


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA INTEGRADA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on horseback, holding a lance and a shield, set against a background of a landscape with mountains and a sun. The text "CONSPICUA CAROLINA" is at the top, and "CETERAS" and "MA COACTEM" are on the sides. The bottom part of the seal is partially obscured by the text below.

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA BACTERIA
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Smith 1910), EN SEMILLAS DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.). DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO VISAR-MAGA, KM 22,
CARRETERA AL PACÍFICO, BÁRCENA, VILLA NUEVA,
GUATEMALA, C.A.

PABLO ARTURO ALVAREZ GUILLÉN

GUATEMALA, JULIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA INTEGRADA

TRABAJO DE GRADUACIÓN REALIZADO EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO
FITOSANITARIO VISAR-MAGA, KM 22, CARRETERA AL PACÍFICO
BÁRCENA, VILLA NUEVA

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

POR

PABLO ARTURO ALVAREZ GUILLÉN

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, JULIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO

VOCAL PRIMERO

VOCAL SEGUNDO

VOCAL TERCERO

VOCAL CUARTO

VOCAL QUINTO

SECRETARIO

Dr. Lauriano Figueroa Quiñonez

Dr. Ariel Abderramán Ortiz López

Ing. Agr. M.Sc. Marino Barrientos García

Ing. Agr. Erberto Raúl Alfaro Ortiz

P. For. Sindi Benita Simón Mendoza

Br. Sergio Alexander Soto Estrada

Dr. Mynor Raúl Otzoy Rosales

GUATEMALA, JULIO DE 2014

Guatemala, julio de 2014

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

Honorable miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de Graduación realizado en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, km 22, Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva, como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

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

Atentamente,

Pablo Arturo Alvarez Guillén

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

ACTO QUE DEDICO A:

Dios:

Principalmente por la vida y por darme la sabiduría necesaria para culminar mis estudios universitarios.

Mis padres:

Por su apoyo incondicional, el amor, las enseñanzas, los regaños, los principios y valores que me inculcaron y han hecho el hombre que soy. Todos los esfuerzos realizados valieron la pena, Petu (mami) y Tío Lucas (papi) les dedico este triunfo.

Mis hermanos Chechi, Toño y Juan Carlos:

Por darme el apoyo necesario durante toda mi vida y por estar allí cuando más los necesité.

A mi familia:

Que esto los inspire a luchar por sus metas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Agronomía.

Al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, por permitirme realizar mi Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) en sus instalaciones.

A mi asesor, Ingeniero Edil Rodríguez, por su valiosa colaboración para la realización de mi trabajo de graduación.

A mi supervisor, Ingeniero Wener Ochoa, por su orientación y apoyo durante mi EPS.

A mi tío, Arquitecto Ramón Alvarez, por su consejo e intervención en la elección de mi lugar de práctica.

A mi tío, Eduardo Alvarez, por su apoyo durante mi formación profesional.

A mis amigos del laboratorio, Nelson, Coqui, Luisiño y Willais, por compartir sus conocimientos conmigo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Página

RESUMEN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
DIAGNÓSTICO.....	2
1 INTRODUCCIÓN.....	3
2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	3
3 ANTECEDENTES	4
4 OBJETIVOS	5
4.1 OBJETIVO GENERAL:.....	5
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	5
5 METODOLOGÍA.....	6
6 RESULTADOS	6
6.1 RECONOCIMIENTO DEL LUGAR.	6
6.2 IDENTIFICAR LOS DISTINTOS PUNTOS DE ACCESO.....	6
6.3 DETERMINAR EL NÚMERO DE ÁREAS CON LAS QUE CUENTA EL LABORATORIO FITOSANITARIO.....	7
6.4 CONOCER LAS ÁREAS A LAS CUALES SE DEDICA EL LABORATORIO.....	7
6.5 OBTENER INFORMACIÓN A PARTIR DE DATOS PRIMARIOS A LOS ENCARGADOS DE CADA ÁREA A TRAVÉS DE ENCUESTAS.	8
6.6 OBTENER INFORMACIÓN A PARTIR DE DATOS SECUNDARIOS.....	11
6.6.1 Servicio de asistencia técnica.....	12
6.6.2 Estructura organizativa.....	13
7 CONCLUSIONES.....	13
8 BIBLIOGRAFÍA.....	15
CAPÍTULO II.....	15
INFORME DE INVESTIGACIÓN.....	15
1 INTRODUCCIÓN	17
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3 MARCO TEÓRICO.....	20
3.1 DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO	20
3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL TOMATE.....	21
3.2.1 Raíz.....	21

3.2.2 Tallo	21
3.2.3 Porte	22
3.2.4 Hojas	22
3.2.5 Inflorescencia	22
3.2.6 Polinización	22
3.2.7 Fruto	23
3.2.8 Enfermedades del cultivo de tomate	24
3.3 CANCRO BACTERIANO DEL TOMATE	24
3.4 ALGUNOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	25
3.4.1 Hortifruticultura	25
3.4.2 Control preventivo	26
3.5 CULTIVOS HOSPEDANTES:.....	27
3.6 TAXONOMÍA DE LA BACTERIA.....	27
3.7 IDENTIFICACIÓN DE LA BACTERIA EN CAMPO	28
3.7.1 Infecciones precoces en las plántulas	28
3.7.2 Infecciones tardías en las plantas	28
3.7.3 Infecciones tardías en las frutas.....	28
3.8 CARACTERÍSTICA	28
3.9 CONSEJOS PARA EL MONITOREO	29
3.10 CONDICIONES AMBIENTALES FAVORABLES.....	29
3.11 UMBRALES	29
3.12 BIOLOGÍA DEL PATÓGENO	29
3.13 CICLO DE LA ENFERMEDAD.....	30
3.14 PRUEBA DE REACCIÓN DE LA CADENA POLIMERASA.....	30
3.15 MIRABILIS JALAPA.....	32
3.15.1 Nombres	32
3.15.2 Taxonomía de <i>Mirabilis jalapa</i>	32
3.15.3 Origen y distribución geográfica de <i>Mirabilis jalapa</i>	32
4 MARCO REFERENCIAL.....	35
4.1 UBICACIÓN	35
4.2 CONDICIONES MICRO CLIMÁTICAS	35
5 OBJETIVOS	36
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	36
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
6 HIPÓTESIS.....	37
7 METODOLOGÍA.....	38
7.1 RECEPCIÓN DE LA MUESTRA DE SEMILLA.....	38
7.2 RECOPIACIÓN DE LA INFORMACIÓN DE LOS LOTES DE SEMILLA	38
7.3 PROCESO DE DESINFESTACIÓN DE LA SEMILLA	38
7.4 AISLAMIENTO DE SEMILLAS EN MEDIOS DE CULTIVO AN.....	39

	Página
7.5 REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE KOH.....	40
7.6 REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE TINCIÓN DE GRAM.....	40
7.7 TÉCNICA REACCIÓN CADENA POLIMERASA.....	42
7.8 PURIFICACIÓN DE LA BACTERIA EN MEDIOS YDC, NBY.....	42
7.9 PURIFICACIÓN DE LA BACTERIA EN MEDIOS NCP88.....	42
7.10 PRUEBA DE PATOGENICIDAD CON PLANTAS DE TOMATE.....	43
7.11 PRUEBA DE LA RESPUESTA HIPERSENSIBLE (MIRABILIS JALAPA) A LA BACTERIA CLAVIBACTER MICHIGANENSIS.....	43
7.12 OBSERVACIÓN DE SÍNTOMAS.....	44
7.13 TABLA DE RESULTADOS.....	44
8 RESULTADOS Y DISCUSION.....	45
9 CONCLUSIONES.....	49
10 RECOMENDACIONES.....	50
11 BIBLIOGRAFÍA.....	51
12 ANEXOS.....	53
12.1 RESULTADOS DEL LABORATORIO.....	53
12.2 FORMATO DE RESULTADOS DEL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	74
CAPÍTULO III.....	76
INFORME DE SERVICIOS.....	76
1 INTRODUCCIÓN.....	77
2 MARCO REFERENCIAL.....	77
2.1 Servicios.....	78
2.1.1 Servicios de Diagnóstico:.....	78
2.1.2 Servicio de asistencia técnica:.....	78
2.1.3 Ubicación.....	78
3 OBJETIVOS.....	79
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	79
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	79
4 METODOLOGÍA.....	80
4.1 RECEPCIÓN.....	80
4.2 DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS.....	80
4.3 ENTREGA DE MUESTRAS A LAS DIFERENTES ÁREAS DEL LABORATORIO.....	80
4.4 OBSERVACIÓN DE MUESTRAS ESTEREOMICROSCOPIO Y MICROSCOPIO.....	80
4.5 DIAGNÓSTICO.....	80
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	81
5.1 MECANISMO UTILIZADO PARA VERIFICACIÓN.....	81

6	RECURSOS USADOS	82
7	CONCLUSION	82
8	BIBLIOGRAFÍA	82

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA UNO DE LA ENCUESTA.	8
GRÁFICA 2: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA DOS DE LA ENCUESTA.	8
GRÁFICA 3: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA TRES DE LA ENCUESTA.	9
GRÁFICA 4: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA CUATRO DE LA ENCUESTA.	9

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA QUINTA PREGUNTA DE LA ENCUESTA.	10
TABLA 2: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA SEIS DE LA ENCUESTA.	10
TABLA 3: RESULTADO CORRESPONDIENTE A LA PREGUNTA SIETE DE LA ENCUESTA.	11
TABLA 4: VALOR NUTRITIVO MEDIO DEL TOMATE POR 100 G DE PRODUCTO COMESTIBLE.	21
TABLA 5: ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE TOMATE.	24
TABLA 6: TAXONOMÍA DE LA BACTERIA.	27
TABLA 7: TAXONOMÍA DE <i>MIRABILIS JALAPA</i>	32
TABLA 8: FORMATO PARA LA OBTENCIÓN DE RESULTADOS.	44
TABLA 9: RESUMEN DE RESULTADOS.	45
TABLA 10: RESULTADOS DEL LABORATORIO DE MAYO A NOVIEMBRE DE 2013.	53
TABLA 11: ANÁLISIS REALIZADOS	81

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DEL VISAR-MAGA.....	13
FIGURA 2: CICLO COMPLETO DE LA ENFERMEDAD BACTERIANA <i>CLAVIBACTER</i> <i>MICHIGANENSIS</i> SUBSP. <i>MICHIGANENSIS</i> ., DISEMINADA POR LA SEMILLA DEL TOMATE.....	30
FIGURA 3: PROCESO DE DESINFESTACIÓN DE LA SEMILLA DE TOMATE	39
FIGURA 4: COLOCACIÓN DE SEMILLA ENTERA.....	39
FIGURA 5: COLOCACIÓN DE SEMILLA MACERADA.....	39
FIGURA 6: PRUEBA DE KOH.....	40
FIGURA 7: PRUEBA TINCIÓN DE GRAM.....	41
FIGURA 8: PURIFICACIÓN EN MEDIOS SEMI-ESPECÍFICOS.....	42
FIGURA 9: PURIFICACIÓN EN MEDIO SEMI-SELECTIVO.....	42
FIGURA 10: BIOENSAYO CON PLANTA DE TOMATE.....	43
FIGURA 11: PLANTA INDICADORA A <i>CLAVIBACTER MICHIGANENSIS</i> SUBSP. <i>MICHIGANENSIS</i>	43
FIGURA 12: SEMILLA EN MEDIO DE CULTIVO AN.....	45
FIGURA 13: PRUEBA DE KOH Y TINCIÓN DE GRAM.....	46
FIGURA 14: ESTRIADO EN MEDIOS NBY Y YDC.....	46
FIGURA 15: PRUEBA DE PATOGENICIDAD EN TOMATE.....	47
FIGURA 16: PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD.....	47
FIGURA 17: ESTRIADO EN MEDIO NCP88	47
FIGURA 18: RESULTADOS REACCIÓN DE CADENA POLIMERASA.....	74
FIGURA 19: RESULTADO REACCIÓN DE CADENA POLIMERASA.....	75

RESUMEN

El laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA está situado en el km 22, Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva, y el cual tiene como objetivo principal realizar el diagnóstico de las enfermedades y plagas que aquejan a las personas de los distintos lugares del país, en los distintos cultivos agrícolas y forestales, ya sean que estos productos estén destinados para la exportación, consumo propio o la venta nacional. Para lo cual este laboratorio se centra en la detección de plagas y enfermedades que pueden causar un daño económico irreparable en los cultivos, bajando así los rendimientos y la productividad, por dichos agentes. Para lo cual la función principal de este laboratorio es evitar estas pérdidas económicas y asegurar la subsistencia de muchas familias y productores.

Entre los informes realizados durante el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), se encuentra el documento de investigación el cual se enfocó en determinar la presencia de la bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*** (Smith 1910) en semillas de tomate, ya que es una de las bacterias con estatus cuarentenario en nuestro país. Esta bacteria afecta cultivos a campo abierto y también bajo protección (invernadero) y llega a causar pérdidas de hasta del cien por ciento en las plantaciones; se llegó a determinar la no presencia de la bacteria en el total de muestras analizadas (528) de semillas de tomate que ingresaron al laboratorio para su Diagnóstico.

En el documento de servicios se presentan cada una de las labores que se realizaron durante el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), entre los cuales se encuentra el proceso de recepción y distribución de muestras a cada una de las áreas de diagnóstico, preparación de muestras para el análisis y determinación de agentes patógenos en semillas y tejido vegetal.

CAPÍTULO I

DIAGNÓSTICO, LABORATORIO FITOSANITARIO, VISAR-MAGA, KM 22, CARRETERA
AL PACÍFICO, BÁRCENA, VILLA NUEVA.

1 INTRODUCCIÓN

El Gobierno de Guatemala, tiene la responsabilidad de asegurar una adecuada alimentación a las personas, por ende el laboratorio Fitosanitario VISAR-MAGA situado en carretera al pacífico, en el km 22, en Bárcena, Villa Nueva, tiene como objetivo principal realizar el diagnóstico de las enfermedades y plagas que aquejan a las personas de los distintos lugares del país en los distintos cultivos agrícolas y forestales, ya sean que estos productos estén destinados para la exportación, consumo propio o la venta nacional.

Para lo cual este laboratorio se centra en la detección de plagas y enfermedades que pueden causar un daño económico irreparable en los cultivos, bajando así los rendimientos y la productividad, por dichos agentes. Para lo cual la función principal de este laboratorio es evitar estas pérdidas económicas y asegurar la subsistencia de muchas familias y productores.

