.

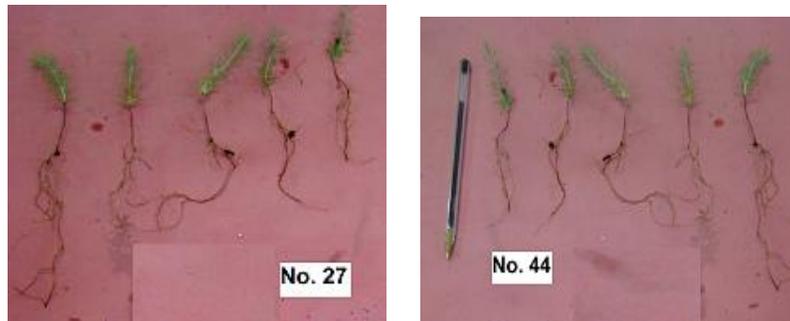


**Figura 37.** Síntomas de *Phytophthora*, localizados en Ciprés Común (*Cupressus lusitanica* Mill).

El bioensayo indicó que para las muestras 26, 27, 28 y 44 no era *Pythophthora* el agente causal de la enfermedad, según la sintomatología observada a nivel de campo y que condujeron a tomar la muestra para ser analizada. Debido a que dichos síntomas no se presentaron en las plántulas inoculadas, como lo muestra la figura 38 y 39. Se concluye que posiblemente se encontraban estructuras de conservación de dicho patógeno tales como oosporas o clamidiosporas presentes en el suelo utilizado en el llenado de bolsas en vivero, llevado posiblemente de algún área donde se encontraba otro cultivo hospedero, o bien diseminada por el agua de lluvia y de riego.



**Figura 38.** Evaluación de bioensayo en plántulas de *P. maximinoi* H. E. Moore.



**Figura 39.** Bioensayo en *Cupressus lusitanica* Mill.

### 5.2.3 Departamento de Chimaltenango

En el Departamento de Chimaltenango se muestrearon trece (13) viveros, obteniendo veintiséis (26) aislados, de estas cuatro (4) dieron positivas según la asociación patogénica para *Phytophthora* sp., correspondientes a las muestras 4, 12, 23 y 42. Las características de los aislados se muestran en el cuadro 5. Asociadas posiblemente a las especies: *P. syringae*, *P. citricola*, y *P. cinnamomi*.

#### Síntomas:

En plántulas de *P. pseudostrobus* localizada en San José Poaquil, las plántulas presentaban decoloración, marchitez, y escaso desarrollo, asociado a *P. syringae* (fig. 40a).

En el caso de *P. maximinoii* H. E. Moore, localizada en el municipio de Tecpán Guatemala, la enfermedad se localizaba en la parte del tallo pudrición radicular y ahorcamiento en el cuello de la raíz. Asociado a *P. citricola* (fig. 40b).

En *P. maximinoii* H. E. Moore proveniente de San Andrés Itzapa, el follaje se encontraba marchito y decolorado (fig. 40d), en *Cupressus lusitanica* Mill localizada en El tejear, las plántulas se encontraban completamente secas y defoliadas, debido a la pérdida de raíces secundarias y terciarias (fig. 40c). Ambos daños asociados a *P. cinnamomi*.