2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La falta de un lugar físico, insumos, personal y espacio para la realización de diversos trabajos en el que se quiera desempeñar cualquier persona, es de mucha frecuencia el problema en nuestro país, ya que existen entidades que por problemas económicos no cuentan con instalaciones sofisticadas, el objetivo de este diagnóstico es evidenciar la falta de los recursos antes mencionados, y sobre todo, verificar si lo que se realiza en dicha entidad tiene resultados seguros. También es necesario conocer los problemas que acogen a las distintas áreas del laboratorio Fitosanitario, y saber si existe un problema con algún agente causal, su control y sobre todo el manejo.

3 ANTECEDENTES

El Decreto Gubernativo número 14, del 24 de agosto de 1871, estableció un Ministerio de Fomento, adjudicándole como funciones la protección y mejora del comercio, agricultura, ganadería, artes, industrias, obras públicas, líneas telegráficas, caminos, puentes, puertos y además medios de comunicación. Este mismo Decreto suprimió el Consulado de Comercio, que venía desempeñando similares atribuciones.

Por Acuerdo Gubernativo del 1 de agosto de 1899, fue creada una Dirección General de Agricultura, adscrita al Ministerio de Fomento y se nombró como Director General al señor Enrique Díaz Durán. Un Acuerdo Gubernativo del 2 de abril de 1920, creó la Secretaría de Estado en el Despacho de Agricultura y Trabajo, nombrando como titular al Licenciado Mariano López Pacheco, pero esta Secretaría no llegó a funcionar, debido al cambio de Gobierno ocurrido el 8 de abril de ese mismo año y los asuntos relacionados con la agricultura siguieron atendiéndose por la Secretaría de Fomento.

3.1 CREACIÓN DEL MINISTERIO

El Ministerio de Agricultura fue creado por el Decreto Legislativo No. 1042, de fecha 21 de mayo de 1920, que copiado literalmente dice: "Decreto No 1042, la Asamblea Nacional Legislativa de la República de Guatemala, DECRETA: Artículo único. Se establece un Ministerio de Agricultura, para que este importante ramo, fuente principal de la riqueza del país, sea atendido como corresponde.- Pase al Ejecutivo para su cumplimiento. Dado en el Palacio del Poder Legislativo, en Guatemala, el 21 de mayo de 1920. Arturo Ubico, Presidente; Adrián Recinos, Secretario; Ricardo C. Castañeda, Secretario.- Palacio del Poder Ejecutivo: Guatemala, 24 de mayo de 1920.

3.2 DIFERENTES DENOMINACIONES DEL MINISTERIO

A pesar de que el Decreto Legislativo 1042 dispuso la creación de un “Ministerio de Agricultura”, este organismo, como todos los demás similares que operaban dentro del Gobierno, se llamó Secretaria del Despacho de Agricultura, o simplemente Secretaría de Agricultura, esta denominación la conservó hasta el año de 1933. Durante los años 34 y 35, se denominó Secretaria de Agricultura y Caminos. De 1936 a 1944 llevó nuevamente el nombre de Secretaría de Agricultura. En el año de 1944 su nombre recibió dos cambios; el 4 de diciembre: Secretaría de Estado en el Despacho de Economía y Agricultura, por Decreto Gubernativo No. 28. El 26 del mismo mes de diciembre: Secretaría de Agricultura y Minería. El Decreto Legislativo No. 93, del 25 de abril de 1945, le llamó: Ministerio de Agricultura, nombre que conservó hasta 1981. Fue el Decreto Legislativo No 51-81 de diciembre de 1981, el que dio la denominación actual al Ministerio de Agricultura y Alimentación (MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012).

4 OBJETIVOS

4.1 General:

- Conocer la situación actual del laboratorio Fitosanitario VISAR-MAGA situado en el km 22 en Bárcena, Villa Nueva.

4.2 Específicos:

- Establecer línea de base
- Determinar el número de áreas con las que cuenta dicho laboratorio.
- Identificar los servicios de las distintas áreas.
- Identificar un tema para investigación.

5 METODOLOGÍA

Para realizar el plan de diagnóstico del laboratorio Fitosanitario VISAR-MAGA en el km 22, Bárcena, Villa Nueva, se contemplaron diez fases:

1. Reconocimiento del lugar.
2. Identificar los distintos puntos de acceso.
3. Determinar el número de áreas con las que cuenta el laboratorio Fitosanitario.
4. Conocer las áreas a las cuales se dedica el laboratorio.
5. Obtener información a partir de datos primarios a los encargados de cada área a través de encuestas.
6. Obtener información a partir de datos secundarios.
7. Tabular los datos obtenidos de las encuestas.
8. Analizar los datos tabulados.
9. Establecer las conclusiones del diagnóstico.

6 RESULTADOS

6.1 Reconocimiento del lugar.

Según el recorrido que se dio en las instalaciones del laboratorio Fitosanitario, se pudo determinar que el laboratorio está dentro de las instalaciones del laboratorio Nacional de Salud y que no solo existe La Unidad de Diagnostico Fitosanitario en el kilómetro 22, sino que también existen otras unidades tales como: Unidad de Alimentos, Unidad de Medicamentos, Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica, Unidad de Metrología, Unidad de Gestión de Calidad, Unidad Administrativa, Unidad Financiera.

6.2 Identificar los distintos puntos de acceso.

Según el recorrido que se dio por el lugar, el laboratorio Fitosanitario cuenta con solo un punto de acceso el cual conlleva a las instalaciones del laboratorio Fitosanitario, mientras que para el lugar en general, éste cuenta con dos puntos de acceso.

6.3 Determinar el número de áreas con las que cuenta el laboratorio Fitosanitario.

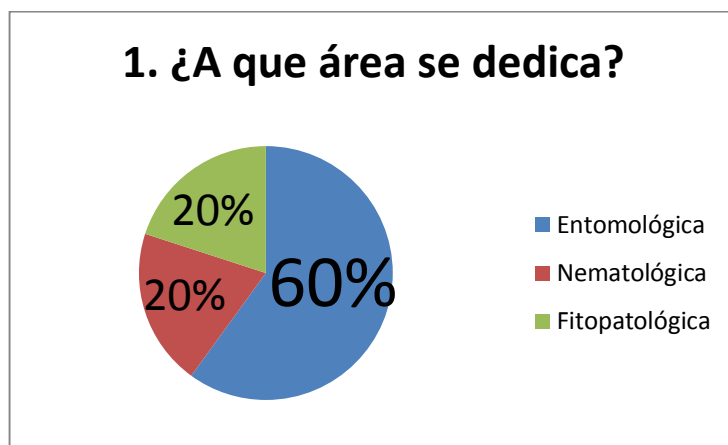
El laboratorio Fitosanitario cuenta con cinco áreas de trabajo las cuales son: Área Entomológica, Área fitopatológica, Área bacteriológica, Área de Análisis de Elisa y Área Nematológica. Para lo cual cada área se dedica exclusivamente al trabajo asignado, los miembros de las distintas áreas se encargan de diagnosticar las plagas o enfermedades de las muestras que ingresan al lugar, teniendo un patrón de seguimiento en la manipulación de las muestras si es que pidiesen los análisis de cada área, este patrón es el siguiente: área entomológica, área nematológica y área fitopatológica, en donde los resultados obtenidos son colocados en una base de datos que existe en la red del laboratorio, y así dar a conocer los resultados del diagnóstico a las personas que a los que se les realizó dicho análisis.

6.4 Conocer las áreas a las cuales se dedica el laboratorio.

El laboratorio se dedica a tres áreas, las cuales fueron descritas en el punto anterior, en donde el área entomológica se dedica a diagnosticar insectos de todo tipo, para lo cual llegan muestras de frutos, hojas, ramas, raíces, trampas tanto de mosca de la fruta como trampas de los epidemiólogos y granos almacenados, etc. las cuales son analizadas y observadas por las personas que integran el área para luego dar un resultado de que insecto es el que está afectando o perjudicando lo antes mencionado. En el área nematológica, la persona encargada debe de preparar las muestras que le ingresan, las cuales normalmente son de suelo o algún bulbo, tubérculo o raíz, en donde la muestra es tomado y preparada, y así luego poder ser analizadas, esta área diagnostica tanto nemátodos de quiste como filiformes y finalmente el área fitopatológica se encarga de diagnosticar enfermedades que presente el cultivo en alguna de sus partes, teniendo en cuenta que esta área es la más rigurosa y cuidadosa para trabajar, ya que hay que realizar montajes para la determinación, esta área también se dedica a la determinación de virus y bacterias por métodos convencionales y prueba de ELISA, las instalaciones todavía no cuentan con el análisis de PCR pero se está implementado.

6.5 Obtener información a partir de datos primarios a los encargados de cada área a través de encuestas.

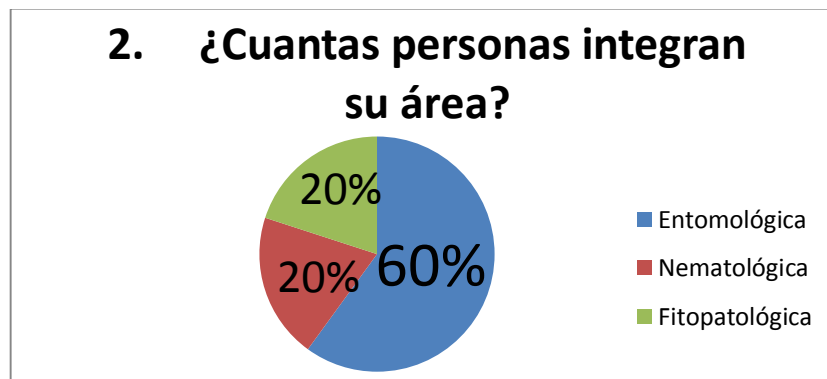
En la gráfica 1 se muestra cuantas personas se dedican a las distintas áreas correspondientes al laboratorio Fitosanitario.



Gráfica 1: resultado correspondiente a la pregunta uno de la encuesta.

En la gráfica 1 se muestra que de las 5 personas que integran el área del laboratorio Fitosanitario 3 personas (60%) se dedican al área entomológica, 1 persona (20%) el área nematológica y 1 persona (20%) el área fitopatológica.

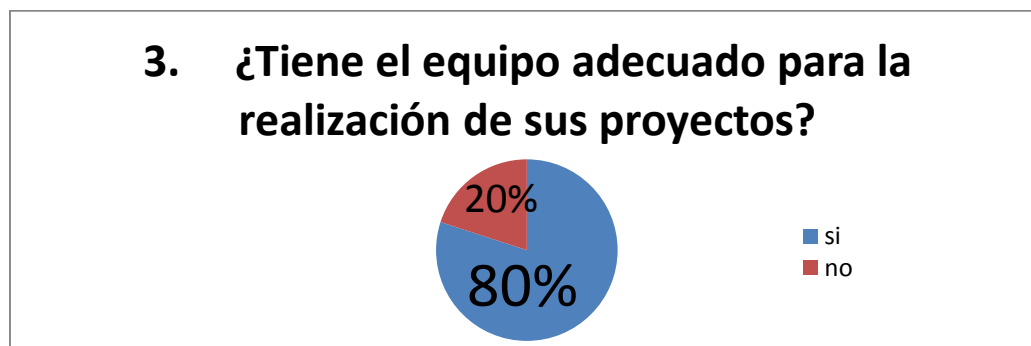
En la gráfica 2 se muestra por cuantas personas está integrada cada área del laboratorio Fitosanitario.



Gráfica 2: resultado correspondiente a la pregunta dos de la encuesta.

En la gráfica 2 se muestra que de las 5 personas que integran el área del laboratorio Fitosanitario 3 personas (60%) integran el área entomológica, 1 persona (20%) el área nematológica y 1 persona (20%) el área fitopatológica.

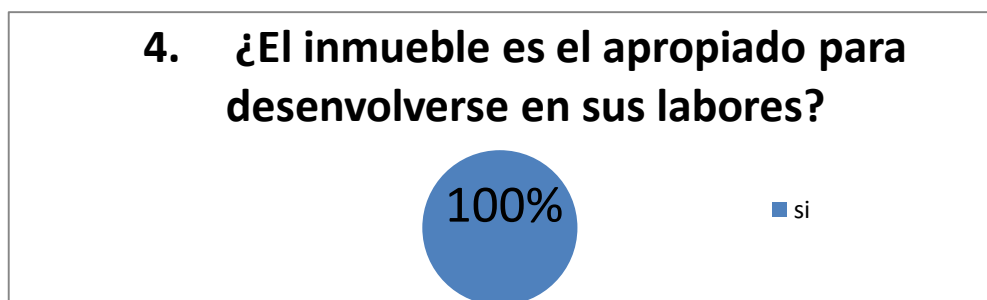
En la gráfica 3 se muestra si en las áreas correspondientes de cada una de las cinco personas que integran el laboratorio cuenta con el equipo adecuado para la realización de los distintos diagnósticos en el laboratorio Fitosanitario.



Gráfica 3: resultado correspondiente a la pregunta tres de la encuesta.

En la gráfica 3 se muestra que de las 5 personas que integran el laboratorio, 4 de las personas (80%) tienen el equipo necesario para la realización de sus proyectos, y corresponden al área de entomología y fitopatología, y así mismo una de las personas (20%) expuso no contar con el equipo necesario para la realización de los distintos diagnósticos, considera se debe obtener equipo de mejor calidad.

En la gráfica 4 se muestra el resultado de la opinión de las 5 personas que integran el laboratorio Fitosanitario, con respecto al inmueble o el lugar donde realizan el diagnóstico correspondiente.



Gráfica 4: resultado correspondiente a la pregunta cuatro de la encuesta.

En la gráfica anterior las 5 personas que integran el laboratorio (100%), consideran que el inmueble es el adecuado para sus labores ya que cuenta con buen ambiente de trabajo así como las instalaciones aptas para el diagnóstico de las distintas plagas y enfermedades.

5. ¿Considera que existe algún agente en particular en su área, que cause pérdidas económicas drásticas?

Tabla 1: resultado correspondiente a la quinta pregunta de la encuesta.

Entomológica	Plagas cuarentenarias.
Nematológica	<i>Radopholus similis, Globodera pallida, Globodera rostochiensis, Ditylenchus dipsaci, Ditylenchus destructor, Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne reniforme.</i>
Fitopatológica	<i>Candidatus liberibacter asiaticus, Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, Ralstonia solanacearum.</i>

En la tabla 1 se muestra el resultado de la priorización tanto de las plagas como de las enfermedades que los integrantes de cada laboratorio consideran de interés, ya que estas causan pérdidas económicas drásticas en el país y las que consideran necesitan de atención inmediata para llegar a determinar algún control o manejo de las mismas.

6. ¿Cuáles agentes causales cree que serían perjudiciales en el ámbito nacional, correspondiente a su área?

Tabla 2: resultado correspondiente a la pregunta seis de la encuesta.