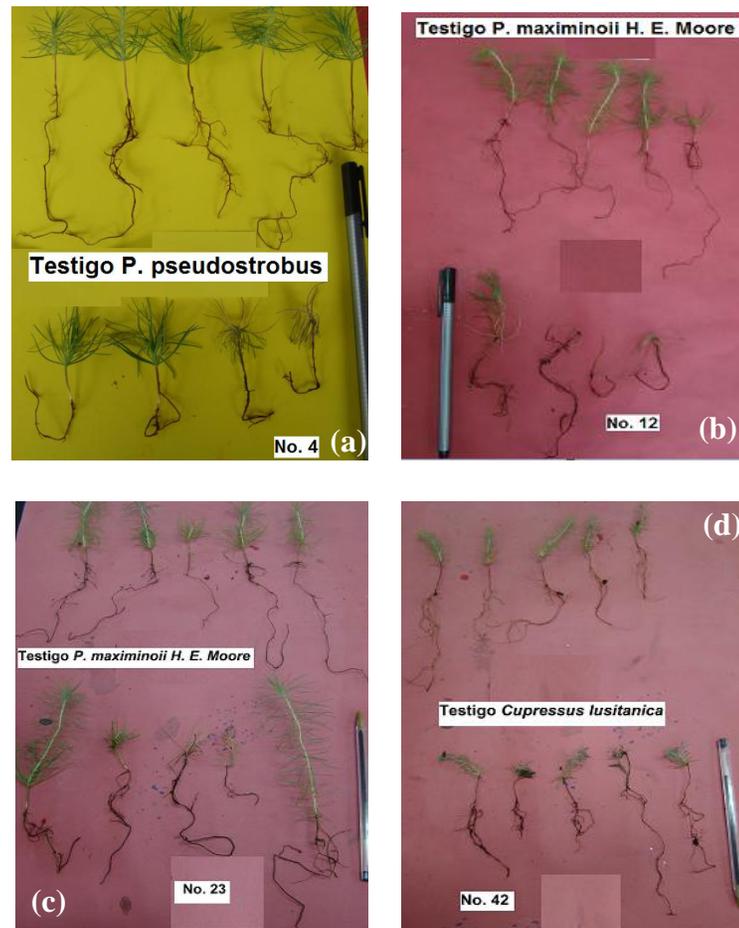


**Figura 40.** Síntomas asociados con *Phytophthora* localizados en el departamento de Chimaltenango. (a). Síntomas observados en plántulas de *P. pseudostrobus* Lindl, escaso desarrollo de la plántula, decoloración y pérdida foliar. (b). Se observa daños en la parte radicular, así como en la parte foliar, cambio en la coloración y marchitez. (c). En *Cupressus lusitanica* Mill el daño es severo, ya que la plántula se encontraba seca y con pudrición en las raíces. (d). *P. maximinoii* H. E. Moore, marchitez, decoloración, defoliación, aún emite hojas verdes.

En plántulas analizadas el daño tuvo mayor incidencia en la parte radicular, donde presento pudrición de raíz; encontrándose segmentadas (cortadas), este síntoma se generalizo provocando defoliación, escaso desarrollo, hasta la pudrición completa de la plántula (ver figura 41). La incidencia en la cepa 4 *P. siryngae* fue de 82%, y la severidad de 74%. En la cepa 12 *P. citrícola* la incidencia fue de 80% y severidad de 89%. En la cepa 23 *P. cinnamomi*. la incidencia fue de 65% y severidad 50%. En la cepa 42 *P. cinnamomi*. La incidencia fue de 75% y severidad 80% (ver cuadro 10).

**Cuadro 10.** Cuadro resumen de datos de incidencia y severidad para los aislados obtenidos en el Departamento de Chimaltenango.

Cepa	Incidencia (%)	Severidad (%)
4	82	74
12	80	89
23	65	50
42	75	80



**Figura 41.** Efecto del daño provocado por *Phytophthora* en especies forestales. (a). (b). (c). y (d). Evaluación respecto a plántulas testigo.

### 5.3 Localización geográfica de *Phytophthora* sp., asociado a especies forestales en fase de vivero.

En las figuras 42 y 43 se observan los mapas de localización por departamento con la ubicación, según coordenadas geográficas de los puntos de muestreo donde se encontró presencia del patógeno *Phytophthora*.

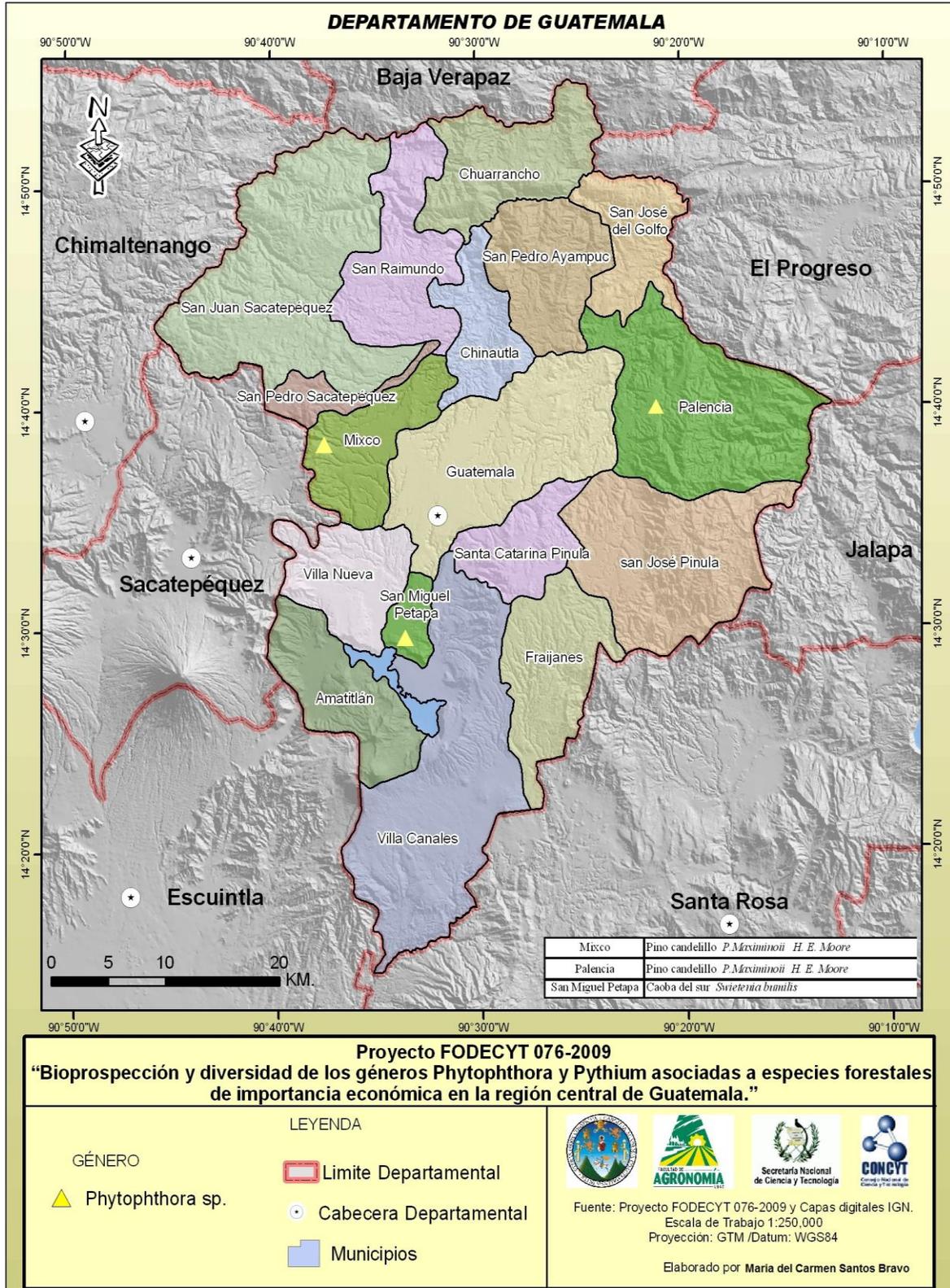
Concluyendo que para el departamento de Guatemala se encontraron dos especies de importancia fitosanitaria: *P. nicotianae* (*P. parasitica*), reportada en palo blanco (*Tabebuia donnell-smithii*), en los departamentos de Guatemala y Santa Rosa, y *P. palmivora* reportada con asocio a cacao (*Theobroma cacao* L.).