Entomológica	Plagas cuarentenarias.
Nematológica	<i>Radopholus similis, Globodera pallida, Globodera rostochiensis, Ditylenchus dipsaci, Ditylenchus destructor, Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne reniforme.</i>
Fitopatológica	<i>Candidatus liberibacter asiaticus, Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, Ralstonia solanacearum.</i>

En la tabla 2 se muestra cuales agentes biológicos consideran los integrantes de cada área que pueden ser perjudiciales en el ámbito nacional y los cuales pueden causar alguna pérdida económica significativa a los productores.

7. ¿Que agentes causales considera que son de difícil control y manejo?

Tabla 3: resultado correspondiente a la pregunta siete de la encuesta.

Entomológica	Plagas cuarentenarias y todos los que causen algún daño a la planta o producto.
Nematológica	Todos ya que conllevan gran trabajo, tanto en la identificación, muestreo, establecimientos de umbrales de acción, elección de la combinación apropiada de técnicas de control.
Fitopatológica	<i>Phytophthora sp, Hemileia sp, Clavibacter sp, Candidatus sp.</i>

En la tabla 3 se muestra cuáles son los agentes biológicos que cada miembro correspondiente a cada área considera son de difícil control y manejo, lo cual puede afectar en la disminución de la producción y aumento en los gastos por el control.

6.6 Obtener información a partir de datos secundarios.

En virtud Guatemala, dada su posición geográfica y por tener diversas zonas fronterizas donde se da el constante intercambio comercial entre nuestro país con México, Salvador, Honduras y Belice, son considerados como zona de alta susceptibilidad al ingreso de plagas y enfermedades, es por ello que se considera la presencia del laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario en el país, el cual tiene las siguientes funciones:

- Una de las principales funciones de la presencia del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario –LDF– radica en la detección temprana de infecciones en cultivos agrícolas.
- El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, además de apoyar a los programas impulsados por el MAGA en todos los departamentos, apoya al pequeño agricultor,

empresas privadas y ONG, que se dedican a la producción agropecuaria y forestal, con la realización de diagnósticos para la identificación de plagas y enfermedades.

- Realiza la detección de plagas y enfermedades en cultivos de la región, de tipo cuarentenario, endémico y exótico por medio del diagnóstico e identificación en el laboratorio.

SERVICIOS El laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario presta los siguientes servicios:

- **Servicio de Diagnóstico:** Entomología, Fitopatología y Nematología.

6.6.1 Servicio de asistencia técnica

El Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario –LDF-, además de realizar diagnóstico de plagas y enfermedades apoya a:

1. Los técnicos de los diferentes programas del MAGA asisten al agricultor en los departamentos, para reconocimiento de plagas y enfermedades en cultivos de la región a través de capacitaciones en campo, con temas de **Detección de Plagas y Enfermedades** en los diferentes cultivos de la región, ej., pastos, hortalizas, forestales etc, así también como en la toma, preservación y traslado de muestras al laboratorio.

Estos servicios forman parte de la asistencia que el MAGA proporciona al agricultor de escasos recursos y que tienen deseo de mejorar la producción de sus cultivos.

6.6.2 Estructura organizativa

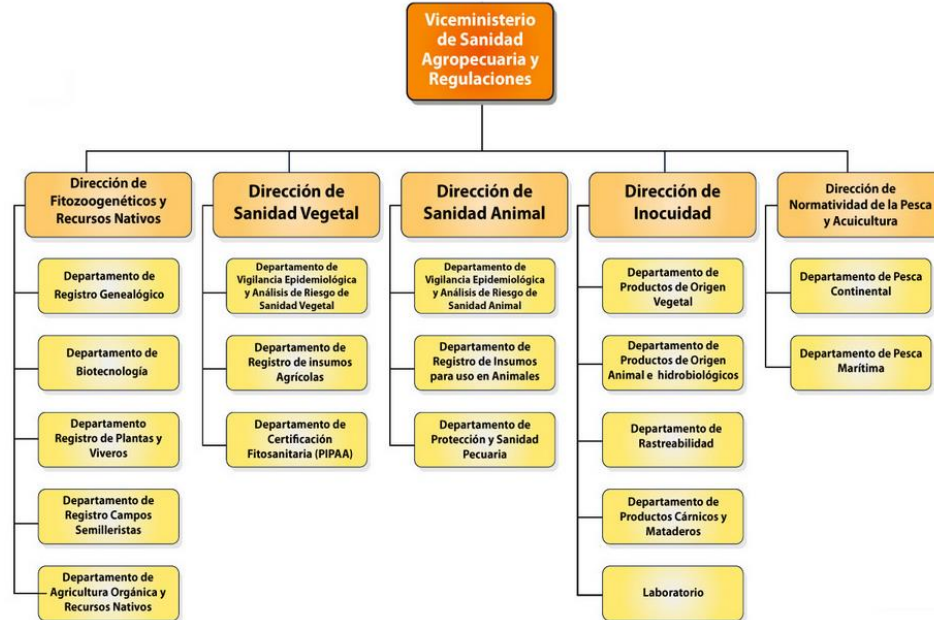


Figura 1: estructura organizativa del VISAR-MAGA.

7 CONCLUSIONES

- Con el diagnóstico realizado al laboratorio Fitosanitario se pudo llegar a determinar que cuenta con lo necesario para la realizar los diagnósticos en las áreas de Fitopatología y Entomología, a excepción del área de Nematología que no cuenta con los equipos adecuados para la realización de sus diagnósticos ya que este necesita de microscopio y estereoscopia de mejor calidad y aumento.
- El laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario ubicado en el km 22, carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva, cuenta con cinco áreas de trabajo correspondientes a: Entomología, Nematología, Fitopatología, Bacteriología y ELISA. El área de Entomología cuenta con tres personas a disposición para la realización de los diagnósticos, el área de Nematología cuenta con solo una persona para la realización de los diagnósticos, al igual que el área de Fitopatología.

- Cada área en el laboratorio Fitosanitario VISAR-MAGA, se dedica a distintos servicios, el área Entomológica se dedica a la determinación de insectos plaga, en cultivos de consumo diario, cultivos de exportación y granos almacenados, entre otros. En el área de Nematología los servicios que presta ésta área es la determinación de nemátodos filiformes como de quiste, en muestras de suelo, raíces, tubérculos, bulbos, etc. El área Fitopatológica, Bacteriológica y ELISA es el área más minuciosa en el trabajo de diagnóstico, ya que en ella se realizan montajes, cultivo de bacterias y pruebas moleculares, las cuales no deben de llevar contaminación alguna para evitar malos resultados en la determinación y diagnóstico.
- Los servicios que se desprenden de este diagnóstico son: la recepción de muestras, las cuales son recibidas, confirmadas y posteriormente firmadas en una hoja de custodio, para luego así ser trasladadas al laboratorio Fitosanitarios y entregadas a las distintas áreas dependiendo el análisis que requieran los usuarios, y así mismo firmadas por los ingenieros encargados de cada área para completar el proceso de entrega; preparación de las muestras si fuesen necesarias para el análisis correspondiente en cada área; determinación de algunas de las muestras que ingresen al laboratorio conforme se valla rotando en cada área.
- El tema de investigación priorizado es: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910), ya que es una bacteria cuarentenaria para el país, y ha causado problemas en cuanto a la importación de semillas de tomate, así mismo no hay respaldo de alguna investigación en la facultad de agronomía sobre esta bacteria.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012a. Laboratorio de diagnóstico fitosanitario (en línea). Guatemala. Consultado 23 feb 2013. Disponible en http://visar.maga.gob.gt/?page_id=1045
2. _____. 2012b. Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (en línea). Guatemala. Consultado 23 feb 2013. Disponible en <http://visar.maga.gob.gt/visar/org.html>
3. _____. 2014. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (en línea). Guatemala. Consultado 23 feb 2013. Disponible en <http://web.maga.gob.gt/historia/>

CAPÍTULO II

Determinación de la presencia de la bacteria ***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*** (Smith 1910), en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L).

Detection of ***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*** (Smith 1910), bacteria in tomato seeds.

1 INTRODUCCIÓN

La bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*** (Smith 1910), denominada anteriormente ***Corynebacterium michiganensis***, ocasiona el cancro bacteriano o cáncer bacteriano en el cultivo del tomate. Es una de las bacterias con estatus cuarentenario en nuestro país y han aparecido brotes, bajo condiciones de invernadero, los cuales han sido erradicados. La enfermedad afecta no solo plantaciones de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sino también al chile pimiento, chile y berenjena. Provoca daño en la hoja, tallo y fruto. Dado que es una enfermedad vascular resulta difícil su control y manejo. La bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis***, afecta cultivos a campo abierto y también bajo protección (invernadero). Es una de las bacterias que causa pérdidas en la producción y también afecta la importación de semillas del cultivo. Esta enfermedad se descubrió por primera vez en 1910 en Michigan, Estados Unidos, pero la bacteria se ha diseminado por todo el mundo y por ende han aparecido brotes en Guatemala. Esta bacteria podría afectar a la mayoría de productores y causa pérdidas de hasta el cien por ciento en la producción si el cultivo no tiene un manejo adecuado. El objetivo del presente trabajo es detectar la presencia de la bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis***, en semillas de tomate, las técnicas utilizadas fueron: aislamiento de la misma por medios de cultivos semi-específicos (AN, YDC, NBY, NCP88,), PCR y bioensayo en planta de tomate y planta indicadora a la bacteria (***Mirabilis jalapa***), en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, VISAR-MAGA. Y de esta manera asegurar que los productores puedan usar semillas libres de esta bacteria y que no existan pérdidas económicas drásticas a causa de esta bacteria.

Esta bacteria es Gram positiva, bacilar, la cual puede encontrarse tanto en la testa de la semilla como en el embrión, también puede sobrevivir en restos de cultivos y hospedantes alternos, se estima que esta bacteria puede sobrevivir hasta 10 años en las semillas de tomate (Sepúlveda Chavera, GF; Salvatierra Martínez, R; Sandoval Briones, C; González Vásquez, R. 2013).

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La aparición de brotes de la enfermedad, en el año 2009, ha obligado a los productores a desechar 400 mil plántulas o pilones que estaban contaminados en Guatemala, según la Asociación Nacional de Productores de Invernadero (Anapi). Los daños en las plantaciones en el país alcanzarían los Q4 millones, y el atraso en las ventas, hasta Q15 millones (Bolaños, R. 2011).

"Para la cosecha 2010-2011, las ventas estimadas de tomate son de unos 14 millones de kilos —unas 30.8 millones de libras—", explicó Joaquín Melgar, secretario de la Anapi. En ventas estimaban US\$15 millones (Q120 millones). La siembra normal en invernadero se inicia en agosto; sin embargo, debido a que tuvieron que eliminar las plantaciones contaminadas, este año se efectuará en octubre próximo (Bolaños, R. 2011).

La Anapi indicó que los brotes del cáncer bacteriano se detectaron en Guatemala, por primera vez, a finales de 2009. En esa época se dejó de cosechar cuatro millones de kilos —8.8 millones de libras— de tomate, lo que significó una pérdida de Q20 millones. En la cosecha 2009-2010 se exportaron US\$8 millones (Q64 millones) (FIAGRO. 2013).

En un comunicado, la Anapi informó con base en estudios realizados por dos laboratorios UVG y MAGA, que se trataba del cáncer bacteriano del tomate o ***Clavibacter michiganensis***. "Análisis de diferentes laboratorios determinaron que la mayoría de casos de infección estaban asociados a plantas injertadas, utilizando como patrón la semilla de tomate". La bacteria destruye la planta de tomate y se disemina fácilmente en el invernadero, lo que puede llegar a generar pérdidas de hasta el cien por cien del cultivo. Esta enfermedad no se transmite a los humanos, pero las personas y el ambiente sí pueden trasladarla a otras plantas de tomate que no estén afectadas (Ortiz, A. 2011).

La investigación se realizó con el fin de obtener un porcentaje de las semillas de tomate que podrían encontrarse infectadas con esta bacteria, para así evitar nuevos brotes y reducir las pérdidas provocadas por la misma, al mismo tiempo establecer la inocuidad y la calidad de cada una de las semillas para el uso agrícola de los productores; y obtener mejores rendimientos, minimizando las pérdidas en el cultivo por la bacteria, manteniendo así la productividad del país y así mismo garantizar la subsistencia de las familias que se dedican a la producción y comercialización del cultivo de tomate. Para la detección de esta bacteria en las semillas, se realizaron distintos métodos de detección, como lo son los medios de cultivo específicos, plantas indicadoras a la bacteria, bioensayo en plantas de tomate libres de la misma para ver si presentan los síntomas correspondientes, y el uso del PCR convencional; todos estos métodos se usaron para determinar la presencia de la bacteria.

La falta de atención por parte de las autoridades gubernamentales y fitosanitarias, en el monitoreo o detección de la bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*** (Smith 1910), en semillas de tomate, es de gran preocupación a nivel nacional, no solo porque causa pérdidas en la producción sino que también es una bacteria cuarentenaria para el país. Actualmente ya se han registrado pérdidas drásticas de los cultivos de tomate debido a la presencia de esta bacteria en las semillas, afectando así al cultivo y al productor, generando pérdidas económicas, y afectando la exportación del fruto hacia otros países.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Descripción del cultivo

El tomate es la hortaliza de mayor valor económico. Su demanda crece constantemente y con esto la extensión del cultivo, producción y comercialización.

En Guatemala, el tomate se produce de varios tipos. En nuestro país hay alrededor de 19,000 manzanas sembradas de tomates largos, que son usados en, este tipo de tomate, se usan para mercado local y para exportar. Hay tomates de racimos, tomates bolas o manzano, tomates cherry y últimamente la nueva modalidad que son tomates con alto contenido de licopeno, que son tomates que ayudan a la salud.

El tomate es originario de América específicamente de México y Perú. El tomate es un alimento con escasa cantidad de calorías. De hecho 100 g de tomate aportan solamente 18 calorías. El segundo constituyente en importancia son los hidratos de carbono que contiene los azúcares simples que le confieren un ligero sabor dulce y algunos ácidos orgánicos que le otorgan el sabor ácido característico.

La ventaja del tomate en Guatemala es que puede ser producido durante todo el año en invernadero y con riego por goteo. Esta técnica ha permitido incrementar la producción hasta un 500%. La industria del tomate no solo abastece al mercado local si no también se exporta a muchos países del mundo.

El tomate necesita condiciones muy buenas de luminosidad para su buen crecimiento. La planta de tomate no es muy exigente en cuanto a suelos excepto a lo que se refiere al drenaje, el cual tiene que ser excelente, ya que no soporta el exceso de agua, no obstante hacen uso de suelos de textura arcillosa y ricos en materia orgánica.