En el departamento de Chimaltenango se encontraron: *P. silyngae*, *P. citrícola* y *P. cinnamomi*. Esta última reportada en chile pimiento (*Capsicum annuum*).

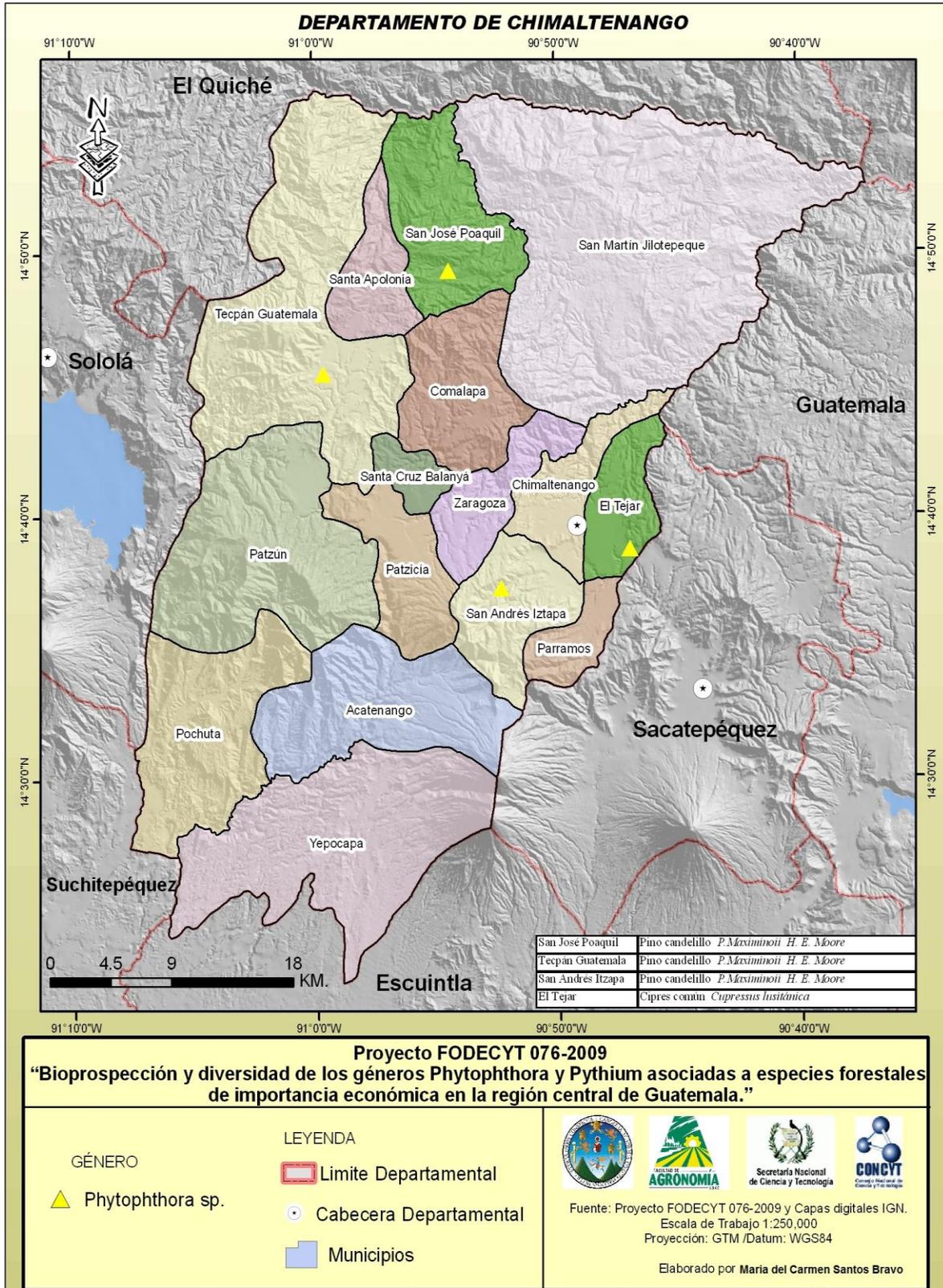
Es importante resaltar que las especies de *Phytophthora* que se asocian en la presente investigación, se mencionan como posibles, debido a que se requiere de mayor precisión en la determinación, se considera importante la caracterización por análisis molecular, debido a que brinda mayor certeza.