El tomate es un fruto muy sensible al manejo durante la cosecha, la post cosecha y el almacenamiento. Las temperaturas adversas contribuyen a una mala calidad del producto y el rápido deterioro de su fisiología. La temperatura óptima para el cultivo de tomate oscila entre los 20 y 30°C durante el día y entre 1 y 17°C durante la noche. Temperaturas superiores a los 30 y 35°C afectan a la fluctuación, temperaturas inferiores a 12 o 15°C también originan problemas en el desarrollo de la planta (Visión Rural, GT. 2012).

Tabla 4: Valor nutritivo medio del tomate por 100 g de producto comestible.

DESCRIPCIÓN	VALOR
Materia seca	6.2 por ciento
Energía	20.0 kilocalorías
Proteínas	1.20 gramos
Fibra	0.70 gramos
Calcio	7.00 miligramos
Hierro	0.60 miligramos
Caroteno	0.50 miligramos
Tiamina	0.06 miligramos
Riboflavina	0.04 miligramos
Niacina	0.60 miligramos
Vitamina C	23.00 miligramos

3.2 Descripción botánica del tomate

3.2.1 Raíz

El sistema radicular consiste en una raíz principal de la que salen raíces laterales y fibrosas, formando un conjunto que puede tener un radio hasta de 1.5 metros. En el cultivo, sin embargo, las labores de trasplante destruyen la raíz principal y lo más común es que presente una masa irregular de raíces fibrosas. Es muy frecuente la formación de raíces adventicias en los nudos inferiores de las ramas principales (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.2 Tallo

El tallo es herbáceo, aunque tiende a lignificarse en las plantas viejas. Visto en sección transversal parece más o menos circular, con ángulos o esquinas; en las ramas jóvenes es triangular.

La epidermis se forma en una capa de células, las que a menudo tienen pelos largos. Debajo hay una zona de colénquima de dos a cinco células de espesor, que es más gruesa en las esquinas y que constituye el mayor sostén del tallo. Sigue luego la región cortical, con cinco a diez capas de parénquima, de células grandes con muchos espacios intercelulares. Finalmente, el cilindro vascular se compone, de afuera hacia adentro, de floema, en bandas aisladas o unidas por conexiones delgadas y xilema que forma un tejido continuo. La médula, que ocupa gran parte del tallo, tiene hacia la parte externa cordones de fibra del periciclo interior (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.3 Porte

Entre los diversos tipos de plantas de tomate hay cultivares de porte erecto o rastrero, a menudo reducido a un solo tallo. El eje central de la planta y sus ramas son de crecimiento monopodial y llevan en el ápice una yema vegetativa, de modo que crecen indeterminadamente. En el tallo y ramas, de las yemas axiales brotan hojas e inflorescencias; lo normal es que entre dos inflorescencias haya generalmente tres hojas. En algunos casos una rama florífera se continúa en el ápice y forma hojas. Una forma de crecimiento distinta a la anterior se debe a un gene recesivo que afecta el crecimiento del tallo y las ramas al emitir una inflorescencia terminal, dando por resultado el crecimiento determinado (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.4 Hojas

La forma de las hojas es muy variable y depende en gran parte de las condiciones ambientales. La lámina está dividida en pares de segmentos o foliolos, de diferente tamaño. Con frecuencia entre dos pares de foliolos grandes hay de uno a tres pares más pequeños, en todos ellos los bordes son muy recortados.

En las hojas como en los tallos jóvenes, hay abundante pubescencia. Los pelos o la pubescencia pueden ser largos y agudos o terminados en forma acotada (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.5 Inflorescencia

La inflorescencia más corriente es una cima racimosa, generalmente simple en la parte inferior de la planta y más ramificada en la superior. Las flores tienen un pedúnculo corto y curvo hacia abajo, por lo que asumen una posición pendular, el pedúnculo presenta un engrosamiento en el centro, que corresponde a la superficie de abscisión y es muy corriente en esta especie que un gran número de flores caiga prematuramente (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.6 Polinización

Las flores se desarrollan en racimo y se abren simultáneamente. En una misma rama hay siempre botones, flores y frutos. La antésis ocurre por lo común en las mañanas y 24 horas después se inicia la salida del polen.

Este aparece en el lado interno de las anteras y, por la posición pendiente de la flor, cae directamente sobre la superficie de los estigmas. La autopolinización es lo más frecuente en los tomates cultivados. La polinización cruzada debido a insectos ocurre en un cinco por ciento (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.7 Fruto

El fruto es una baya de forma muy variada. En los principales cultivos comerciales es de forma ovalada (aplanada) con rebordes longitudinales o lisa; hay también elipsoidales y piriformes.

En los tomates silvestres predominan los frutos esféricos. El número de lóculos en los frutos de los tomates silvestres es de dos. En los cultivares comerciales, seleccionados por el mayor número de tabiques y su grosor, es corriente encontrar de 5 a 10 celdas. La epidermis es una capa de células de paredes externas engrosadas por la cutícula. Es frecuente la presencia de pelos o glándulas que desaparecen conforme madura el fruto.

Debajo del pericarpio hay tres o cuatro estratos de colénquima que junto con la epidermis forma una cáscara fina y resistente. En ellas hay pigmentos amarillos o rojos, según la variedad. El resto del fruto se forma de parénquima cargado de pigmentos rojos y amarillos que aparecen como cristales suspendidos en el líquido que rellena las células. Las paredes de las células son también de parénquima, interrumpido por cordones aislados de haces vasculares. Los tejidos de la placenta, sobre los que están las semillas, contienen una mayor cantidad de haces, lo que les da un color más claro. Las capas de células que rodean las semillas se disuelven en la madurez, formando una masa gelatinosa rica en granos de almidón. Las semillas, planas y ovaladas, miden de 2 a 5 milímetros de largo y están cubiertas de pelos finos, el embrión que ocupa la mayor parte se encuentra arrollado cerca de la superficie (DISAGRO, GT. 2004).

3.2.8 Enfermedades del cultivo de tomate

Tabla 5: enfermedades del cultivo de tomate.

Enfermedad	Nombre científico
Mal del talluelo	<i>Pythium, Rhizoctonia, Fusarium y Phytophthora</i>
Mancha gris de la hoja	<i>Stemphylium solani</i>
Marchitez bacteriana	<i>Pseudomonas y Xanthomonas</i>
Marchitez o fusariosis	<i>Fusarium oxysporum</i>
Moho de la hoja	<i>Cladosporium fulvum</i>
Pudrición bacteriana	<i>Erwinia carotovora</i>
Septoriosis	<i>Septoria lycopersici</i>
Tizón tardío	<i>Phytophthora infestans</i>
Tizón temprano	<i>Alternaria solani</i>
Cancro bacteriano	<i>Clavibacter michiganensis</i>

Fuente: (DISAGRO, GT. 2004).

3.3 Cancro bacteriano del tomate

El cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*) es una de las bacterias más importantes que afectan los cultivos de tomate. Los síntomas de la enfermedad son a veces confundidos por los productores con los ataques que produce la bacteria *Pseudomonas corrugada*, que no es grave como lo es el cancro bacteriano, aunque los productores la llaman cancro.

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan por la necrosis marginal de los folíolos, los que a su vez se tuercen hacia arriba como si se enrollaran. Las hojas más viejas son las primeras afectadas, aunque si la infección comienza en una herida la enfermedad puede desarrollarse en las partes superiores de la planta.

Los tejidos vasculares al principio toman un color amarillento que posteriormente se vuelve de color marrón. La corteza del tallo además se desprende fácilmente.

Los síntomas aparecen más rápido en las plantas jóvenes que en las adultas. En la fruta aún inmadura se observa la clásica mancha de "ojo de pájaro" de alrededor de 4 mm de diámetro.

Las heridas se producen por el manejo de las plantas en las operaciones de desbrote, conducción y de cosecha. En estas condiciones cuando la población de bacterias es alta, estas prácticas culturales son extremadamente favorables para establecer la infección sistémica (DISAGRO, GT. 2004).

3.4 Algunos aspectos epidemiológicos

Una sola planta enferma entre miles puede proporcionar inóculo suficiente para transmitir la enfermedad, sobre todo cuando existen lesiones sobre las mismas. Se requiere un período mínimo de incubación de 3 a 5 días para que aparezcan síntomas secundarios locales tales como las manchas tipo ojo de pájaro en la fruta.

El período de incubación en la planta de tomate, varía desde 7 a 84 días dependiendo de la edad de la planta de tomate, las condiciones ambientales, densidad de inóculo y la nutrición de las plantas.

Estudios realizados en Estados Unidos demostraron que el morrón (*Capsicum annuum* L) y la yerba mora (*Solanum nigrum*) son susceptibles al cancro bacteriano lo que los convierte en hospedadores alternativos. Las poblaciones más altas de las bacterias se detectaron sobre las plantas de tomate al fin del ciclo de producción, mientras que en hospedadores alternativos no se observa este crecimiento (DISAGRO, GT. 2004).

3.4.1 Hortifructicultura

Esta bacteria queda en el suelo sobre restos de plantas infectadas o plantas abandonadas y además es transmitida por semilla. La dispersión de la bacteria en un invernáculo ya infectado se da por el salpique del agua de una planta a otra, y sobre todo, por las manos de los trabajadores en las operaciones comunes de desbrote y cosecha.

En condiciones de campo, en tanto, el riego por aspersión o la lluvia con viento son factores importantes para la dispersión del patógeno. La bacteria puede sobrevivir en ausencia de plantas de tomate sobre y en la semilla, pudiendo además sobrevivir en el suelo entre 2 y 5 años.

La bacteria puede mantenerse sobre las hojas como infección latente y puede proveer el inóculo para la infección primaria posterior al trasplante en el cultivo (DISAGRO, GT. 2004).

3.4.2 Control preventivo

Las medidas más efectivas de control son aquellas que reducen el inóculo inicial, como lo son la adecuada rotación con cultivos diferentes al tomate, erradicación de malezas del grupo de las solanáceas y el uso de semilla libre de la enfermedad.

Se supone que las semillas envasadas compradas por los productores de los nuevos cultivares de tomate, deben estar libres de esta enfermedad, lo que permitiría un adecuado mecanismo de control (DISAGRO, GT. 2004).

3.4.2.1 Recomendaciones generales:

- Realizar los almácigos en bandejas desinfectadas y en almacigueras con estricto control sanitario desinfectando las semillas con hipoclorito de sodio al 3%. Dejar actuar por 2 horas y luego lavar las bandejas con abundante agua para evitar residuos fitotóxicos al cultivo.
- Desinfectar las estructuras del invernadero como asimismo todos los materiales que se utilizan con hipoclorito.
- No dejar frutos tirados en los invernáculos provenientes de plantas infectadas, ya que como se expresó anteriormente, las semillas poseen alta concentración de la bacteria y pueden sobrevivir allí por largos períodos.
- Se obtiene una reducción efectiva de la enfermedad aplicando solarización durante al menos 6 semanas en el período de fines de diciembre hasta fines de enero que es cuando se obtienen las temperaturas más altas en el suelo. Se recomienda realizar la solarización todos los años en los invernaderos afectados. La

incorporación de plantas de maíz al suelo en combinación con la solarización mejora aún más los resultados.

- Evitar que las plantas de tomate estén mojadas en el invernáculo cuando se hacen las tareas de manejo.
- Es conveniente que los operarios protejan sus manos con guantes, desinfectando tanto estos como las herramientas de poda con hipoclorito de sodio al 3% cuando se termina de desbrotar una hilera del cultivo. También se puede utilizar para la desinfección alcohol al 70%.
- La aplicación foliar con productos a base de cobre evita la diseminación de la bacteria en los cultivos de tomate (Bernal, R. 2008).

3.5 Cultivos hospedantes:

- Tomate en campo.
- Tomate en invernadero.
- Pimiento.
- Yerba mora.

3.6 Taxonomía de la bacteria

Tabla 6: Taxonomía de la bacteria.

Dominio:	<i>Bacteria</i>
Clase:	<i>Actinobacteria</i>
Subclase:	<i>Actinobacteridae</i>
Orden:	<i>Actinomycetales</i>
Suborden:	<i>Micrococccineae</i>
Familia:	<i>Microbacteriaceae</i>
Género:	<i>Clavibacter</i>
Especie:	<i>Clavibacter michiganensis</i>

Fuente: SENASA (Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas, AR). 2013.

3.7 Identificación de la bacteria en campo

3.7.1 Infecciones precoces en las plántulas

- Se originan de la semilla.
- Causa síntomas severos.
- Marchites y enanismo.
- Cancros abiertos sobre el tallo.
- Una capa delgada descolorida de color rojizo-marrón se pueden observar en el interior del tallo (Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010).

3.7.2 Infecciones tardías en las plantas

- Bordes bronceados de las hojas con una franja delgada de tejido amarillo.
- Hojas con filos rizados que se doblan hacia arriba.
- Marchitez (Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010).

3.7.3 Infecciones tardías en las frutas

- Pequeñas manchas de color canela rodeadas por un halo blanco en la fruta verde o roja que se asemejan a los ojos de las aves, de donde se desprende el término manchas de "ojo de pájaro"
- A menudo es confundida con mancha bacteriana, peca bacteriana, tizón temprano, daño de ácaros (Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010).

3.8 Característica

La característica que identifica esta enfermedad es una gomosis amarilla que exudan los tallos infestados. La infección de los frutos aparece como pequeñas manchas blancas, las cuales terminan en una lesión corchosa de color marrón, rodeada por un halo blanco que le da la apariencia de un ojo de ave (Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010).

3.9 Consejos para el monitoreo

El patógeno es activo desde el momento en que la planta germina hasta la cosecha. Las plántulas en el invernadero deben ser cuidadosamente revisadas para detectar síntomas precoces. Las plantas que muestran síntomas de cancro bacteriano deben ser retiradas del invernadero y enviadas a un laboratorio para ser diagnosticadas. Ya sea en el campo o en el invernadero las plantas deben ser monitoreadas dos veces por semana para detectar los síntomas de la enfermedad. Las plantas con síntomas de la enfermedad y las plantas adyacentes de aspecto saludable deben retirarse y desecharse (Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010).

3.10 Condiciones ambientales favorables

Las condiciones favorables para el desarrollo del cancro bacteriano son humedad relativa alta (> 80%) y temperaturas cálidas (24-32 °C) (Ivey, M. 2013).

3.11 Umbrales

No se ha establecido ningún límite para el cancro bacteriano (Ivey, M. 2013).

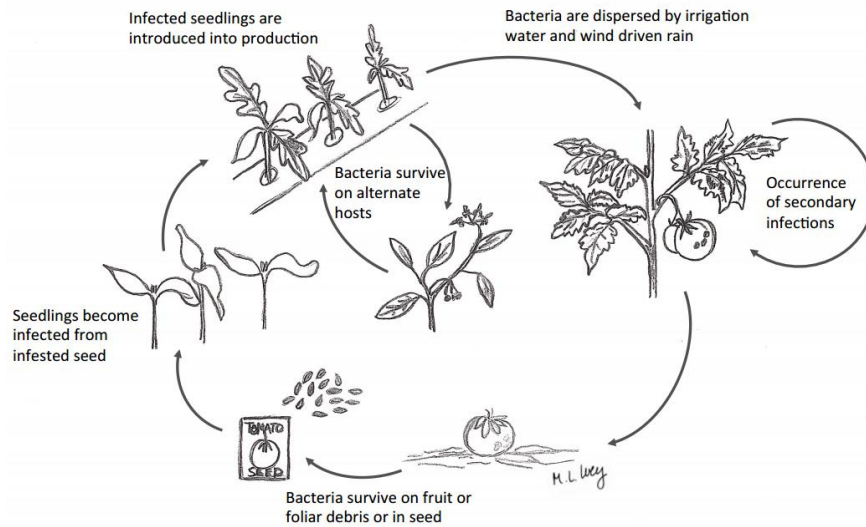
3.12 Biología del patógeno

Las fuentes del patógeno de esta enfermedad incluyen semillas, restos de cultivos, malezas hospedantes infectadas y plantas voluntarias de los materiales contaminados o herramientas. Las semillas infectadas son la principal fuente de infecciones sistémicas primarias, sin embargo el patógeno puede entrar en el tejido de la planta vascular a través de aberturas naturales. El patógeno puede sobrevivir en la cubierta de la semilla, así como dentro de la semilla por lo que es difícil de erradicar de la semilla.

El patógeno puede entrar en la planta a través de las aberturas naturales y heridas. Las infecciones secundarias tardías en el campo se propagan a través de salpicaduras de agua, el viento, el equipo contaminado y las herramientas o los trabajadores. En las temperaturas de invernadero, alta densidad de plantas y la humedad proporcionan las condiciones óptimas para el crecimiento del patógeno.

El riego por aspersión y salpicaduras de agua contribuyen a la propagación de infecciones secundarias en el invernadero. Las prácticas de manejo de plantas, tales como la poda, retoños y la cosecha pueden dar lugar a las más graves infecciones primarias sistémicas que son utilizadas en las prácticas sanitarias las cuales son deficientes (Ivey, M. 2013).

3.13 Ciclo de la enfermedad



Disease Cycle for Seed-borne Bacterial Diseases of Tomato

Figura 2: Ciclo completo de la enfermedad bacteriana *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*., diseminada por la semilla del tomate.

Fuente: (Ivey, M. 2013).

3.14 Prueba de reacción de la cadena polimerasa

La extracción de ADN de las bacterias se realiza por medio de la suspensión de células con una ligera turbidez en 500 µl de agua destilada estéril a partir de las colonias sospechosas en medio YDC. La suspensión de bacterias debe calentarse por 5 min a 95°C, luego almacenarse a -20°C hasta que se realiza el análisis por PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es ejecutada utilizando un volumen de reacción de 25 µl, la cual contenía lo siguiente: 5 µl de amortiguador de reacción "5X Green GoTaq® Reaction buffer" de la casa comercial Promega (No. Catálogo M7911), 1.2

µl de dNTP mix 10mM, 1 µl de cada iniciador (10 µM cada uno), 1 µl de ADN genómico (≈50 ng) y 0.25 U de GoTaq ADN polimerasa de la casa comercial Promega (No. Catálogo M7122). El siguiente programa fue utilizado en el termociclador Eppendorf Personal: 1 ciclo de 5 min a 94° C; seguido de 30 ciclos de 94 °C por 30 s (desnaturalización del ADN); 58 °C por 30 s (anillamiento de los iniciadores) y terminación con una extensión final a 72 °C por 90 s.

Las amplificaciones por medio de PCR dirigido a los plásmidos de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* fueron realizadas con los iniciadores Cm3, Cm4 y CMM5, CMM6 respectivamente. El iniciador sentido (CMM5) y antisentido (CMM-6) contienen la siguiente secuencia respectivamente: 5´–GCG AAT AAG CCC ATA TCA A– 3´ y 5´–CGT CAG GAG GTC GCT AAT A– 3´. La mezcla de reacción de 25 µl, contenía 2.5 µl de amortiguador de reacción “10X Reaction buffer con MgCl₂” de la casa comercial Novagen, 1 µl de MgCl₂ 25 mM, 1.5 µl de dNTP mix 10mM, 0.75 µl de cada iniciador (10 µM cada uno), 5 µl de ADN genómico y 0.25 U de Taq ADN polimerasa de la casa comercial Novagen. En tanto, los iniciadores Cm3 (5´–CCT CGT GAG TGC CGG GAA CGT ATC C– 3´) y Cm4 (5´–CCA CGG TGG ATG CTC GCG AGA T– 3´) contenían en 25 µl de reacción: 2.5 µl de amortiguador de reacción “10X Reaction buffer con MgCl₂” de la casa Novagen, 1.25 µl de dNTP mix 10mM, 0.80 µl de cada iniciador (10 µM cada uno), 5 µl de ADN genómico y 0.25 U de Taq ADN polimerasa de la casa comercial Novagen. El siguiente programa fue utilizado en el termociclador PTC 100 Master Research: 1 ciclo de 2 min a 95° C; seguido de 35 ciclos de 95 °C por 45 s (desnaturalización del ADN); 62 °C por 60s (anillamiento de los iniciadores) y terminación con una extensión final a 72 °C por 60 s.

Los productos de PCR se visualizan en electroforesis de gel de agarosa al 1% (p/v) en amortiguador Tris-acetato-EDTA (TAE) 1X, el cual se somete a 85 voltios por 45 min. Los fragmentos de ADN son revelados por medio de la tinción en solución de bromuro de etidio (0.5 µg ml⁻¹, i.e. 50 µl de una solución stock de 10 mg ml⁻¹ en 1 litro de TAE) y trans iluminación bajo luz UV.

Las amplificaciones de ADN por medio de la PCR dirigido al gen 16S ADNr y a los plásmidos de *Cmm*, utilizan como control positivo una muestra de ADN genómico positiva, la cual fue aislada en plantas de tomate infectadas en Ohio (Canastuj, H. 2012).

3.15 *Mirabilis jalapa*

Esta especie botánica es una ornamental popular en todo el mundo, pero en algunas partes de México es una planta ruderal importante, acompañando a caminos y carreteras por muchos kilómetros, en Guatemala es considerada como maleza (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.1 Nombres

Otros nombres comunes usados en español: Don Diego de noche, linda tarde, buenas noches, arrebolera, maravilla (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.2 Taxonomía de *Mirabilis jalapa*

Tabla 7: taxonomía de *Mirabilis Jalapa*.

Reino:	<i>Plantae;</i>
Subreino:	<i>Traqueobionta</i> (<i>plantas vasculares</i>)
Superdivisión:	<i>Spermatophyta</i> (<i>plantas con semillas</i>)
División:	<i>Magnoliophyta</i> (<i>plantas con flor</i>)
Clase:	<i>Magnoliopsida</i> (<i>dicotiledóneas</i>)
Subclase:	<i>Caryophyllidae</i>
Orden:	<i>Caryophyllales</i>
Género:	<i>Mirabilis</i>
Especie:	<i>Jalapa</i>

Fuente: (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3 Origen y distribución geográfica de *Mirabilis jalapa*

3.15.3.1 Área de origen

Nativa de América tropical.

3.15.3.2 Distribución secundaria

Sur de EE.UU., Sudamérica y otras partes del mundo.

3.15.3.3 Hábito y forma de vida

Hierba perenne, con frecuencia más o menos robusta, muy ramificada, con o sin pelos o pubescencia.

3.15.3.4 Tamaño

De 60 a 1.5 m de alto.

3.15.3.5 Tallo

Muy ramificado con las ramas erectas o ascendentes.

3.15.3.6 Hojas

Pecioladas o las superiores subsésiles, ovadas, de 4 a 13 cm de largo por 1 a 8.5 cm de ancho, ápice agudo o atenuado, base redondeada o subcordada (como corazón), frecuentemente ciliadas, a veces pubescentes; pedúnculos casi siempre de 1 a 2 mm de largo (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.7 Inflorescencia

Numerosas flores aglomeradas en cimas en los extremos de las ramas, frecuentemente rodeadas de hojas reducidas, involucre como cáliz, campanulado, de 5 a 15 mm de largo (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.8 Flores

Los lóbulos en flor tan largos o un poco más cortos que el tubo; perianto de 3 a 5.5 cm de largo, de colores variados (sobre todo en las formas cultivadas): morado, rojo, amarillento, blanco, limbo expandido, 5-lobado, de 2 a 3.5 cm de ancho; estambres 5, sobresalen ligeramente del perianto. A veces hay plantas que parece quimeras, con varios colores en la misma planta (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.9 Frutos y semillas

Aquenos de contorno ovado a ampliamente ovado o elíptico, de 6.5 a 8 mm de largo y 2.7 a 5 mm de ancho, con cinco costillas radiales prominentes, superficie con pelo

blanquecino caedizo al frotar, textura verrucosa, de color uniforme o variegado, café claro, café o café muy oscuro (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.10 Plántulas

Hipocótilo cilíndrico, de 8 a 17 mm, sin pelos; cotiledones de lámina ampliamente elíptica a circular de 4 a 5 mm de ancho, ápice redondeado, sin pelos; epicótilo rectangular, de 0.5 a 2 mm de largo; hojas opuestas (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.11 Hábitat

En suelos modificados, baldíos, orillas de vías férreas, escapada de cultivos, praderas, pastizales, orillas de caminos. Prospera en condiciones de disturbio acentuado (Vibrans, H (ed.). 2011).

3.15.3.12 Distribución altitudinal

Se encuentra hasta los 1500 msnm.

3.15.3.13 Propagación

Se propaga por semillas.

3.15.3.14 Ciclo de vida

Planta perenne.

3.15.3.15 Fenología

Florece a fines de verano y en otoño.

3.15.3.16 Efectos sobre los cultivos

Se reporta como maleza en cultivos de manzana.

3.15.3.17 Usos

Se cultiva como ornamental en México y en muchas otras partes del mundo. Se recomienda como purgante, anticonceptivo, contra la disentería, enfermedades del riñón, inflamación del hígado, males estomacales, dermatitis, contra la tos, para aliviar golpes, heridas, granos y dolor de muelas (Vibrans, H (ed.). 2011).

4 MARCO REFERENCIAL

En virtud que el país de Guatemala, dada su posición geográfica y por tener diversas zonas fronterizas donde se da el constante intercambio comercial entre nuestro país con México, Salvador, Honduras y Belice, son considerados como zona de alta susceptibilidad al ingreso de plagas y enfermedades.

Una de las principales funciones del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario –LDF– radica en la detección temprana de infecciones en cultivos agrícolas.

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, además de apuntalar a los programas impulsados por el MAGA en los departamentos, apoya al pequeño agricultor, empresas privadas y ONG, que se dedican a la producción agropecuaria y forestal, con la realización de diagnósticos para la identificación de plagas y enfermedades.

Realiza la detección de plagas y enfermedades en cultivos de la región, de tipo cuarentenario, endémico y exótico por medio del diagnóstico e identificación en el Laboratorio (MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012).

4.1 Ubicación

La investigación se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario el cual está ubicado en el km 22, carretera al pacífico, Bárcena, Villa Nueva, dentro de las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud (MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012).

4.2 Condiciones micro climáticas

Dentro de las instalaciones se encuentra a una temperatura que oscila entre los 25 a 30°C.

5 OBJETIVOS

5.1 General

- Determinar la presencia de la bacteria ***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***, causante del cancro bacteriano en muestras de semillas de tomate.

5.2 Específicos

- Implementar el uso del medio semi-selectivo NCP88 en el laboratorio de diagnóstico fitosanitario, para el aislamiento de la bacteria ***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***.
- Identificar la sintomatología por medio de pruebas de patogenicidad e hipersensibilidad en las muestras presuntivas al cancro bacteriano.

6 HIPÓTESIS

Al menos un 10 % de las muestras de los lotes de semilla de tomate que ingresen al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, en el km 22, Bárcena, Villa Nueva, están contaminadas con la bacteria ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis***.

7 METODOLOGÍA

Para la realización de esta investigación se llevaron a cabo 12 pasos fundamentales, los cuales se mencionan a continuación:

7.1 Recepción de la muestra de semilla

- Las muestras de los lotes de semillas ingresaron en la ventanilla de recepción de muestras del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, VISAR-MAGA y las muestras fueron recibidas por el personal de recepción.

7.2 Recopilación de la información de los lotes de semilla

- Se tomó la información correspondiente de los lotes para su debido ingreso en una base de datos del Laboratorio.
- Se le asignó un número correlativo, para su seguimiento en el área de análisis y entrega de resultados.
- Todo lote de semilla que ingresó al Laboratorio, le fueron tomados los siguientes datos: origen y empresa importadora.

7.3 Proceso de desinfestación de la semilla

Para la realización de la desinfestación de la semilla, se procedió a pasar la batería de desinfestación, en la cual se utilizaron cuatro vidrios de reloj previamente esterilizados y se procedió a realizar lo siguiente:

- Se pasó la semilla por alcohol al 70% por 1 minuto.
- Seguidamente por hipoclorito de sodio al 0.5% por 3 minutos.
- Luego se colocó la semilla en agua desmineralizada por 1 minuto.
- Nuevamente se colocó la semilla en agua desmineralizada por 1 minuto.
- Se colocó sobre papel filtro la semilla y se dejó secar.

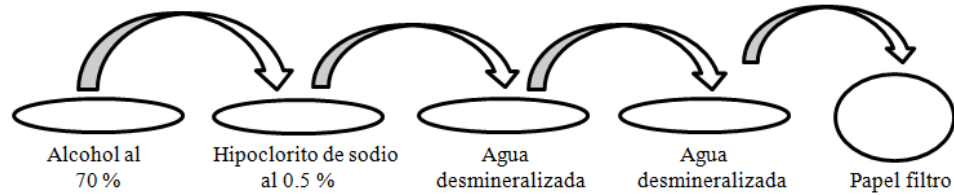


Figura 3: proceso de desinfección de la semilla de tomate

7.4 Aislamiento de semillas en medios de cultivo AN.

Las semillas se colocaron en Agar Nutritivo, para que se desarrollaran las posibles bacterias contenidas en la misma, estas se colocaron tanto enteras como maceradas o trituradas con ayuda de un mortero y pistilo.