Sin embargo, para fines de investigación se hace el reporte de especies de *Phytophthora*, patogénicas a especies forestales, en fase de vivero. Siendo fuente primario de inóculo, e infeccioso al trasladar a campo definitivo.

Figura 42. Mapa Localización con presencia de *Phytophthora* sp., en el departamento de Guatemala.



**Figura 43.** Mapa Localización con presencia de *Phytophthora* sp., en el departamento de Chimaltenango.



## 6 CONCLUSIONES

1. Los viveros forestales de la región central de Guatemala son afectados por la presencia de *Phytophthora*, ya que se determinó por análisis morfométrico el posible asocio con: *P. siringae*, *P. citrícola*, *P. cinnamomi*, *P. nicotianae* (*P. parasitica*), *P. palmivora*.
2. Se detectó la presencia de *Phytophthora*, asociado a marchitez rápida, amarillamiento, defoliación, pobredumbre, ahorcamiento y decoloración.
3. Se establece la presencia del género *Phytophthora* sp. como causante de los síntomas observados en campo, asociados a cuatro (4) especies forestales: Caoba del sur (*Swietenia humilis*), Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), Pino triste (*Pinus pseudostrobus* Lindl), Ciprés común (*Cupressus lusitanica* Mill), en fase de vivero.
4. Según la prueba de filiación patogénica se obtuvo que la cepa 12 asociada a *P. citrícola*, presentó los valores máximos de incidencia, 80%, y severidad, 89%, aislada de Pino candelillo (*Pinus maximinoi* H. E. Moore), asociado a altos contenidos de humedad.

## 7 RECOMENDACIONES

1. Confirmar la identificación de especie empleando técnicas alternativas como el análisis molecular por extracción de ADN.
2. Realizar estudios de campo para establecer la incidencia y severidad, que causa *Phytophthora* como agente patógeno en viveros forestales, y el impacto en campo definitivo.
3. De acuerdo a la variabilidad de los aislados se propone realizar pruebas cruzadas, para determinar la patogenicidad de especies de *Phytophthora*, respecto a variación de hospederos en especies forestales.
4. Capacitar a viveristas en los temas de desinfección de sustratos, preparación de mezclas balanceadas y regulación de humedad.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, GN. 2005. Plant pathology. US, Academic Press. 922 p.
2. Alvarado-Rosales D; Saavedra-Romero L; Alamzar-Sánchez A. 2008. Primer reporte de *Phytophthora cinnamomi* Rands: asociado al encino (*Quercus* spp.) en Tecoaanapa, Guerrero, México (en línea). Agrocienca no. 45:565-572. Consultado 23 mayo 2011. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v42n5/v42n5a8.pdf>
3. Álvarez Cajas, V. 1988. Tamaño de muestra: procedimientos usuales para su determinación. Tesis MSc. Chapingo, México, Colegio de Post-Graduados. 176 p.
4. Álvarez Valenzuela, GA. 2010. Detección y caracterización de especies de Oomycetes asociados a cultivos de exportación en la región central de Guatemala. Guatemala, FAUSAC / CONCYT / Universidad de Valencia. 126 p.
5. Ávila Folgar, RI. 2003. Evaluación del estado y crecimiento inicial de cuatro especies prioritarias (*Pinus maximinoi* H.E. Moore, *Pinus caribaea* Morelet, *Pinus oocarpa* Schiede y *Tectona grandis* L.F.), del Programa de Incentivos Forestales en la región 2, en los departamentos de Alta y Baja Verapaz, Guatemala (en línea). Tesis Msc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. p. 13. Consultado 1 oct 2011. Disponible en: [http://www.infoiarna.org.gt/media/file/areas/bosque/documentos/interna/AVI\\_A%20R.%20Evaluaci%C3%B3n%20del%20estado%20y%20crecimiento%20inicial%20de%20cuatro%20especies%20prioritarias%20del%20Programa%20de%20Incentivos%20Forestales%20en%20la%20regi%C3%B3n%202.%20en%20los%20departamentos.pdf](http://www.infoiarna.org.gt/media/file/areas/bosque/documentos/interna/AVI_A%20R.%20Evaluaci%C3%B3n%20del%20estado%20y%20crecimiento%20inicial%20de%20cuatro%20especies%20prioritarias%20del%20Programa%20de%20Incentivos%20Forestales%20en%20la%20regi%C3%B3n%202.%20en%20los%20departamentos.pdf)
6. Benson, M; Grand L, JR. 2001. Disease of leyland cypress (en línea). US, Nort Carolina State University, Department of Agriculture, no. 17 (marzo, 2001). Consultado 20 ago 2011. Disponible en: <http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/Ornamental/odin17/od17.htm>
7. Blackwell, E. 1949. Terminology in *Phytophthora*. UK, Commonwealth Mycological Institute. p. 1-23.
8. Boa, E; Bentley, J; González, A. 2001. Guía práctica de plagas y enfermedades de árboles agrícolas en Bolivia (en línea). Cochabamba, Bolivia, CABI / CIAT / CARE / CIDERI. 33 p. Consultado 23 ago 2011. Disponible en <http://www.jefferybentley.com/Plagas%20y%20enfermedades%20de%20arboles%20agriolas%20en%20Bolivia.pdf>
9. Brasier, C. 2003. *Phytophthoras* en los bosques europeos: muerte súbita del roble (en línea). St. Paul, Minnesota, US, APS. Consultado 4 mayo 2010. Disponible en [http://www.scientificsocieties.org/aps/proceedings/sod/pdf/Brasier.pdf&usq=ALkJrhjtaZSVuCK\\_1dokr74fX0BXRTsHGg](http://www.scientificsocieties.org/aps/proceedings/sod/pdf/Brasier.pdf&usq=ALkJrhjtaZSVuCK_1dokr74fX0BXRTsHGg)
10. CATIE, CR. 1991a. Plagas y enfermedades forestales en América Central: guía de campo (en línea). Turrialba, Costa Rica, CATIE. p. 203- 216. (Serie Técnica, Manual Técnico /

CATIE no. 4). Consultado 3 oct 2011. Disponible en: [http://books.google.com.gt/books?id=9W9XEgZDK6QC&pg=PA205&lpg=PA205&dq=complejo+mal+del+talluelo&source=bl&ots=TDhBhac\\_fN&sig=9LLGDoWDKEZkr0fFOTizdb460ao&hl=es&ei=nE2LTsHgN4HHgAfYiPGsAw&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=9&ved=0CFYQ6AEwCA#v=onepage&q=complejo%20mal%20del%20talluelo&f=false](http://books.google.com.gt/books?id=9W9XEgZDK6QC&pg=PA205&lpg=PA205&dq=complejo+mal+del+talluelo&source=bl&ots=TDhBhac_fN&sig=9LLGDoWDKEZkr0fFOTizdb460ao&hl=es&ei=nE2LTsHgN4HHgAfYiPGsAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=9&ved=0CFYQ6AEwCA#v=onepage&q=complejo%20mal%20del%20talluelo&f=false)

11. \_\_\_\_\_. 1991b. Plagas y enfermedades forestales en América Central: manual de consulta (en línea). Turrialba, Costa Rica, CATIE. p. 203- 216. (Serie Técnica, Manual Técnico / CATIE no. 3). Consultado 3 oct 2011. Disponible en: [http://books.google.com.co/books?id=qicOAQAIAAJ&printsec=frontcover&hl=en&source=gb\\_s\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.co/books?id=qicOAQAIAAJ&printsec=frontcover&hl=en&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
12. \_\_\_\_\_. 2003. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Ed. Por Jesús Cordero y David Boshier. Turrialba, Costa Rica. 1,071 p.
13. Cibrián Tovar, D; García Díaz, S; Juan Macías, B. 2008. Manual identificación y manejo de plagas y enfermedades en viveros forestales (en línea). México, Comisión Nacional Forestal de México. p. 18-24. (diciembre 02, 2009). Consultado 3 oct 2011. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/biblioteca/ver.aspx?articulo=243>
14. Cruz S, JR De la. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala basada en el sistema Holdridge. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
15. Echemendia, Y. 2003. *Phytophthora*: características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales, medidas de control (en línea). Cuba, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (junio 23, 2003). Consultado 24 jun 2010. Disponible en: <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1060/cuf0022s.pdf>
16. Erwin, DC; Ribeiro, OK. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. St. Paul, Minnesota, US, The Am. Phytopath. Soc. 561 p.
17. Estación Fitopatológica “Do Areeiro”, ES. 2003. Presencia de *Phytophthora ramorum* en Galicia, España: sobre *Camellia*, *Rhododendron* y *Viburnum* (en línea). España. Consultado 13 oct 2010. Disponible en: <http://www.efa-dip.org/es/secciones/PReferencias/Pramorum.htm>
18. \_\_\_\_\_. 2006. *Phytophthora pseudosyringae* en Galicia sobre castaño (en línea). España. Consultado 15 oct 2010. Disponible en: <http://www.efa-dip.org/es/secciones/PReferencias/Ppseudosyringae.htm>
19. \_\_\_\_\_. 2009. *Phytophthora alni* subsp. *Alni*. detección en España (en línea). España. Consultado 14 oct 2010. Disponible en: [http://www.efa-dip.org/es/Secciones/PReferencias/Phytophthora\\_alni.htm](http://www.efa-dip.org/es/Secciones/PReferencias/Phytophthora_alni.htm)
20. French, ER; Herbert, TT. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica, IICA. p. 3-7 (Serie Libros y Materiales Educativos no. 43).
21. Gonzales, M. 2004. Caracterización del complejo de patógenos causales del tizón de la acícula del pino en la finca Saquichaj, Cobán, Alta Verapaz. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 92 p.