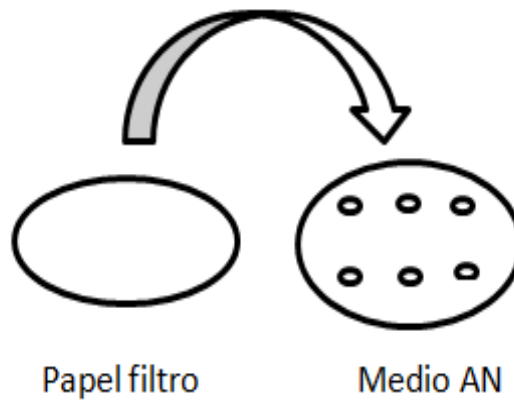


Figura 4: colocación de semilla entera.

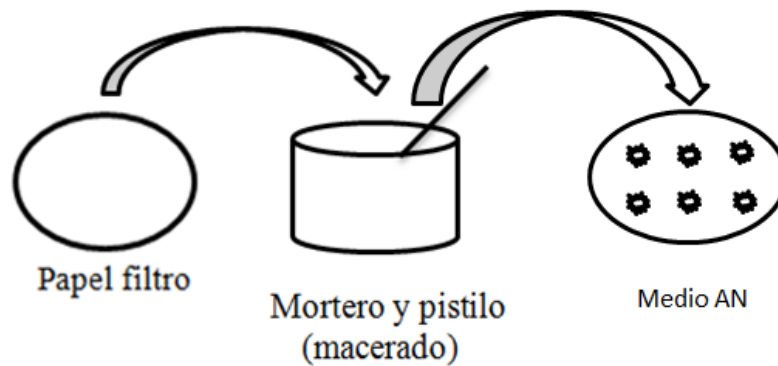
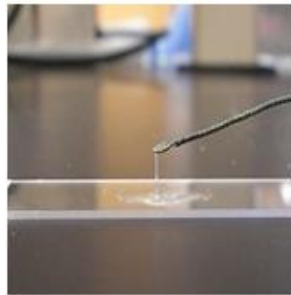


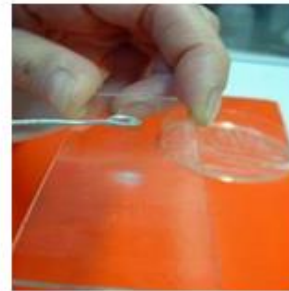
Figura 5: colocación de semilla macerada.

7.5 Realización de la prueba de KOH

Para esta prueba se colocó una gota de KOH al 3% en un porta objetos, se extrajo parte de la bacteria desarrollada en Agar Nutritivo a las 48 horas de incubación con la ayuda de un aza, seguidamente se mezcló la bacteria que contenía el aza sobre la gota de KOH al 3%, se procedió a revolver la bacteria con la mezcla de KOH y posteriormente se levantó el aza, si la bacteria es gram –, la mezcla se tornara viscosa, si la bacteria es gram +, la mezcla de la bacteria no se tornara viscosa.



Bacteria Gram -



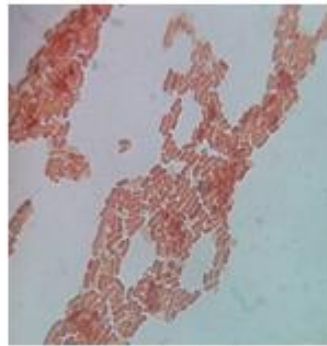
Bacteria Gram +

Figura 6: prueba de KOH.

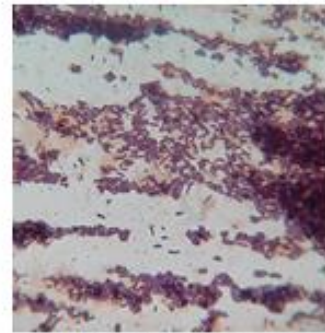
7.6 Realización de la prueba de tinción de gram

- Se tomó una porción de la bacteria con un aza y se colocó sobre un portaobjetos.
- Se distribuyó la bacteria en el centro del portaobjetos y se dejó secar al aire libre o flameando para reducir el tiempo de espera.
- Se colocó una gota de cristal violeta sobre la bacteria ya fijada del paso anterior, por un minuto.
- Se enjuagó con agua del chorro para eliminar el exceso del cristal violeta, (se colocó un chorro corrido de agua a baja presión, sin tocar directamente la bacteria y siempre colocando el portaobjetos de forma inclinada).
- Se secó el portaobjetos, ya sea al aire libre o flameando.
- Se aplicó una gota de Lugol por un minuto sobre la bacteria.

- Luego se colocó alcohol al 90% hasta que se dejó de percibir que saliera algún exceso de colorante del cristal violeta de la bacteria.
- Nuevamente se enjuagó con agua del chorro para eliminar el exceso de alcohol (se colocó un chorro corrido de agua a baja presión, sin tocar directamente la bacteria y siempre colocando el portaobjetos de forma inclinada).
- Se dejó secar el portaobjetos, ya sea al aire libre o flameando con un mechero.
- Seguidamente se aplicó una gota de Safranina por un minuto, sobre la bacteria.
- Se enjuagó nuevamente con agua del chorro, (ver pasos anteriores).
- Se secó nuevamente el portaobjetos, colocar un cubre objetos,
- Se colocó una gota de aceite de inmersión sobre el cubre objetos y se observó al microscopio con aumentos de: 10X, 40X y 100X.



Bacteria Gram -



Bacteria Gram +

Figura 7: prueba tinción de Gram.

NOTA: si la bacteria en análisis es gram negativa (se torna color rojo, figura 6, izquierda), se procede a liberar la misma para su importación; si la bacteria es gram positiva (se torna color azul, figura 6, derecha), se procede a realizar los distintos pasos a continuación descritos (Canastuj, H. 2012).

7.7 Técnica reacción cadena polimerasa

De las muestras de los lotes de semilla que ingresaron al Laboratorio, parte de las mismas se mandó una contramuestra a la Universidad del Valle de Guatemala (UVG), en donde las hacen germinar y toman parte de la plántula o tejido vegetal para su análisis molecular con la técnica de la reacción de la cadena de polimerasa (PCR) y los resultados son presentados en documento formal firmado y sellado (figura 17, 18).

7.8 Purificación de la bacteria en medios YDC, NBY

Cuando la bacteria analizada tanto en la prueba de KOH y tinción de gram da como resultado positivo (paso 7.5 y 7.6), se procedió a colocar la bacteria en los medios YDC y NBY, ya que son medios semi-específicos para *Cmm*.

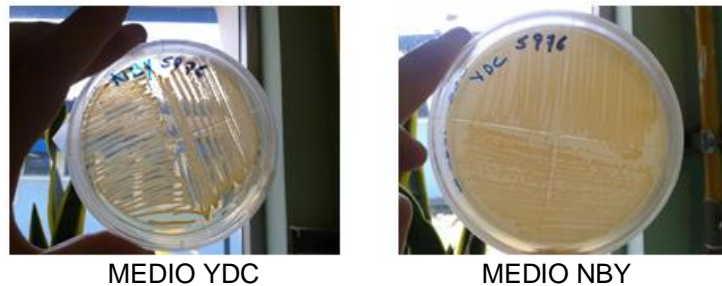


Figura 8: purificación en medios semi-específicos.

7.9 Purificación de la bacteria en medios NCP88

Luego de que la bacteria diera como resultado positivo en las pruebas de KOH y tinción de gram de los medios YDC y NBY, se procedió a estriarla en el medio NCP88, ya que este es un medio específico para la bacteria *Cmm*.

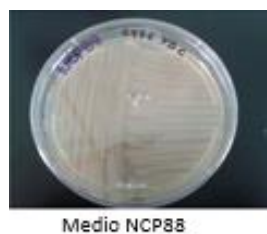


Figura 9: purificación en medio semi-selectivo.

7.10 Prueba de patogenicidad con plantas de tomate

En esta prueba se procedió a inocular la bacteria purificada del medio NCP88, sobre las plantas de tomate para obtener confirmación de la misma, a base de la sintomatología que debería de presentar las plantas de tomate.



Planta de tomate libre de *Cmm*.

Figura 10: bioensayo con planta de tomate.

7.11 Prueba de la respuesta hipersensible (*Mirabilis jalapa*) a la bacteria *Clavibacter michiganensis*

Así mismo como en el punto 7.10, la bacteria que fuese sospechosa a *Cmm*, también se inoculó en la planta indicadora denominada Maravilla, del medio específico NCP88.



Planta indicadora (*Mirabilis Jalapa*).

Figura 11: planta indicadora a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 9: Resumen de resultados.

MES	NO. DE MUESTRAS ANALIZADAS
Mayo	46
Junio	66
Julio	61
Agosto	143
Septiembre	89
Octubre	81
Noviembre	42
TOTAL	528
NEGATIVAS	528
POSITIVAS	0
TOTAL	528

En la tabla anterior se puede observar el resumen de resultados del total de muestras que ingresaron mes a mes al laboratorio, donde en el mes de agosto se obtuvo un aumento en el ingreso de muestras debido a que es la época de siembra de los agricultores. Los resultados completos del laboratorio se encuentran en los anexos, en la tabla 7.



Figura 12: semilla en medio de cultivo AN.

De las 528 muestras de semillas analizadas se tuvo sospecha de 481 muestras, el cual se creía que era presuntivamente *Clavibacter*, ya que las colonias que presentaba en el respectivo medio llenaban las características de la bacteria Cmm (figura 11).

Además de esto en las pruebas tanto de tinción de gram como KOH, presento un resultado positivo (figura 12), para lo cual se trasladó a los distintos medios respectivos como lo son NBY y YDC (figura 13).

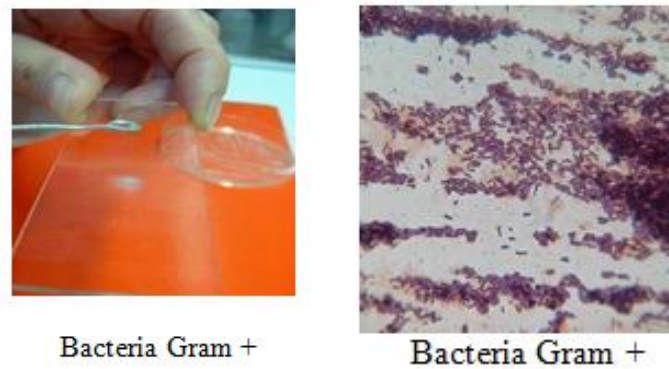


Figura 13: prueba de KOH y tinción de gram.

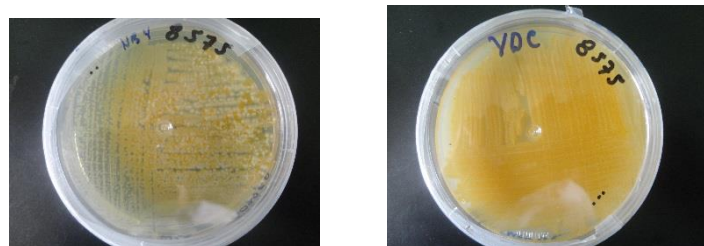


Figura 14: estriado en medios NBY y YDC.

En el momento en que se dio un resultado positivo tanto en el medio YDC como NBY, se procedió a realizar las pruebas de patogenicidad (figura 14) e hipersensibilidad (figura 15) y el estriado en el medio NCP88 (figura 16).



Figura 15: prueba de patogenicidad en tomate.



Figura 16: prueba de hipersensibilidad.

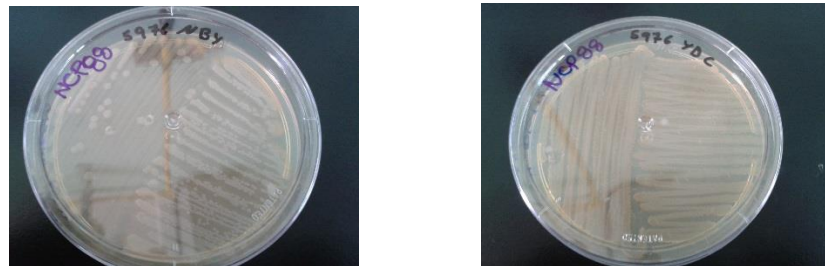


Figura 17: estriado en medio NCP88

Al realizar las distintas pruebas en los medios de cultivo y las pruebas de patogenicidad e hipersensibilidad, se llegó a determinar la no presencia de la bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910). Esta investigación se realizó con el fin de determinar si existía alguna contaminación de la bacteria *Clavibacter* en las muestras de los lotes de semilla que ingresan al laboratorio.

En los resultados obtenidos de la presente investigación se logró determinar que las muestras de semilla de tomate, se encuentran libres de la bacteria denominada ***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*** (Smith 1910) o también llamada cancro bacteriano se puede suponer que en el periodo en el cual se realizó la investigación, tiempo comprendido de febrero a noviembre del año 2013, las empresas productoras de semillas de tomate le tomaron mucha importancia a la contaminación de la bacteria, ya que anteriormente se produjo un problema con los productores de tomate de la asociación nacional de productores bajo invernadero (ANAPI), el cual acabó con casi toda la plantación y produjo muchas pérdidas.

Del total de muestras analizadas que suman un total de 528 (tabla 7, anexos), usando métodos convencionales (medios de cultivo: AN, NBY, YDC, NCP88 e inoculaciones: Plántulas de tomate y planta ***Mirabilis jalapa***), así como la técnica de la reacción de la cadena polimerasa (PCR) como respaldo de la Universidad del Valle (UVG), se concluye que las semillas de tomate que ingresaron al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, km 22, Bárcena, Villa Nueva, están libres de la bacteria ***Cmm*** y así comercializar las mismas y que los productores tengan la certeza y la confianza de que la semilla que están utilizando para sus plantaciones están libres de dicha bacteria.

9 CONCLUSIONES

Se determinó la no presencia de la bacteria ***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*** (Smith 1910), en ninguna de las muestras de los lotes de semilla de tomate analizados.

Se implementó el uso del medio de cultivo NCP88, que forma parte del panel de pruebas para la identificación de la bacteria causante del cancro bacteriano, debido a las características específicas tanto de color, consistencia y tamaño que presenta en el medio.

Las pruebas sintomatológicas de patogenicidad e hipersensibilidad se realizaron a 18 de las muestras de semillas de tomate, ya que se tenía la sospecha de la bacteria ***Clavibacter***, pero en cada una de estas pruebas las plantas correspondientes no presentaron la sintomatología a la misma.

10 RECOMENDACIONES

Se recomienda la utilización de otras pruebas de diagnóstico, como lo es el uso de inmunostrip y prueba de ELISA, para tener más certeza de los resultados a la bacteria.

Usar otros métodos de identificación convencional como lo es el uso de medio B-KING.

Hacer uso de pruebas bioquímicas como la oxidasa, ureasa y catalasa.

11 BIBLIOGRAFÍA

1. Bernal, R. 2008. Cancro bacteriano del tomate (en línea). Argentina, INIA, Protección Vegetal. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://www.cuencarural.com/frutihorticultura/72967-cancro-bacteriano-del-tomate/>
2. Bolaños, R. 2011. MAGA no reconoce que hay semilla contaminada (en línea). Prensa Libre, Guatemala, enero, 27. Consultado 10 ene 2014. Disponible en http://www.prensalibre.com/economia/Maga-reconoce-semilla-contaminada_0_416358366.html
3. Canastuj, H. 2012. Evaluación y caracterización de bacterias presuntivamente *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* aisladas de semillas y plantas de tomate. Tesis Lic. Bioquím. y Microbiol. Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ciencias y Humanidades. 99 p.
4. Croce Paullier, V. 2012. Desarrollo de nuevos métodos moleculares para la detección de la bacteria fitopatógena *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* causante del cancro bacteriano en tomate. Tesis Lic. Bioquím. Uruguay, Universidad de la República, Facultad de Química, Departamento de Biociencias. 75 p.
5. DISAGRO, GT. 2004. Plan de manejo para el cultivo del tomate (en línea). Guatemala. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://www.bolsamza.com.ar/mercados/horticola/tomatetriturado/plan.pdf>
6. Estrada Cordón, JC. 2006. Comparación del rendimiento de siete híbridos de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.), en finca Santa Teresa, Antigua Guatemala, Sacatepéquez (en línea). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 36 p. Consultado 23 mar 2013. Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2295.pdf
7. FIAGRO. 2013. Bacteria causa pérdidas en tomate de exportación (en línea). El Salvador. Consultado 12 ene 2014. Disponible en http://www.fiagro.org/index.php?option=com_content&view=article&id=1949&catid=57&Itemid=1
8. Grupo Horticultura Latinoamérica, US. 2010. Cáncer bacteriano en tomate (en línea). US. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://www.hortalizas.com/articulo/18713/cancer-bacteriano-en-el-tomate>
9. Ivey, M. 2013. Bacterial disease cycle (en línea). VegetableDiseaseFacts.com. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://vegetablediseasefacts.com/wp-content/uploads/2012/10/Bacterial-disease-cycle.pdf>

10. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012. Laboratorio de diagnóstico fitosanitario (en línea). Guatemala. Consultado 14 mar 2013. Disponible en http://visar.maga.gob.gt/?page_id=1045
11. Migue, A; García, A; Pérez, I. 2000. Detección en semillas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal del cáncer bacteriano del tomate. Fitosanidad 4(1-2):9-13.
12. Ortiz, A. 2011. Asociar a semilla bacteria de tomate. Prensa Libre, Guatemala, noviembre, 30. Consultado 24 mar 2013. Disponible en http://www.prensalibre.com/economia/Asocian-semilla-bacteria-tomate_0_600539946.html
13. Rodríguez Mejía, L. 2013. Biogeografía, diagnóstico y manejo integrado de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. México, Universidad Autónoma de Chapingo, Depto. de Parasitología Agrícola. v. 31, 2 p.
14. SENASA (Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas, AR). 2013. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (en línea). Argentina. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/clavibacter-michiganensis-subsp-michiganensis>
15. Sepúlveda Chavera, GF; Salvatierra Martínez, R; Sandoval Briones, C; González Vásquez, R. 2013. Primer reporte de cancro bacteriano *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en plantas de tomate en Arica (en línea). Idesia 31(2). Consultado 10 ene 2014. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-34292013000200014&script=sci_arttext
16. Vibrans, H (ed.). 2011. Nyctaginaceae: *Mirabilis jalapa* L., maravilla (en línea). México, CONABIO. Consultado 23 mar 2013. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/nyctaginaceae/mirabilis-jalapa/fichas/ficha.htm>
17. Visión Rural, GT. 2012. El tomate (en línea). Guatemala. Consultado 23 mar 2013. Disponible en http://www.staciondigital.com/visionrural/index.php?option=com_content&view=article&id=133:el-tomate&catid=40:vision-rural
18. Xu, X; Miller, SA; Baysal-Gurel, F; Gartemann, KH; Eichenlaub, R; Rajashekara, G. 2010. Bioluminescence imaging of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection of tomato seeds and plants (en línea). Appl. Environ. Microbiol. 79(22):6948-6957. Consultado 10 ene 2013. Disponible en <http://aem.asm.org/content/76/12/3978.full>

121	4295	Guatemala	PNY EXPRSS	x			x	x	x								
122	4297	Guatemala	silverado	x			x	x	x								
123	4299	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
124	4301	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
125	4303	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
126	4305	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
127	4307	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
128	4309	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
129	4311	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
130	4313	Guatemala	PNY Exprss	x			x	x	x								
131	4315	Guatemala	Boshara	x			x	x	x								
132	4316	Guatemala	Silverad	x			x	x	x								
133	4331	Holanda	Emperador RZ	x			x	x	x								
134	4410	Tailandia	ELIOS	x			x	x	x								
135	4411	Tailandia	ELIOS	x			x	x	x								
136	4412	Holanda	S20981	x			x	x	x								
137	4413	Holanda	S20982	x			x	x	x								
138	4414	Holanda	S20983	x			x	x	x								
139	4415	Holanda	CLERMON	x			x	x	x								
140	4420	Guatemala	TX 335 MF	x			x	x	x								
141	4422	Guatemala	TX 335 MF	x			x	x	x								
142	4480	Chile	Clinchy	x			x	x	x								
143	4481	Holanda	Clinchy	x			x	x	x								
144	4482	Holanda	Clemor	x			x	x	x								
145	4504	Holanda	FIR 13-2049	x			x	x	x								
146	4505	Holanda	FIR-191-GOUR	x			x	x	x								
147	4506	Holanda	CHI-12-94083	x			x	x	x								
148	4507	Holanda	CHI-176-SHA	x			x	x	x								
149	4508	Holanda	FIR 18-1007	x			x	x	x								
150	4509	Holanda	FIR 16-129	x			x	x	x								
151	4510	Holanda	FIR 180-KIWI	x			x	x	x								

152	4511	Holanda	CHI-180-VILT	x			x	x	x									
153	4512	Holanda	CHI-176-MARK	x			x	x	x									
154	4513	Holanda	FDR-191-METTE	x			x	x	x									
155	4514	Holanda	FDR 16-130	x			x	x	x									
156	4515	Holanda	CHI-12-94084	x			x	x	x									
157	4516	Holanda	FIR-180-PEDIA	x			x	x	x									
158	4517	Holanda	FIR-180-STOEL	x			x	x	x									
159	4518	Holanda	FIR-XF-KR71	x			x	x	x									
160	4519	Holanda	CHD-180-STIFT	x			x	x	x									
161	4520	Holanda	FIR-XF-CLAPTON	x			x	x	x									
162	4521	Holanda	FIR-180-KLAP	x			x	x	x									
163	4690	China	Fabuloso	x			x	x	x									
164	4692	China	Magali	x			x	x	x									
165	4720	Holanda	FIR-150-9001	x			x	x	x									
166	4721	Holanda	TRSXI11-002GMS	x			x	x	x									
167	4722	Holanda	TRSXI11-0003	x			x	x	x									
168	4876	India	Toyoto	x			x	x	x									
169	4877	India	BBS 1069	x			x	x	x									
170	4878	India	Mountain magic	x			x	x	x									
171	4879	Francia	Retana	x			x	x	x									
172	4880	Francia	Retana	x			x	x	x									
173	4881	Francia	Retana	x			x	x	x									
174	4990	Francia	Male No 15 No 51142-R1+2ABA	x			x	x	x									
175	4991	Francia	Female NO. 15 No51143- R3+4ABA5	x			x	x	x									
176	4992	Francia	Male No 20 No 51142-R1+2ABA1	x			x	x	x									
177	4993	Francia	Female No. 20 No. 49085-R1BA	x			x	x	x									
178	4994	Francia	Male No.450 No 52117-R2ABA	x			x	x	x									
179	4995	Francia	Female No. 450 No. 47051- R3BA1	x			x	x	x									
180	4996	Francia	Male BRI No.HIR.B-2022- R6BA2	x			x	x	x									
181	4997	Francia	Female BRI No 52105-R2+3ABA	x			x	x	x									
182	5023	Holanda	FSP-176-GALIN	x			x	x	x									
183	5024	Holanda	ZZZ-176OV	x			x	x	x	x	x	x	x					x

184	5025	China	Retana F1	x			x		x		x							
185	5097	Estados Unidos	Red Master F-1	x			x		x		x							
186	5098	Estados Unidos	Red Master F-1	x			x	x		x		x		X		x		x
187	5116	Italia	SMART F1	x			x		x		x							
188	5117	Italia	Macizo F1	x			x		x		x							
189	5118	Italia	Contac F1	x			x		x		x							
190	5172	Italia	SE MALES 1541-1550	x			x		x		x							
191	5173	Italia	SE MALES 1551-1650	x			x		x		x							
192	5174	Italia	SE FEMALES 1541-1550	x			x		x		x							
193	5175	Italia	SE FEMALES 1551-1650	x			x		x		x							
194	5176	Chile	SE FEMALES 1502-1503; 1507-1512	x			x		x		x							
195	5177	Chile	SE FEMALES 1517-1530	x			x		x		x							
196	5178	Chile	SE FEMALES 1532-1534;1536-1538	x			x		x		x							
197	5179	Chile	SE MALES 1502-1515	x			x		x		x							
198	5180	Estados Unidos	SE FEMALES 1501;1504-1506;1513-1516;1531;1535	x			x		x		x							
199	5181	Estados Unidos	SE MALES 1501;1516-1538	x			x		x		x							
200	5237	Perú	Monticello	x			x		x		x							
201	5239	Israel	Tinto	x			x	x		x		x		X		x		x
202	5240	Israel	NAMIB	x			x		x		x							
203	5241	Israel	NAMIB	x			x		x		x							
204	5387	Tailandia	Hibrido Elios	x			x		x		x							
205	5321	Estados Unidos	M SE 1601-1628	x			x		x		x							
206	5322	Estados Unidos	M SE 1629-1646	x			x		x		x							
207	5323	Estados Unidos	M SE 1647-1677	x			x		x		x							

300	5394	Estados Unidos	F SE 2141-2155	x			x		x		x							
301	5395	Estados Unidos	F SE 2156-2170	x			x		x		x							
302	5396	Estados Unidos	F SE 2171-2185	x			x		x		x							
303	5397	Estados Unidos	F SE 2186-2200	x			x		x		x							
304	5398	Estados Unidos	F SE 2201-2215	x			x		x		x							
305	5399	Estados Unidos	F SE 2216-2230	x			x		x		x							
306	5400	Estados Unidos	F SE 2231-2245	x			x		x		x							
307	5401	Estados Unidos	F SE 2246-2260	x			x		x		x							
308	5402	Estados Unidos	F SE 2261-2275	x			x		x		x							
309	5403	Estados Unidos	F SE 2276-2290		x		x											
310	5404	Estados Unidos	F SE 2291-2305	x			x		x		x							
311	5405	Estados Unidos	F SE 2306-2320	x			x		x		x							
312	5406	Estados Unidos	F SE 2321-2335	x			x		x		x							
313	5407	Estados Unidos	F SE 2336-2350	x			x		x		x							
314	5408	Estados Unidos	F SE 2351-2365	x			x		x		x							
315	5409	Estados Unidos	F SE 2366-2380	x			x		x		x							
316	5410	Estados Unidos	F SE 2381-2395	x			x		x		x							
317	5878	Tailandia	AP 533	x			x		x		x							
318	5885	Holanda	FORONTI		x		x											
319	5886	Francia	Maxifort		x		x											
320	5887	Perú	Uriburi	x			x		x		x							
321	5888	Perú	Belriccio	x			x		x		x							
322	5889	Perú	Swanson		x		x											
323	5890	Perú	Swanson		x		x											
324	5975	Perú	72-163	x			x		x		x							

425	7001	Francia	DRK 2180	x			x		x		x								
426	7002	China	Halyana F1		x		x												
427	7003	Francia	Boshara F1	x			x		x		x								
428	7019	Estados Unidos	14GT 4001-4003	x			x		x		x								
429	7380	Estados Unidos	Male Lote 343374GH		x		x												
430	7381	Estados Unidos	Female Lote 343374GH	x			x		x		x								
431	7382	Estados Unidos	Male Lote 343375GH		x		x												
432	7383	Estados Unidos	Female Lote 343375GH	x			x		x		x								
433	7384	Estados Unidos	Male Lote 343376GH	x			x		x		x								
434	7385	Estados Unidos	Female Lote 343376GH	x			x	x		x	x		X		x				x
435	7386	Estados Unidos	Male Lote 343377GH	x			x		x		x								
436	7387	Estados Unidos	Female Lote 343377GH	x			x		x		x								
437	7388	Estados Unidos	Male Lote 343378GH	x			x		x		x								
438	7389	Estados Unidos	Female Lote 343378GH	x			x		x		x								
439	7390	Estados Unidos	Male Lote 343379GH	x			x		x		x								
440	7391	Estados Unidos	Female Lote 343379GH	x			x		x		x								
441	7392	Estados Unidos	Male Lote 343380GH	x			x		x		x								
442	7393	Estados Unidos	Female Lote 343380GH	x			x		x		x								
443	7394	Estados Unidos	Male Lote 343381GH	x			x		x		x								
444	7395	Estados Unidos	Female Lote 343381GH	x			x		x		x								
445	7396	Estados Unidos	Male Lote 343382GH		x		x												
446	7397	Estados Unidos	Female Lote 343382GH	x			x		x		x								

447	7398	Estados Unidos	Male Lote 343383GH	x			x		x		x								
448	7399	Estados Unidos	Female Lote 343383GH		x		x												
449	7400	Estados Unidos	Male Lote 343384GH		x		x												
450	7401	Estados Unidos	Female Lote 343384GH	x			x	x		x		x		X		x			x
451	7402	Estados Unidos	Male Lote 343385GH	x			x		x		x								
452	7403	Estados Unidos	Female Lote 343385GH	x			x		x		x								
453	7404	Estados Unidos	Male Lote 343386GH	x			x	x		x		x		X		x			x
454	7405	Estados Unidos	Female Lote 343386GH	x			x	x		x		x		X		x			x
455	7406	Estados Unidos	Male Lote 343387GH	x			x	x		x		x		X		x			x
456	7407	Estados Unidos	Female Lote 343387GH	x			x		x		x								
457	7408	China	Tom SHERIFF F1		x		x												
458	7409	China	Tom Silverado F1	x			x		x		x								
459	7410	China	Tom PNY Exprss F1	x			x		x		x								
460	7411	China	SILVERADO F1 Pro	x			x		x		x								
461	7412	China	Tom TOROTY F1 Pro	x			x	x		x		x		X		x			x
462	7413	España	13SP02016-13SP0219	x			x		x		x								
463	7421	Estados Unidos	14GUA-401	x			x		x		x								
464	7473	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1001-1009	x			x	x		x		x		X		x			x
465	7474	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1010-1024	x			x		x		x								
466	7475	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1025-1039	x			x	x		x		x		X		x			x
467	7476	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1040-1054	x			x		x		x								
468	7477	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1054-1069	x			x		x		x								