22. Hall, G. 1993. Identification of *Pythium* & *Phytophthora* species. Egham, UK, International Mycological Institute. p. 1-32.
23. Holt, JR; Iudica, CA. 2009. Taxa of life (en línea). US. Consultado 8 oct 2009. Disponible en: <http://comenius.susqu.edu/bi/202/CHROMALVEOLATA/HETEROKONATAE/OOMYCOTA/default.htm>
24. IARNA (URL, Universidad Rafael Landívar, Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente, GT). 2009. Perfil ambiental de Guatemala 2008-2009: las señales ambientales críticas y su relación con el desarrollo (en línea). Guatemala. Serie Perfil Ambiental no. 11. p. 65-88. (noviembre 02, 2010). Consultado 3 oct 2011. Disponible en: <http://www.infoiarna.org.gt/media/file/PERFAM2008/PERFAM2008.pdf>
25. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 2006a. Monografía de Chimaltenango, departamento de Chimaltenango, Guatemala. Guatemala, División de Información Geográfica. 88 p.
26. \_\_\_\_\_. 2006b. Monografía de Guatemala, departamento de Guatemala, Guatemala. Guatemala, IGN, División de Información Geográfica. 88 p.
27. \_\_\_\_\_. 2006c. Monografía de Sacatepéquez, departamento de Sacatepéquez, Guatemala. Guatemala, IGN, División de Información Geográfica. 88 p.
28. INAB (Instituto Nacional de Bosques, GT). 2006. Registro nacional forestal. Guatemala. 20 p.
29. \_\_\_\_\_. 2009. Reforestación (en línea). Boletín de Estadística Forestal 2009. Guatemala. p. 9-20. Consultado 03 oct 2011. Disponible en: <http://200.30.150.38/Documentos/Boletines/Bolet%C3%ADn%202009%20Final.pdf>
30. Jaramillo, S. 2003. Monografía sobre *P. infestans* (Mont) De Bary (en línea). Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Consultado 5 abr 2009. Disponible en: [www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/Monograf%C3%ADa.pdf](http://www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/Monograf%C3%ADa.pdf)
31. Melgar, W. 2003. Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques de Guatemala (en línea). Roma, Italia, FAO, Dirección de Recursos Forestales. Consultado 26 jun 2011. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/j0605s/j0605s00.htm>
32. Mitchell, DJ; Kannwischer-Mirchell, ME. 1992. *Phytophthora*. In Singleton, LL; Mihail, JD; Rush, CM. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul, US, APS Press. v. 1, p. 31-38.
33. NAPPO (Organización Norteamericana de Protección de Plantas, US). 2006. *Phytophthora tropicalis*: primera detección de *Phytophthora tropicalis* en Estados Unidos continental (en línea). US, NAPPO, Sistema de Alerta Fitosanitaria no. 14 (marzo 16, 2006). Consultado 13 mayo 2009. Disponible en: <http://www.pestalert.org/espanol/viewNewsAlert.cfm?naid=14>
34. \_\_\_\_\_. 2007. *Phytophthora pinifolia* nom. Prov.: especie nueva de *Phytophthora* relacionada con daños a acículas de pino en Chile (en línea). US, NAPPO, Sistema de Alerta

- Fitosanitaria no. 49 (octubre 19, 2007). Consultado 4 abr 2009. Disponible en: <http://www.pestalert.org/espanol/viewNewsAlert.cfm?naid=49>
35. Piedra Santa Arandi, J; Peralta S, PJ. 2007. Geografía visualizada Guatemala (mapa no. 978-99922-1-188-5). Guatemala, Piedra Santa. 1 p.
  36. SAG (Ministerio de Agricultura, CL). 2005. Protección agrícola y control de plagas forestales (en línea). Chile. Consultado 3 jun 2009. Disponible en: [http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/PAGE/PG\\_SAG\\_BIBLIOTECA/BIBL\\_SANIDAD/BIBLIO\\_SAN\\_FOR/SANFOR\\_PUBLICACIONES/ALERTA\\_PHYTOPHTHORA\\_RAMORUM.PDF](http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/PAGE/PG_SAG_BIBLIOTECA/BIBL_SANIDAD/BIBLIO_SAN_FOR/SANFOR_PUBLICACIONES/ALERTA_PHYTOPHTHORA_RAMORUM.PDF)
  37. Sánchez Hernández, ME; Sánchez Solana, JE; Navarro Cerrillo, RM; Fernández Rebollo, P; Trapero Casas, A. 2003. Incidencia de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía (en línea). España, UCO, Helvia, Sanidad Vegetal no. 29 (junio 10, 2002). 108 p. Consultado 15 ago 2009. Disponible en: [http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2434/Trapero\\_Casas\\_22.pdf?sequence=1](http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2434/Trapero_Casas_22.pdf?sequence=1)
  38. \_\_\_\_\_. 2004. Patogenicidad de *Phytophthora* spp. causantes de podredumbre radical de *Quercus ilex* ssp. Ballota en viveros forestales (en línea). Córdoba, España, Universidad de Córdoba, Sanidad Vegetal no. 30:385-401. (abril 19, 2004). 401 p. Consultado 7 set 2009. Disponible en: [http://www.marm.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_plagas%2FBSP-30-02-385-401.pdf](http://www.marm.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas%2FBSP-30-02-385-401.pdf)
  39. Santos Bravo, M del C. 2011. Bioprospección y diversidad de *Phytophthora* y *Phytium* asociados a especies forestales de importancia económica en la región central de Guatemala, en fase de viveros. Guatemala, FAUSAC / CONCYT. 98 p.
  40. SIFGUA (Sistema Nacional de Información Estadística Forestal de Guatemala, GT). 2010. Estadísticas: repoblación forestal (en línea). Guatemala. Consultado 3 oct 2011. Disponible en: <http://www.sifgua.org.gt/Miembros/Repoblacion.aspx>
  41. Singleton, L; Mihail J; Rush C. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul, US, APS Press. 265 p.
  42. Soto, A. 2002. Determinación de enfermedades provocadas por hongos en diez especies forestales en plantaciones ubicadas en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, el Peten e Izabal, durante la época lluviosa. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 91 p.
  43. Stamps, DJ; Waterhouse, G. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. England, CAB International. 309 p.
  44. Tello, ML. 1998. Alteraciones en nascencia y enraizamiento de algunas plantas ornamentales de la comunidad de Madrid (en línea). Tesis PhD. España, Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. 420 p. Consultado 17 nov 2010. Disponible en: [http://oa.upm.es/5321/1/MARIA\\_LUISA\\_TELLO\\_MARISCAL.pdf](http://oa.upm.es/5321/1/MARIA_LUISA_TELLO_MARISCAL.pdf)
  45. Torres, A *et al.* 2006. Qué papel juega el hongo *Phytophthora cinnamomi* en el desarrollo de la regeneración natural y las repoblaciones de encina y alcornoque (en línea). España, Universidad de Huelva, Departamento de Fitopatología, Servicio de Investigación y

Desarrollo Tecnológico, Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. no. 1. Consultado 8 abr 2010. Disponible en: <http://www.uhu.es/cideu/Boletin/Bol1CIDEU53-63.pdf>

46. Ulloa, M; Herrera, T. 1994. Etimología e iconografía de géneros de hongos. México, UNAM, Instituto de Biología, Cuadernos del Instituto de Biología. v. 21.
47. Urquijo, J. 2008. Seguridad alimentaria y desarrollo sostenible en zonas marginales de Guatemala (en línea). España, FAO. Consultado 25 abr 2009. Disponible en: [http://www.fao.org/tc/tca/esp/pub\\_urquijo.asp](http://www.fao.org/tc/tca/esp/pub_urquijo.asp)
48. Vázquez M, JP; Pintos V, C. 2007. Aislamiento de *Phytophthora cinnamomi* Rands en viveros forestales de *Pinus radiata* (en línea). In Congreso Nacional Forestal (2007, ES). España, Estación Fitopatológica "Do Areeiro". Consultado 16 ago 2011. Disponible en: <http://www.efadip.org/comun/publicaciones/posters/antes/1997%20Pamplona/Posterph.pdf>
49. Waterhouse, GM. 1963. Key to the species of *Phytophthora* De Bary. Mycol. Pap. Kew, UK, Commonw. Mycol. Inst. 22 p.
50. Wingfield, MJ. 2007. A new species of *Phytophthora* associated with dying pine needles in Chile (en línea). South África, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria, Pretoria. Consultado 14 jul 2011. Disponible en: <http://www.fabinet.up.ac.za/tpcp/pinifolia>

## 9 ANEXOS

a. Anexo 1.

### 9.1 Preparación medio selectivo Cornmeal Agar.

- **Materiales:**

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.

### 9.2 Medio selectivo Cornmeal Agar + antibióticos (PARPBH)

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

- **Materiales:**

CMA	1 lts.
Pimaricina	0.4 ml
Ampicilina	0.150g
Rifampicina	0.01 g
PCNB	0.1 g
Benomil	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 °C, 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.