469	7478	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1070-1084	x			x		x		x								
470	7479	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1085-1099	x			x		x		x								
471	7480	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1100-1114	x			x		x		x								
472	7481	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1115-1129	x			x		x		x								
473	7482	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1130-1144	x			x		x		x								
474	7483	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1145-1159	x			x		x		x								
475	7484	Guatemala	TOMATO SEED 14GT 1160-1174	x			x	x		x	x		X		x				x
476	7485	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1175-1189	x			x	x		x	x		X		x				x
477	7486	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1190-1204	x			x		x		x								
478	7487	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1205-1219	x			x	x		x	x		X		x				x
479	7488	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1220-1234	x			x		x		x								
480	7489	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1235-1249	x			x		x		x								
481	7490	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1250-1264	x			x	x		x	x		X		x				x
482	7491	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1265-1279	x			x		x		x								
483	7492	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1280-1294	x			x	x		x	x		X		x				x
484	7493	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1295-1309	x			x		x		x								
485	7494	Estados Unidos	TOMATO SEED 14GT 1310-1316	x			x	x		x	x		X		x				x
486	7584	Estados Unidos	Red Grape	x			x		x		x								
487	7758	Francia	Cello		x		x												
488	7759	Francia	Yellowsum	x			x		x		x								
489	7840	Holanda	Stockseed TO5623	x			x		x		x								
490	7841	Holanda	Stockseed TX5900	x			x		x		x								

12.2 Formato de resultados del laboratorio de la Universidad del Valle de Guatemala

Estimados Ings.:

A continuación le ofrecemos la descripción del cobro de los análisis realizados a tres (3) muestras de plántulas de semillas de tomate germinadas, recibidas en el Laboratorio de Protección Vegetal.

El cobro por una identificación de *Clavibacter michiganensis* sp. *michiganensis* (Cmm), por medio del método de PCR e identificación de bacterias, es de **Q250.00**. En este tipo de identificación se trabaja un par de "primers" en semillas de tomate lavadas por cada muestra (el lavado consiste en remojar la muestra por 2 min en etanol al 70%, 2 min en cloro al 10%, 2 lavados sucesivos con agua estéril y finalmente secarlas bien antes de tomar la muestra).

Favor cancelar la cantidad de **Q 750.00** Agradeceremos emitir el cheque a nombre de la Universidad del Valle de Guatemala y pasar a la oficina II2-207 en el edificio II2.

Política del laboratorio de Protección Vegetal de la U.V.G.: los análisis realizados indican la ausencia o presencia del patógeno solamente en las muestras enviadas al laboratorio; en ningún momento la prueba realizada ofrece una certificación de que toda la plantación presente el mismo patógeno. Si tiene alguna duda o necesita información adicional favor comunicarse con nosotros.


 Julio Granados
 Técnico de Laboratorio




 Licda. Elena Dardón
 Coordinadora del Laboratorio


 Licda. Margarita Palmieri
 Directora de Protección Vegetal

18 Avenida 11-95 Zona 15, Vista Hermosa III
 PBX: 2364-0336 al 40, Extensión 519
www.uvg.edu.gt

Figura 18: resultados reacción de cadena polimerasa.

Estimados Ings.:

A continuación le ofreceremos la descripción de los análisis realizados a tres (3) muestras de plántulas de semillas de tomate germinadas, recibidas en el Laboratorio de Protección Vegetal 18/11/2013.

Fecha realización de análisis	Id. Lab.	Tipo de muestra	Variedad	Lote/Batch	Origen	Procedencia	Permiso Fito.	Boleta Maga	Nombre de puesto	Primers Psa8-psaRt
05/12/2013	34327 lavada*	Plántulas de Semillas de tomate	Top M	12 M/2/3	Israel	Israel	137714	13309	Express aéreo	Negativo
05/12/2013	34328 lavada*	Plántulas de Semillas de tomate	Top Lo	12/Lo/2/7	Israel	Israel	137714	13309	Express aéreo	Negativo
05/12/2013	34329 lavada*	Plántulas de Semillas de tomate	Top BH	12BH/2/5	Israel	Israel	137714	13309	Express aéreo	Negativo

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

Atentamente,


 Julio Granados
 Técnico de Laboratorio




 Licda. Elena Dardón
 Coordinadora del Laboratorio


 Licda. Marguitta Palmeri
 Directora de Protección Vegetal

18 Avenida 11-95 Zona 15, Vista Hermosa III
 PBX: 2364-0336 al 40, Extensión 519
 www.uvg.edu.gt

Figura 19: resultado reacción de cadena polimerasa.

CAPÍTULO III

SERVICIOS REALIZADOS

1 INTRODUCCIÓN

En el siguiente plan de servicios se presenta cada uno de los aspectos que se consideran importantes para la realización del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS), al mismo tiempo tener una certeza y verificación de lo que se está realizando dentro de las instalaciones del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, con la finalidad de ampliar y complementar los conocimientos adquiridos durante la fase de estudio dentro de las instalaciones de la Universidad de San Carlos de la Facultad de Agronomía (FAUSAC).

2 MARCO REFERENCIAL

En virtud Guatemala, dada su posición geográfica y por tener diversas zonas fronterizas donde se da el constante intercambio comercial entre nuestro país con México, Salvador, Honduras y Belice, son considerados como zona de alta susceptibilidad al ingreso de plagas y enfermedades, es por ello que se considera la presencia del laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario en el país, el cual tiene las siguientes funciones:

Una de las principales funciones de la presencia del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario –LDF– radica en la detección temprana de infecciones en cultivos agrícolas;

El Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, además de apoyar a los programas impulsados por el MAGA en todos los departamentos, apoya al pequeño agricultor, empresas privadas y ONG, que se dedican a la producción agropecuaria y forestal, con la realización de diagnósticos para la identificación de plagas y enfermedades.

Realiza la detección de plagas y enfermedades en cultivos de la región, de tipo cuarentenario, endémico y exótico por medio del diagnóstico e identificación en el laboratorio.

2.1 Servicios

El laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario presta los siguientes servicios:

2.1.1 Servicios de Diagnóstico:

1. Entomología
2. Fitopatología
3. Bacteriología
4. Virología
5. Nematología.

2.1.2 Servicio de asistencia técnica:

El Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario –LDF-, además de realizar diagnóstico de plagas y enfermedades apoya a:

Los técnicos de los diferentes programas del MAGA asisten al agricultor en los departamentos, para reconocimiento de plagas y enfermedades en cultivos de la región a través de capacitaciones en campo, con temas de **Detección de Plagas y Enfermedades** en los diferentes cultivos de la región, ej., pastos, hortalizas, forestales etc, así también como en la toma, preservación y traslado de muestras al laboratorio.

Estos servicios forman parte de la asistencia que el MAGA proporciona al agricultor de escasos recursos y que tienen deseo de mejorar la producción de sus cultivos.

2.1.3 Ubicación

El laboratorio de diagnóstico Fitosanitario se encuentra ubicado en el km 22, carretera al pacífico, Bárcena, Villa Nueva, dentro de las instalaciones del laboratorio Nacional de Salud (MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 General

- Realizar el proceso de recepción y distribución de muestras, a cada una de las áreas en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, VISAR-MAGA, situado en el Km 22, Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva.

3.2 Específicos

- Preparar las muestras para su respectivo análisis, en las áreas en donde se requiera.
- Realizar la determinación de agentes patógenos en las distintas semillas y tejidos que ingresan al laboratorio.

4 METODOLOGÍA

4.1 Recepción

Las muestras ingresaron en la ventanilla de recepción de muestras del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, VISAR-MAGA y estas fueron recibidas por el personal de recepción.

4.2 Distribución de muestras

Todas las muestras que ingresan al área de recepción se les colocaron un correlativo, estas luego son distribuidas a las áreas correspondientes de análisis para su diagnóstico.

4.3 Entrega de muestras a las diferentes áreas del Laboratorio

Las muestras son entregadas a las distintas áreas dependiendo el diagnóstico que requiera el usuario, ya sea un análisis entomológico, nematológico, fitopatológico, bacteriológico o virológico.

4.4 Observación de muestras estereomicroscopio y microscopio

Las muestras que se analizan se observan tanto a nivel macro con el estereomicroscopio y a nivel micro con el microscopio, para determinar estructuras correspondientes que lleven a un diagnóstico.

4.5 Diagnóstico

Cada una de las muestras es analizada en cada área y este resultado es colocado en una base de datos que maneja el laboratorio con el correlativo que se le asigno, para luego ser entregado al usuario correspondiente.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 11: análisis realizados

Tipo de análisis	Cantidad de muestras Analizadas
Fitopatológico	42
Bacteriológico	685
Viroológico	22
TOTAL	749

Se analizaron 749 muestras (ver tabla1) tanto de hojas, tallos, frutos y semillas, con el fin de determinar agentes patógenos que estuvieran causando algún daño en la producción.

Se evaluaron 42 muestras en el área de fitopatología, en estas se determinaron los distintos agentes micológicos en varios cultivos, encontrándose más comúnmente el hongo del género *Colletotrichum*.

En el área bacteriológica se analizaron 685 muestras, que consistían en semillas de tomate, rábano, brócoli, coliflor, arveja china, etc., la mayor cantidad de aislamientos presentó bacterias del género *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y *Erwinia*.

En cuanto al área virológica se diagnosticaron 22 muestras, con las cuales se puede inferir que los agricultores tienen poco conocimiento en cuanto a diferenciar síntomas de virosis y una deficiencia de nutrientes, lo cual es notable porque de las muestras analizadas el 75 por ciento presentó deficiencia de algún nutriente y el 25 por ciento restante tenía el virus del mosaico del tabaco.

5.1 Mecanismo utilizado para verificación

1. Libro de Custodio
2. Acceso hacia los archivos compartidos en el Laboratorio.
3. Hojas de resultados firmadas por los analistas y/o el jefe de laboratorio.

6 RECURSOS USADOS

1. Estudiante EPS.
2. Ventanilla de Recepción.
3. Lápiz.
4. Lapicero.
5. Libro de Custodio.
6. Computadora.
7. Impresora.
8. Estereomicroscopio.
9. Microscopio.
10. Equipo y cristalería de laboratorio.
11. Reactivos de Laboratorio.

7 CONCLUSIÓN

Del total de las muestras que se analizaron durante el Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario VISAR-MAGA, se pudo hacer uso de los conocimientos que fueron impartidos por docentes de la facultad de agronomía para poder realizar cada uno de los diagnósticos de una manera eficaz y certera.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2012. Laboratorio de diagnóstico fitosanitario (en línea). Guatemala. Consultado 14 mar 2013. Disponible en http://visar.maga.gob.gt/?page_id=1045



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA -FAUSAC-
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS
Y AMBIENTALES -IIA-



REF. Sem. 28/2014

LA TESIS TITULADA:

"DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA BACTERIA *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910), EN SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L).

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE:

PABLO ARTURO ALVAREZ GUILLÉN

CARNE:

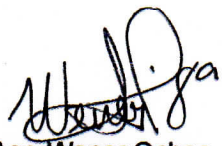
200816785


HA SIDO EVALUADO POR LOS PROFESIONALES:

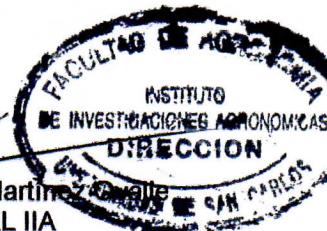
Dr. Edin Orozco
Ing. Agr. Edil Rodríguez
Ing. Agr. Wener Ochoa

Los Asesores y la Dirección del Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales de la Facultad de Agronomía, hace constar que ha cumplido con las Normas Universitarias y el Reglamento de este Instituto. En tal sentido pase a la Dirección del Área Integrada para lo procedente.


Ing. Agr. Edil Rodríguez
A S E S O R


Ing. Agr. Wener Ochoa
A S E S O R - S U P E R V I S O R


MSc. Manuel de Jesús Martínez
DIRECCIÓN DEL IIA

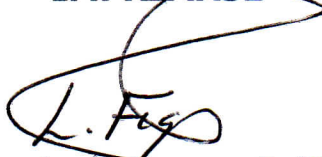


MDJM,/nm
c.c. Archivo

No. 34.2014

Trabajo de Graduación:	“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA BACTERIA <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith 1910), EN SEMILLAS DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO VISAR-MAGA, KM 22, CARRETERA AL PACÍFICO, BÁRCENAS, VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.”
Estudiante:	Pablo Arturo Alvarez Guillén
Carné:	200816785

“IMPRIMASE”



Dr. Lauriano Figueroa Quiñones
DECANO



Guatemala, 23 de mayo de 2014
Ref. SAIEPSA: Trabajo de Graduación 28-2014

TRABAJO DE GRADUACIÓN:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA BACTERIA *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910), EN SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.). DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO VISAR-MAGA, KM 22, CARRETERA AL PACÍFICO, BÁRCENA, VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.

ESTUDIANTE:

PABLO ARTURO ALVAREZ GUILLÉN

No. CARNÉ

200816785

Dentro del Trabajo de Graduación se presenta el Capítulo II que se refiere a la Investigación Titulada:

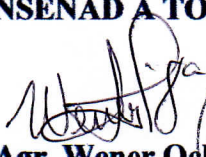
“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LA BACTERIA *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* (Smith 1910), EN SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.).”

LA CUAL HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES:

**Dr. Edin Orozco
Ing.Agr. Edil Rodríguez
Ing.Agr. Wener Ochoa**

Los Asesores de Investigación, Docente Asesor de EPSA y la Coordinación del Área Integrada, hacen constar que ha cumplido con las normas universitarias y Reglamento de la Facultad de Agronomía. En tal sentido, pase a Decanatura.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”


Ing. Agr. Wener Ochoa
Docente – Asesor de EPSA




Vo.Bo. Ing. Agr. Alfredo Itzep Manuel
Coordinador Subárea de EPSA


Vo.Bo. Ing. Agr. MSc. Pedro Peláez Reyes
Coordinador Área Integrada

c.c. Control Académico, Estudiante,