## **b. ANEXO 2.**

### **9.3 Preparación solución de suelo**

- **Metodología:**

1. En un erlenmeyer de 1000 ml con agua destilada se diluyo 50 gr de suelo, se agito y posteriormente se dejó reposar por 24 horas.
2. Transcurrido las 24 horas se procedió a extraer 50 ml de solución de suelo y se diluyó en 950 ml de agua destilada. Para ser esterilizado en la autoclave por 15 minutos a 125 °C (grados centígrados) de temperatura.
3. En una caja petri se agregan de 5 a 8 ml de solución de suelo para introducir semillas de manzana cubierta con micelio, se dejan desarrollar por espacio de 24 a 36 horas a temperatura ambiente.

## b. ANEXO 3.

### 9.4 Preparación medio Agar patata dextrosa (PDA)

- **Materiales:**

- 39 grs. de PDA
- 1000 ml de agua
- Erlenmeyer
- Probeta
- Hilo o cáñamo
- Papel kraft de 120 gramos
- Cajas petri

- **Método:**

Disolver el medio en agua esterilizada en un recipiente resistente (erlenmeyer) apto para autoclave. Esterilizar por 15 minutos a 125°, el llenado de cajas petri se realizará en la campana de flujo laminar, para evitar contaminación tomando todas las medidas de asepsia.

Una vez obtenidas colonias de *Phytophthora* y/o *Pythium* en medio selectivo PARPH, se re-aislaron en medio papa dextrosa agar (PDA) colocando un disco de 5 mm en medio de la placa con el objeto de observar y documentar los patrones de crecimiento característico de cada especie (petaloide, rosáceo, radiado, estolonífero, etc.) y su conservación, (Erwin y Ribeiro, 1996).

**c. ANEXO 4.****9.5 Avena Agar (Agar V-8 Avena)****• Materiales:**

- 20 g de avena instantánea molida
- 20 g de agar
- 300 ml de jugo V-8
- Agua hasta 1000 ml

**• Método:**

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

**f. ANEXO 5.****9.6 Medio agarizado del jugo o zumo V-8 (V-8 agar)****• Materiales:**

- 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.

**• Método:**

Aforar al volumen a un litro con agua y agregarle los otros ingredientes esterilizar a 125° por 15 minutos.

## g. ANEXO 6.

## 9.7 Boleta diseñada para toma de datos en campo.

<b>I. DATOS</b>
Fecha: _____ Coordenadas UTM: _____
Nombre del Vivero: _____
Ubicación: _____

<b>II. REGISTRO DE MUESTRA</b> No. de correlativo : _____
Especie forestal: _____
Procedencia: _____
Síntomas visibles: _____
_____
_____
Observaciones: _____
_____
_____

## h. Anexo 7.

Cuadro 11 A. Directorio de viveros forestales muestreados.

No.	NOMBRE VIVERO	DIRECCIÓN
1	Vivero Municipal	Av. Real. San José Poaquil, Chimaltenango.
2	Vivero La Bendición	Aldea Paley. San José Poaquil, Chimaltenango
3	Vivero Nuestro Futuro	Km. 67.5 carretera a San José Poaquil. Chimaltenango
4	Vivero Municipal	1ra. Calle zona 4. Tecpán, Guatemala. Chimaltenango
5	Vivero Municipal	3ª calle 5-24 zona 1. Patzún, Chimaltenango
6	Vivero Municipal	1ra. Calle y 6ta. Avenida zona 4. Patzicia, Chimaltenango
7	Vivero Municipal	Cantón San Antonio, San Andrés Itzapa, Chimaltenango.
8	Asociación Aposentos	Km 42.2 carretera a San Andrés Itzapa, Chimaltenango
9	Vivero Municipal	4ta. Avenida. Cantón La Libertad, Chimaltenango
10	Vivero Privado "Super Pilón" S.A.	Km 49. San Miguel, El Tejar, Chimaltenango.
11	Vivero Municipal	Aldea Cojol Juyu. San Juan Comalapa Chimaltenango
12	Vivero Municipal	2da. Av callejón, zona 4. Santo Domingo Xenacoj, Sacatepéquez
13	Vivero Municipal	3ra. Calle y 5ta. Avenida, zona 2. Pastores, Sacatepéquez.
14	Vivero Municipal Antigua Guatemala	Finca Florencia Km. 35. Municipio de Santa Lucia Milpas altas, Sacatepéquez.
15	Vivero privado "Pilonos de Antigua" S.A.	Finca Azoteíta, Carretera a Jocotenango, Antigua Guatemala, Sacatepéquez.
16	Vivero Municipal	Aldea El Naranjito, Mixco, Guatemala
17	Vivero Municipal	6ta. Avenida Cantón Agua Tibia, Palencia, Guatemala
18	Vivero Municipal	1era. Calle zona 1. San Miguel Petapa Guatemala
19	Vivero INAB	7 av. 6-80 zona 13, Ciudad de Guatemala, Guatemala.
20	Vivero AMSA	Kilómetro 22 CA-9 Bárcenas, Villa Nueva. Guatemala.
21	Vivero Municipal "Ojo de Agua".	Av. Petapa y bulevar Villa Hermosa, San Miguel Petapa, Guatemala.
22	Vivero Municipal	1ra. Calle, zona 2 San José Pinula
23	Vivero Privado	Finca Bárcena, Villa Nueva.